



# **V СЪЕЗД БИОФИЗИКОВ РОССИИ**

**4-10 октября 2015 г.  
Ростов-на-Дону,  
Южный федеральный университет**

**МАТЕРИАЛЫ ДОКЛАДОВ  
том 2**

**Ростов-на-Дону · 2015**

УДК 577.3  
ББК 28  
С11

С11 V Съезд биофизиков России. Материалы докладов : в 2 т. – Ростов-на-Дону : Издательство Южного федерального университета, 2015.  
ISBN 978-5-9275-1656-8  
Т. 2: 2015. – 390 с.  
ISBN 978-5-9275-1658-2 (Т.2)

Представлены материалы V Съезда биофизиков России. Основные направления съезда: биоинформатика и системная биология; новые методы в биофизических исследованиях; действие физико-химических факторов на биологические системы; фотобиология; биофотоника; медицинская биофизика; биофизика сложных систем; экологическая биофизика. Сборник предназначен для биофизиков, биохимиков, молекулярных биологов, специалистов, работающих в различных областях физико-химической биологии. Он может быть также полезен для студентов и аспирантов, специализирующихся в данной отрасли знаний.

Ответственные редакторы: чл.-корр. РАН А.Б. Рубин, проф. А.Б. Узденский, М.В. Рудковский

Проведение V Съезда биофизиков России поддержано Российским фондом фундаментальных исследований (грант № 15-04-20706)



ISBN 978-5-9275-1658-2 (Т.2)  
ISBN 978-5-9275-1656-8

УДК 577.3  
ББК 28

© Южный федеральный университет, 2015

## Организаторы Съезда

Российская академия наук  
Отделение биологических наук РАН  
Министерство Образования и Науки РФ  
Научный совет РАН по биологической физике  
Национальный комитет Российских биофизиков  
Южный федеральный университет  
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова  
Институт биофизики клетки РАН  
Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН  
Институт молекулярной биологии РАН

### ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ:

**Рубин А.Б.**, член-корр. РАН – сопредседатель  
**Боровская М.А.**, ректор ЮФУ – сопредседатель  
**Узденский А.Б.**, профессор, д.б.н. – зам. председателя  
**Иваницкий Г.Р.**, член-корр. РАН – зам. председателя  
**Фесенко Е.Е.**, член-корр. РАН – зам. председателя  
**Ризниченко Г.Ю.**, проф., д.ф.-м.н. – зам. председателя  
**Штранкфельд И.Г.**, к.б.н. – ответственный секретарь

<b>Артюхов В.Г.</b> , проф., д.б.н.	<b>Колчанов Н.А.</b> , академик
<b>Бурлакова Е.Б.</b> , проф., д.б.н.	<b>Комаров В.М.</b> , проф., д.б.н.
<b>Владимиров Ю.А.</b> , академик	<b>Коновалов А.И.</b> , академик
<b>Василевский Ю.В.</b> , проф., д.ф.-м.н.	<b>Макаров А.А.</b> , академик
<b>Воденев В.А.</b> , д.б.н.	<b>Намиот В.А.</b> , проф., д.ф.-м.н.
<b>Волотовский И.Д.</b> , академик НАН Беларуси	<b>Никольский Н.Н.</b> , академик
<b>Гительзон И.И.</b> , академик	<b>Островский М.А.</b> , академик
<b>Говорун В.М.</b> , чл.-корр. РАН	<b>Розанов А.Ю.</b> , академик
<b>Готтих Б.П.</b> , проф., д.х.н.	<b>Савитский А.П.</b> , проф., д.х.н.
<b>Григорьев А.И.</b> , академик	<b>Скулачев В.П.</b> , академик
<b>Гурский Г.В.</b> , чл.-корр. РАН	<b>Твердислов В.А.</b> , проф., д.ф.-м.н.
<b>Гусев Н.Б.</b> , чл.-корр. РАН	<b>Ткачук В.А.</b> , академик
<b>Дегерменджи А.Г.</b> , академик	<b>Туманян В.Г.</b> , проф., д.ф.-м.н.
<b>Есипова Н.Г.</b> , к.ф.-м.н.	<b>Черенкевич С.Н.</b> , академик НАН Беларуси
<b>Иванов В.Т.</b> , академик	<b>Чизмаджев Ю.А.</b> , чл.-корр. РАН
<b>Кирпичников М.П.</b> , академик	<b>Шувалов В.А.</b> , академик

## ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ:

**Рубин А.Б.**, член-корр. РАН – председатель

**Есипова Н.Г.**, канд. физ.-мат. наук – зам. председателя

**Антонов В.Ф.**, проф., д.б.н.

**Атауллаханов Ф.И.**, проф., д.б.н.

**Бурлакова Е.Б.**, проф., д.б.н.

**Ванин А.Ф.**, проф., д.ф.-м.н.

**Вашанов Г.А.**, проф., д.б.н.

**Василевский Ю.В.**, проф. д.ф.-м.н.

**Владимиров Ю.А.**, академик

**Воденев В.А.**, д.б.н.

**Гельфанд М.С.**, проф. д.б.н.

**Гречкин А.Н.**, акад.

**Зинченко В.П.**, д.ф.-м.н.

**Иваницкий Г.Р.**, чл.-корр. РАН

**Колесников С.С.**, проф., д.б.н.

**Комарова Л.Ф.**

**Красавин Е.А.**, проф., д.б.н.

**Крицкий М.С.**, проф., д.б.н.

**Литвин Ф.Ф.**, проф., д.б.н.

**Макеев В.Ю.**, д.ф.-м.н.

**Максимов Г.В.**, проф., д.б.н.

**Намиот В.А.**, проф., д.ф.-м.н.

**Подлубная З.А.**, проф., д.б.н.

**Ризниченко Г.Ю.**, проф., д.ф.-м.н.

**Романовский Ю.М.**, проф., д.ф.-м.н.

**Рощупкин Д.И.**, проф., д.б.н.

**Сергеев А.М.**, член-корр. РАН

**Слобожанина Е.И.**, чл.-корр. НАН Беларуси

**Соболев А.С.**, проф., д.б.н.

**Твердислов В.А.**, проф., д.ф.-м.н.

**Туманян В.Г.**, проф., д.ф.-м.н.

**Узденский А.Б.**, профессор, д.б.н.

**Фесенко Е.Е.**, чл.-корр. РАН

**Финкельштейн А.В.**, проф., чл.-корр. РАН

**Хрущев С.С.**

**Цатуриян А.К.**, д.ф.-м.н.

**Черенкевич С.Н.**, акад. НАН Беларуси

**Чернавский Д.С.**, проф. д.ф.-м.н.

**Шайтан К.В.**, проф., д.ф.-м.н.

**Штранкфельд И.Г.**, к.б.н.

**Ягужинский Л.С.**, проф., д.б.н.

**Яминский И.В.**, проф., д.ф.-м.н.

**Яхно В.Г.**, проф., д.ф.-м.н.

## Оглавление Том 1

ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ.....	7
СТРУКТУРА И ДИНАМИКА БЕЛКОВ И ИХ КОМПЛЕКСОВ .....	59
СТРУКТУРА И ДИНАМИКА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И ИХ КОМПЛЕКСОВ .....	131
БИОФИЗИКА КЛЕТКИ. МЕМБРАННЫЕ ПРОЦЕССЫ .....	165
БИОЛОГИЧЕСКАЯ ПОДВИЖНОСТЬ. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МОТОРЫ.....	227
МЕХАНИЗМЫ ТРАНСФОРМАЦИИ ЭНЕРГИИ: МИТОХОНДРИИ, ФОТОСИНТЕЗ .....	245
БИОФИЗИКА ОДИНОЧНЫХ МОЛЕКУЛ. НАНОБИОТЕХНОЛОГИИ .....	295
НЕЙРОДИНАМИКА И НЕЙРОБИОЛОГИЯ .....	343
БИОФИЗИЧЕСКОЕ ОБРАЗОВАНИЕ .....	383
АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ .....	390

## Том 2

ОРГАНИЗАТОРЫ СЪЕЗДА.....	3
ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ: .....	3
ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ: .....	4
БИОИНФОРМАТИКА И СИСТЕМНАЯ БИОЛОГИЯ .....	7
НОВЫЕ МЕТОДЫ В БИОФИЗИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ .....	33
ДЕЙСТВИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ.....	67
ФОТОБИОЛОГИЯ. БИОФОТОНИКА .....	127
МЕДИЦИНСКАЯ БИОФИЗИКА .....	199
БИОФИЗИКА СЛОЖНЫХ СИСТЕМ.....	299
ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ БИОФИЗИКА .....	341
АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ .....	381

НАШИ СПОНСОРЫ

**SIGMA-ALDRICH®**

**ДИА•М**  
современная лаборатория

**Nikon**

# **Биоинформатика и системная биология**

## ОБОБЩЁННАЯ МОДЕЛЬ ОБНАРУЖЕНИЯ МОТИВОВ В ДНК-ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯХ

### Generalized model for motif discovery in DNA sequences

**Адигеев М.Г., Крошкина А.П.**

Южный федеральный университет, 344006, г.Ростов-на-Дону, ул.Большая Садовая, 105/42

E-mail: [madi@math.sfedu.ru](mailto:madi@math.sfedu.ru), [Kroshkina.Alena@yandex.ru](mailto:Kroshkina.Alena@yandex.ru)

Обнаружение мотивов в последовательностях нуклеотидов является одной из важнейших задач современной биоинформатики. Мотивом называется относительно короткая (6-20 п.н.) нуклеотидная последовательность, встречающаяся в участках генома, играющих определённую (возможно, пока нам не известную) роль в биологических процессах. Основными характеристиками мотива являются: консервативность (степень сходства вхождений мотива), количество вхождений, а также локализация (вхождения мотива часто локализованы в определённой области ДНК) [1]. Применяемые ранее модели и алгоритмы обнаружения мотивов ориентированы на отдельные характеристики.

Авторы разработали модель, обобщающую все три характеристики мотивов [2], построили алгоритмы и программные средства для ускоренного поиска обобщённых мотивов. В основе модели лежит понятие *коэффициент вхождения* мотива  $P$  в нуклеотидную последовательность  $S$ :

$$F(\{w(j) * \text{score}(P, \text{substr}(S, j, l)) : j=1, \dots, |S|-l+1\})$$

Здесь  $l$  – длина мотива  $P$ ;  $\text{substr}(S, j, l)$  – подстрока  $S$ , начинающаяся в позиции  $j$  и имеющая длину  $l$ ;  $w(j)$  – весовые коэффициенты, задающие ожидаемую локализацию мотива. Функция  $\text{score}$  количественно оценивает сходство мотива с заданной подстрокой, а функция  $F$  принимает в качестве аргумента набор чисел. Показано, что данная модель охватывает, при различном выборе функций  $\text{score}$ ,  $F$  и способа представления мотива, большинство наиболее часто используемых формулировок задачи обнаружения мотивов.

Для построенной обобщённой модели разработаны алгоритмы поиска мотивов, не зависящие от конкретного выбора параметров модели. Алгоритмы поиска основаны на методе выборок Гиббса с применением обобщённых суффиксных деревьев ограниченной глубины [3]. Вычислительные эксперименты показали, что разработанные алгоритмы дают значительное ускорение и при этом позволяют обнаруживать требуемые мотивы с высокой чувствительностью и специфичностью. Показано также, что разработанный алгоритм легко модифицируется для поиска димеров — структурных мотивов, состоящих из двух частей, расположенных на заданном расстоянии друг от друга.

1. Sandve G.K. A survey of motif discovery methods in an integrated framework / G.K. Sandve, F. Drabløvs // Biology Direct. – 2006. – URL <http://www.biomedcentral.com/pubmed/16600018>.
2. Материалы работ ФЦП "Научные и научно-педагогические кадры инновационной России", по теме "Создание биоинформационной технологии поиска взаимосвязанных сценариев организации в геномах животных и человека не кодирующей ДНК и кодирующей белок ДНК", государственный контракт № 14.740.11.0006 от 1 сентября 2010. Этапы 2 и 3.  
URL:<http://niib.sfedu.ru/themesnir/gosudarstvennyie-kontraktyi/14740110006>
3. Адигеев М.Г., Бут А.А. Анализ эффективности суффиксных деревьев для решения некоторых задач биоинформатики. // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 6. URL: [www.science-education.ru/106-7418](http://www.science-education.ru/106-7418) (дата обращения: 01.08.2015).



**КАК БОРОЗДКИ ДНК РАСПОЗНАЮТСЯ БЕЛКАМИ****How DNA Grooves are Recognized by the Proteins****Анашкина А.А.1, Кузнецов Е.Н.2, Туманян В.Г.1, Есипова Н.Г.1**

1 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32

2 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем управления Российской академии наук, 117997, Москва, ул. Профсоюзная, 65

Тел.: +7(499)135-60-00; факс: +7(499)135-15-37; e-mail: anastasya.anashkina@gmail.com

Контакты между атомами белка и ДНК для выборки из 3269 белок-ДНК комплексов, были рассчитаны методом Вороного Делоне отдельно для большой и малой бороздок ДНК. Как площади контактов, так и распределение длин контактов были рассчитаны на уровне остатков и на атомном уровне. Продемонстрирована уникальность бороздок ДНК в аспекте картины контактов, которая оказывается скрытой при рассмотрении суммарной статистики для обеих бороздок. Проведена кластеризация аминокислот (раздельно для обеих бороздок) по сходству в отношении связывания с ДНК и кластеризация нуклеотидов по сходству в аспекте узнавания белка. С помощью специального вычислительного приема выделены важнейшие для белок-нуклеинового узнавания взаимодействия, т.е. специфические взаимодействия были отделены от стохастических. Раздельно рассмотрено узнавание белка нуклеиновой кислотой и нуклеиновой кислоты белком. Найденные общие закономерности взаимодействий белок-ДНК позиционированы относительно бороздок ДНК. Полученные результаты существенны для предсказания вероятности связывания конкретного белка с ДНК и конкретных белок-нуклеиновых интерфейсов, и, в частности, прогноза того, с какой бороздкой будет образован комплекс.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект 15-04-99605а.*

1. Namiot V. A. et al. Long-range macromolecule interaction and "speed reading" long nucleotide sequences in DNA // *Physics Letters A*. – 2013. – Т. 377. – №. 3. – С. 323-328.
2. Анашкина А. А. и др. / Классификация аминокислотных остатков на основе сравнительного анализа контактов в структурах комплексов белок-ДНК и специфические взаимодействия ДНК-белок // *Биофизика*. – 2013. – Т. 58, № 6. – С. 975-980
3. Анашкина А. А., Есипова Н. Г., Кузнецов Е. Н., Туманян В. Г. / Специфичность контактов в комплексах белок-ДНК // *Компьютерные исследования и моделирование*. Ижевск: Научно-издательский центр "Регулярная и хаотическая динамика". 2009. Т. 1
4. Анашкина А. А. и др. / Геометрический анализ ДНК-белковых взаимодействий на основе метода Вороного-Делоне // *Биофизика*. – 2008. – Т. 53. – №. 3. – С. 402-406.
5. Anashkina A. et al. / Comprehensive statistical analysis of residues interaction specificity at protein-protein interfaces // *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. – 2007. – Т. 67. – №. 4. – С. 1060-1077.

**ОБНАРУЖЕНИЕ ИММУНОГЛОБУЛИНПОДОБНЫХ ПОВТОРОВ В БАЗЕ ДАННЫХ БЕЛКОВ  
МОРСКОЙ ПЛАНКТОНИЧЕСКОЙ МИКРОБИОТЫ, ПОЛУЧЕННЫХ В РЕЗУЛЬТАТЕ ЭКСПЕДИЦИИ  
SORCERER II GLOBAL OCEAN SAMPLING**

**Detection of immunoglobulin-like repeats in the protein database of marine planktonic microbiota  
resulting expedition Sorcerer II Global Ocean Sampling**

***Ашина Н., Зимин А.А.***

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, 142290, Россия, Пущино,  
Московская область, пр-т. Науки, 5  
*e-mail: zimin@ibpm.pushchino.ru*

Мировой океан содержит сложное сообщество бактериальных вирусов – бактериофагов, большинство из которых не охарактеризованы ни генетически, ни биохимически. Сравнительно недавно были опубликованы метагеномные исследования морской планктонической микробиоты, которые были охарактеризованы из морских поверхностных проб, полученных в результате экспедиции Sorcerer II Global Ocean Sampling (GOS). Данные GOS содержат более 6 миллионов новых аминокислотных последовательностей, большей частью из морских бактерий и вирусов. Эти метагеномные исследования расширяют знания о белках. Например, поиск новых последовательностей такого фермента как ELK-киназы показал трехкратное увеличение гомологичных этим ферментам аминокислотных последовательностей. Известно, что ряд морских грамотрицательных бактерий являются хозяевами для бактериофагов, родственных бактериофагу T4. В том числе это бактерии родов *Prochlorococcus* и *Synechococcus* – самые многочисленные организмы на Земле. В задачи данной работы входил поиск и анализ новых аминокислотных последовательностей гомологичных основному антигену бактериофага T4. Белок Нос бактериофага T4 состоит из четырех tandemных иммуноглобулинподобных доменов. Белки Нос различных бактериофагов, родственных T4, очень гетерогенны по длине и могут содержать разное число доменов, сходных по аминокислотной последовательности и по структуре. Было интересным посмотреть варианты этого белка у морских бактериофагов. Мы провели поиск гомологов аминокислотной последовательности белка Нос в базах данных с помощью программы protein BLAST с использованием алгоритма blastp. Выяснилось, что фрагменты этой последовательности обнаруживаются в структуре множества белков (более 1000 находок). В основном обнаруживаются последовательности, содержащие два либо три иммуноглобулинподобных повтора. При этом последовательности гомологичные (сходные) с четвертым доменом не обнаруживаются. Сравнение базы данных GOS-последовательностей с белком Нос бактериофага RB49 не дало находок вообще. Было проведено сравнение еще ряда последовательностей белков бактериофагов с базой данных GOS. Мы обсуждаем эти данные в свете распространения определенных типов иммуноглобулинового фолда в природе.

*Работа была частично поддержана грантом РФФИ 13-04-00991а.*

**РАЗВИТИЕ НОВЫХ ПОДХОДОВ К ПОИСКУ И ОПРЕДЕЛЕНИЮ КОРОТКИХ  
КОНФОРМАЦИОННО-СТАБИЛЬНЫХ ПЕПТИДОВ****Development of new approaches for search and identification short conformationally-stable peptides*****Батяновский А.В. 1, Мильчевский Ю.В. 2, Туманян В.Г. 2, Есипова Н.Г. 2, Волотовский И.Д.1****1 – Институт биофизики клетки и клеточной инженерии НАН Беларуси, 220072, Минск, ул. Академическая, 27**2 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32**e-mail: suner\_s@mail.ru*

В связи с обнаружения принципиально класса конформационно-стабильных (КС) пептидов  $\alpha$ -спирального типа возникает необходимость развития способов выделения КС-пептидов среди широкого конформационно характерного набора вторичных структур глобулярных и фибриллярных белков и установления их физико-химических свойств и возможных функций. Среди новых подходов должны превалировать те, которые могут обеспечить максимальную точность и надежность формулировки критериев конформационной стабильности.

Основная причина, побуждающая увеличивать число способов определения степени сходства пространственных структур коротких пептидов – низкая точность рентгеноструктурного анализа, не допускающая использование только одного, хотя и естественного критерия сходства структур пептидов – конформационных углов  $\phi$  и  $\psi$ . К тому же угол  $\psi$  измеряется см большей точностью, чем угол  $\phi$  в силу «невидимости» водорода N-H-группы.

В данной работе кроме определения конформационной стабильности по сходству двугранных углов  $\phi$  и  $\psi$  для коротких последовательностей аминокислот, мы разработали новые подходы, в которых, например, в качестве меры сходства используются средне-квадратичные отклонения (RMSD) координат  $C^\alpha$ -атомов (которые для пептидных систем определяются с большей точностью, чем углы  $\phi$  и  $\psi$ ), а также совокупность расстояний между  $C^\alpha$ -атомами. Кроме того, с помощью статистического анализа установлены граничные значения для мер сходства соответствующие изучаемому явлению конформационной стабильности. Кроме того изучено влияние уровня максимально допустимого сходства между белками исходной выборки PDBSelect и корректностью определения конформационной стабильности и выбран оптимальный компромисс между количеством исходных данных и качеством конечного Списка стабильных олигопептидов.

*Работа выполнена при финансовой поддержке фондов Б14Р-178 и РФФИ (проект 14-04-90034-Бел\_а).*

## КОНФОРМАЦИОННО-СТАБИЛЬНЫЕ СЕГМЕНТЫ ПОЛИПЕПТИДНОЙ ЦЕПИ – НОВЫЙ КЛАСС ЛОКАЛЬНЫХ СТРУКТУР БЕЛКА

### Conformationally-Stable Segments of Polypeptide Chain – New Class of Protein Local Structures

**Батяновский А.В.1, Торшин И.Ю. 2, Намиот В.А.3, Мильчевский Ю.В. 4, Галкин И.А.4, Филатов И.В. 4, Волоотовский И.Д. 1, Туманян В.Г.4, Есипова Н.Г.4**

1 – Институт биофизики клетки и клеточной инженерии НАН Беларуси, 220072, Минск, ул. Академическая, 27

2 – Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 73

3 – Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Научно-исследовательский институт ядерной физики, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 1

4 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32  
*e-mail: nge@eimb.ru*

Обнаружен новый класс сегментов белков, соответствующий тетрапептидам с определенной последовательностью аминокислот и характеризующихся постоянством конформации остова полипептидной цепи. Критерий постоянства конформации состоит в сохранения определенного строения более чем в 2/3 структур с данной последовательностью, при этом вариации конформаций в конкретных представителях основной конформации не должны превышать  $10^\circ$  по двугранным углам  $\phi$  и  $\psi$ . Оказалось, что в большинстве случаев основная конформация пептида, выделенного нами как конформационно-стабильная (КС), является  $\alpha$ -спиральной, а КС-пептиды часто встречаются в белках группы all-alfa. Мы обнаружили, что КС-пептиды  $\alpha$ -спирального типа обладают характерными свойствами, не заложенными при их идентификации. Было найдено, что КС-пептиды соответствуют участкам полипептидной цепи с максимальной вероятностью формирования  $\alpha$ -спирали. Оценка вероятности была проведена независимо методом искусственных нейронных сетей (сервер PSIPRED) и методом кластерного анализа локальных структур белка (сервер <http://milch.eimb.ru>). О повышенной склонности КС-пептидов охарактеризованного класса к  $\alpha$ -спиральному типу структуры свидетельствует и их аминокислотный состав: КС-пептиды, сильнее, чем другие  $\alpha$ -спиральные области, обогащены такими аминокислотами как Ala, Glu и Leu. Т.е., КС-пептиды являются наиболее ярко выраженными эталонами  $\alpha$ -спирали, а образуемая ими спираль может быть названа *идеальной вторичной структурой  $\alpha$ -спирального типа*. Мы определили значения углов  $\phi$  и  $\psi$  и параметры водородной связи, присущие такой спирали. От этой особо регулярной структуры следовало ожидать повышенной стабильности. Действительно, расчеты, проведенные нами с применением метода денатурирующей молекулярной динамики, свидетельствуют о повышенной стабильности КС-пептидов (например, EAAV) в сравнении с другими  $\alpha$ -спиральными тетрапептидами.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проекты 14-04-90034-Бел\_a и 15-04-99605a, и Б14Р-178.*

**РАЗРАБОТКА КОМПЬЮТЕРНОГО МЕТОДА ДЛЯ АННОТАЦИИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ГЕНОВ****Developing of new computer method for the bacterial gene annotation****Гольшев М.А.1, Коротков Е.В.1,2**

1 – Институт биоинженерии, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, 117312 Российская Федерация г. Москва, пр-т 60-летия Октября д.7, корп.1

2 – НИЯУ (МИФИ), кафедра «Прикладная математика», 115409, Каширское шоссе, 31  
Тел.: +7(499)135-21-61-; факс: +7(499)135-05-71; e-mail: [bioinf@yandex.ru](mailto:bioinf@yandex.ru)

За последние годы было секвенировано большое число бактериальных геномов. Поэтому одной из важнейших задач компьютерной геномики является функциональная аннотация нуклеотидных последовательностей, в том числе нуклеотидных последовательностей генов. Существующие математические методы функциональной аннотации могут достоверно предсказать возможную функцию гена только при достаточной подобии между последовательностями. В следствии этого существенная доля всех секвенированных генов из бактериальных геномов остаётся неаннотированной.

В данной работе представлен метод предсказания возможной биологической функции гена и его функциональной группы на основе филогенетических профилей. Филогенетический профиль гена создавался путём поиска подобий для нуклеотидной последовательности гена в 1204 референтных геномах и последующей проверки статистической значимости найденного подобия. Профили генов с известными функциями использовались для предсказания возможных функций новых генов, а также их функциональных групп.

Мы провели аннотацию генов из 104 бактериальных геномов и можем предсказать возможные функции для 19% генов, для которых нет ранее предсказанной функции. Вероятность ошибки первого рода составляет 0.5%. Также для 7% генов предсказанные нами функции отличались от сделанных ранее другими методами. Разработанная система может быть использована как дополняющая к существующим системам аннотации, а также для создания функциональных групп генов.

## РАЗНООБРАЗИЕ СОВОКУПНОСТИ ЭНДОГЕННЫХ РЕГУЛЯТОРНЫХ ОЛИГОПЕПТИДОВ. К 25-ЛЕТИЮ БАЗЫ ДАННЫХ EROP-MOSCOW

### Diversity of the set of endogenous regulatory oligopeptides. To the 25th anniversary of the EROP-Moscow database

#### **Замятнин А.А. 1,2**

1 – Институт биохимии им. А.Н.Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, 119071, г. Москва, Ленинский просп., 33

Тел.: +7(495)954-30-66; факс: +7(495)954-25-32; e-mail: [aaz@inbi.ras.ru](mailto:aaz@inbi.ras.ru)

2 – Departamento de Informática, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso 110-V, av. España 1680, CHILE

Тел.: +56(32)265-29-86; факс: +56(32)279-75-13; e-mail: [alexander.zamyatnin@usm.cl](mailto:alexander.zamyatnin@usm.cl)

Выявление многочисленного разнообразия нуклеотидных и аминокислотных последовательностей, отражающих биоразнообразие нашей планеты, вызвало необходимость создания молекулярных баз данных. Первая такая база данных была создана в США по инициативе Маргарет Дейхофф и впервые издана в 1965 г. в виде печатного “Атласа белковых последовательностей и структур” [1]. В 1986 г. в Швейцарии, Амос Байрох положил начало европейской базе данных SwissProt, которая независимо от американской была предназначена для тех же целей [2]. Параллельный сбор данных продолжался до 2005 г., когда эти базы были объединены в одну, названную UniProt [3].

По мере накопления подобной информации становилось ясно, что ряд специфических функций осуществляется пептидными молекулами, содержащими сравнительно небольшое число аминокислотных остатков. Значительное число таких молекул обладает регуляторными функциями, например, они являются регуляторами нервной системы. Поэтому в середине 80-х гг. прошлого века возникла идея создать специализированную базу данных о структуре и функциях малых пептидных структур, позволяющую легко находить данные о таком веществе по разнообразным физико-химическим и биологическим параметрам. Эта идея впервые была нами реализована 1990 г. на базе PC/AT [4–5] и в дальнейшем приобрела современную форму [6–7]. В ее названии EROP-Moscow отражены идея собрать воедино данные о малых эндогенных пептидных регуляторах (Endogenous Regulatory OligoPeptides, <http://erop.inbi.ras.ru/>) и местонахождение базы. К настоящему времени ее содержание свидетельствует о том, что усилиями ученых почти 70 стран число идентифицированных к настоящему времени превысило 12000 различных первичных структур, обнаруженных в представителях более 2000 биологических видов.

Совокупность данных EROP-Moscow позволяет проводить системные исследования биологического, химического и физического разнообразия олигопептидов. Данные этой базы постоянно используются в качестве объекта исследований как в нашей стране, так и за рубежом. На ее основе выявлялись физико-химические особенности различных функциональных групп олигопептидов, функциональные особенности фрагментов хорошо известных белков и решался ряд других проблем пептидомики.

1. Dayhoff M.O., Eck R.V., et al. Atlas of Protein Sequence and Structure, 1965. Silver Spring: National Biomedical Research Foundation.
2. Bairoch A., Apweiler R. / Nucleic Acids Res., 1996. V.24. P.21–25.
3. Apweiler R., Bairoch A., et. al. / Nucleic Acids Res., 2004. V.33. P.D154–D159.
4. Замятнин А.А. / Нейрохимия, 1990. Т.9. С.71–82.
5. Zamyatnin A.A. / Prot. Seq. Data Anal., 1991. V.4. P.49–52.
6. Замятнин А.А., Борчиков А.С. и др. / Нейрохимия, 2005. Т.22. С.17–32.
7. Zamyatnin A.A., Borchikov et al. / Nucleic Acids Res., 2006. V.34. P.D261–D266.

**ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ БЕЛКОВ НОС БАКТЕРИОФАГОВ T4-ТИПА****Phylogenetic analysis of Hoc-proteins of T4-type bacteriophages*****Зимин А.А.1, Микулинская Г.В.2, Нигматуллина Л.Ф.1, Назипова Н.Н.3***

1 – Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, Российская академия наук, Пущино, Московская область, пр. Науки 5, 142290, Россия

2 – Филиал Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова, Российская академия наук, Пущино, Московская область, пр. Науки 7, 142290, Россия

3 – Институт математических проблем биологии, Российская академия наук, Пущино, Московская область, пр. Науки 3, 142290, Россия

*e-mail: zimin@ibpm.pushchino.ru*

Исследование эволюции поверхности вирусных частиц важная задача как с точки зрения фундаментальной науки, так и исходя из нужд медицинской и ветеринарной практики. В цели данной работы входило сравнительное исследование белка Нос – основного антигена бактериофага T4 и родственных ему бактериофагов T4-типа. Бактериофаг T4 и родственные ему бактериофаги являются не только классическими объектами молекулярной биологии, но и составной частью антибактериальных препаратов для фаговой терапии в медицине и ветеринарии. Белок Нос является наружным капсидным белком и присоединяется к центру капсомера, образованного белком 23. Анализ последовательности белка Нос бактериофага T4 показал, что он состоит из четырех тандемных иммуноглобулинподобных доменов. белки Нос различных бактериофагов, родственных T4, очень гетерогенны по длине и могут содержать разное число доменов, сходных по аминокислотной последовательности и по структуре. Белки, содержащие иммуноглобулин-подобные домены, относят к суперсемейству иммуноглобулинов. Иммуноглобулин-подобные белки найдены у организмов всех типов животного мира, у бактерий и вирусов. Они выполняют самые различные функции от адгезии до проявления эластичности. Природа гетерогенности белков Нос, а также собственно происхождение белков может быть исследовано путем сравнительного анализа аминокислотных последовательностей отдельных доменов

Предложено использовать белки Нос для классификации подсемейства фагов *Teequatrovirinae*. Осуществлен филогенетический анализ отдельных доменов 31 белка Нос бактериофагов подсемейства. Показано, что число доменов в белках Нос у разных бактериофагов подсемейства варьирует от одного до пяти. На основе этого бактериофаги можно разделить на 6 подгрупп. Филогенетическое дерево доменов белков – продуктов генов hoc - бактериофагов, родственных T4, образует три основные ветви. Это ветвь С-концевых доменов, ветвь N-концевых доменов и ветвь промежуточных доменов. Обязательное присутствие С-концевого домена во всех белках Нос указывает на его функциональную и структурную значимость для формирования белка и его прикрепления к капсиду фага. Сформулированы гипотетические схемы эволюционного происхождения повторяющихся аминокислотных последовательностей в белках Нос. Сравнительный анализ доменной организации Нос позволяет выделить три возможных пути эволюции его генов: а) внутригенная дупликация промежуточных доменов, б) перемешивание доменов при рекомбинации между генами hoc различных родственных фагов и в) дупликация гена двухдоменного варианта белка Нос.

*Работа была поддержана грантом РФФИ 13-04-00991а.*

## УСТОЙЧИВОСТЬ ИЕРАРХИЧЕСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ БЕЛКОВЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ВЫЯВЛЯЕМЫХ МЕТОДОМ АНИС

### Robustness of hierarchical organization of protein sequences discovered by ANIS method

***Карлинский Д.М., Зинченко А.А., Некрасов А.Н.***

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10

Тел.: +8(926)317-95-03; факс: +7 (495) 335-08-12; e-mail: karlinskyd@gmail.com

Метод Анализа Информационной Структуры (АНИС) [1], используя в качестве входных данных лишь информацию о первичной структуре белков, позволяет выявлять иерархическую организацию информации в белковых последовательностях. АНИС метод применяется для дизайна белковых молекул, позволяя разделять последовательность белка на иерархически организованные, структурно устойчивые фрагменты.

Метод АНИС использует приближение, согласно которому полипептидная цепь рассматривается как система перекрывающихся «информационных единиц» (ИЕ) – фрагментов, состоящих из пяти последовательно расположенных аминокислотных остатков. Каждая ИЕ может быть охарактеризована количественной характеристикой – частотой встречаемости в базах негомологичных белковых последовательностей.

В настоящей работе, при помощи метода «бутстреп» [2], обосновывается устойчивость статистических характеристик встречаемости ИЕ в белках, а также устойчивость иерархической структурной организации, построенной методом АНИС.

Проведённые исследования показали, что, при использовании в качестве исходных данных набора из более чем 500 000 первичных структур белков, входящих в релиз 90 базы негомологичных белковых последовательностей NRDB [3], полученная точность определения расположения иерархических элементов с характеристическим размером полипептидной цепи до 20 аминокислотных остатков составляет  $\pm 2$  позиции. При увеличении размера иерархических элементов до  $\sim 40$  аминокислотных остатков, ошибка в определении границ между ними не превышает  $\pm 3$  позиций. Таким образом, использование метода «бутстреп» показало, что иерархические элементы, выявляемые методом АНИС, определяются с точностью, достаточной для использования в инженерии белковых молекул.

Основанный на новых фундаментальных представлениях метод АНИС позволяет получить совершенно новые данные о структурной организации белков и дает надежду на разрешение ряда старых проблем в физике белковых молекул.

1. [http://www.researchgate.net/profile/Alexei\\_Nekrasov/stats/publication\\_downloads](http://www.researchgate.net/profile/Alexei_Nekrasov/stats/publication_downloads).
2. Hesterberg T. C., Moore D. S., Monaghan S., Clipson A., and Epstein R. / 2005.
3. Holm L., Sander C. / Bioinformatics 1998. T.14(5). C.423-429.



**РАЗРАБОТКА МАТЕМАТИЧЕСКОГО МЕТОДА ДЛЯ ПОИСКА ПЕРИОДИЧНОСТИ ВРЕМЕННЫХ РЯДОВ ПРИ НАЛИЧИИ ВСТАВОК И ДЕЛЕЦИЙ****Developing new mathematical method for search of the time series periodicity with deletions and insertions****Короткова М.А.1, Коротков Е.В.1,2**

1 – Институт биоинженерии, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, 117312 Российская Федерация г. Москва, пр-т 60-летия Октября д.7, корп.1

2 – НИЯУ (МИФИ), кафедра «Прикладная математика», 115409, Каширское шоссе, 31  
Тел.: +7(499)135-21-61-; факс: +7(499)135-05-71; e-mail: bioinf@yandex.ru

Разработан математический метод для поиска скрытой периодичности во временных рядах в присутствии делеций или вставок с использованием динамического программирования и случайных периодических матриц. Этот метод также применим для аминокислотных последовательностей белков и в других символьных последовательностей. Метод позволяет находить скрытую периодичность во временных рядах со вставками и делециями в заранее неизвестных местах. Разработанный метод был применен для поиска периодичности в обменном курсе  $\text{Eu}/\text{\$}$  начиная с 2001 года, а также в аминокислотных последовательностях некоторых белков. Показано существование периодичности равной 6 и 7 дням, а также 24 и 25 часам в проанализированных финансовых рядах, которую можно обнаружить только со вставками и делециями (Рис.1). Для аминокислотных последовательностей белков показано существование протяженных районов с длиной периода равной 7 аминокислотам, содержащих суперспиральные районы (coiled coil), а также наличие периодичности длиной в 6 и 5 аминокислот и более длинных периодов. Обсуждаются причины возникновения скрытой периодичности со вставками и делециями символов в аминокислотных последовательностях белков и в финансовых рядах.

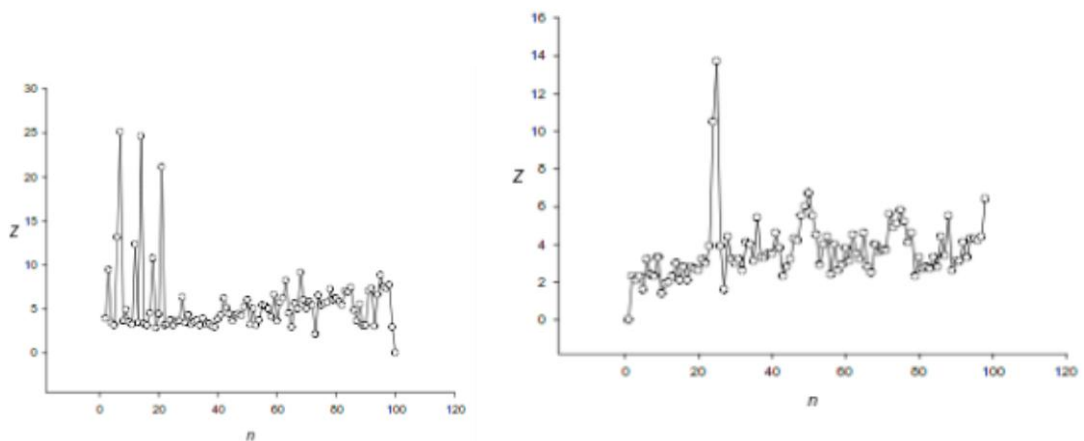


Рис.1. Периодичность длиной в 6 и 7 дней и длиной в 24 и 25 часов в обменном курсе  $\text{Euro}/\text{US}\text{\$}$ .  $n$  – длина периода и  $Z$  есть статистическая значимость периодичности (аргумент нормального распределения).

## **БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ХРОМОСОМНЫХ ДОМЕНОВ ЧЕЛОВЕКА, ОГРАНИЧЕННЫХ «ГОРЯЧИМИ» ТОЧКАМИ ДВУХЦЕПОЧЕЧНЫХ РАЗРЫВОВ ДНК, В СВЯЗИ С ГЕНЕТИЧЕСКИМИ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИМИ ФАКТОРАМИ**

**Bioinformatic analysis of human chromosome domains bounded by "hot" points of double strand breaks as related to genetic and epigenetic factors**

**Кравацкая Г.И.1, Чечёткин В.Р.1, Чуриков Н.А.1, Кравацкий Ю.В.1**

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32  
Тел.: +7(499)135-60-00; факс: +7(499)135-14-05; e-mail: [jiri@eimb.ru](mailto:jiri@eimb.ru)

Проведена обработка полученного в Институте молекулярной биологии обширного экспериментального материала, касающегося эндогенных двухцепочечных разрывов ДНК в геноме человека [1]. Разработан алгоритм и создано необходимое программное обеспечение для оценки степени консервативности границ хромосомных доменов [2], полученных разными экспериментальными методами. Создан открытый для научного сообщества веб-сервер GenomeTrackAnalyzer (<http://ancorr.eimb.ru>), позволяющий эффективно (в сотни раз быстрее, чем методы, содержащие моделирование Монте-Карло или перестановочные тесты) исследовать попарные корреляции между наборами распределенных по хромосоме признаков (геномными треками). В основе программного обеспечения лежит разработанный нами оригинальный метод, базирующийся на центральной предельной теореме, использующий в качестве референсного распределения распределение де Финетти и содержащий аналитические критерии оценки статистической значимости полученных корреляций. Подробное описание метода и вывод критериев приведены в [3]. Показано, что наш метод робастен относительно неоднородности распределения длин, соответствующих геномным трекам, которая наблюдается в большинстве биологических задач.

Получены результаты полногеномного изучения корреляций между положением двухцепочечных разрывов ДНК, ограничивающих хромосомные домены генома человека, и некоторыми распределенными по хромосомам наборами признаков (вариациями нуклеотидного состава, периодичностями в организации нуклеотидных последовательностей хромосом, экзон/интронным строением, расположением точек старта транскрипции генов, профилям метилирования ДНК, разметками различных гистоновых модификаций, расположением GC-островов и др.). Выполнено подробное исследование двухцепочечных разрывов ДНК в рибосомальной ДНК *H. sapiens*, которое позволяет сделать вывод о тесной связи между "горячими точками" образования разрывов в хромосомах и несколькими различными механизмами эпигенетической регуляции экспрессии генов [4].

*Работа поддержана программой Молекулярной и клеточной биологии Президиума РАН и грантом РФФИ № 14-04-01638.*

1. Tchurikov NA, Kretova O.V. et.al./ *Genom Data*, 2015 Sep 1;5:89-93.
2. Tchurikov NA, Ponomarenko NA. / *Proc Natl AcadSci USA*. 1992; 89:6751-6755.
3. Kravatsky Y.V., Chechetkin V.R. et. al/ *DNAResearch*. 2015; 22(1):109-119.
4. Tchurikov N.A., Fedoseeva DM et.al / *J Mol Cell Biol*. 2015 Aug; 7(4):366-82.

**КЛАСТЕРЫ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ ФАКТОРОВ ТРАНСКРИПЦИИ ВОЗМОЖНО РЕГУЛИРУЮТ ПРОСТРАНСТВЕННУЮ ОРГАНИЗАЦИЮ НУКЛЕОСОМ В ЗОНАХ РЕГУЛЯТОРНЫХ МОДУЛЕЙ РАННИХ ГЕНОВ РАЗНЫХ ВИДОВ *DROSOPHILA*****Clusters of binding sites of transcription factors maybe regulate nucleosome space organization in the zones of regulatory modules of early genes of various species of *Drosophila*****Лифанов А.П. 1, Макеев В.Ю. 2, Есипова Н.Г.1**

1 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32

2 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, 119991, Москва, ул. Губкина, 3

e-mail: johnnie\_me@list.ru

Консервативные области были установлены с помощью выравнивания участков ДНК генов *Drosophila*. Все известные сайты связывания транскрипционных факторов (TFBS) перекрывают эти области. Позиции для консервативных доменов были определены для генов rule-группы. Идентифицированные консервативные области имели среднюю длину от 30 до 70 нп, т.е. величину, промежуточную между длиной TFBS (обычно около 7-10 нп) и длиной единицы нуклеосомного повтора (165-210 нп). В целом все консервативные домены занимают не более чем половину общей длины энхансера, но перекрывают большинство TFBS.

Позиции идентифицированных консервативных областей были сравнены с позициями нуклеосом, определенными по Мавричу.

Карта локусов был построена для каждого из генов. Центры сегментов связывания нуклеосом также локализованы на карте.

Оказалось, что распределения консервативных областей и нуклеосомах взаимосвязаны и имеют общий квази-периодический паттерн с периодом (интервал между элементами) согласующимся с минимальной длиной нуклеосомной повторяющейся единицы.

Сегмент длиной 170 нп обычно включает две консервативные области и две промежуточные неконсервативные вставки с характеристическими расстояниями между соседними областями, составляющими около 84 нп, что эквивалентно шагу нуклеосомной ДНК-суперспирали. Подобное сходство в длинах может означать, что идентифицированные консервативные домены локализуются в соседних витках нуклеосомной суперспирали, что позволяет нам назвать эти области ко-фазными блоками.

Из того, что все TFBS перекрывающие ко-фазированные блоки найдены, можно заключить, что TFBS из соседних блоков также близки в пространстве, число потенциально связывающих сайтов близко к конкретным TFBS сильно возрастает (от двух соседей в распрямленной ДНК до пяти, считая сайты на соседнем ко-фазированном блоке). При увеличении числа потенциальных кооперативных энхансерных и ингибиторных сайтов связывания может быть достигнута эффективная регуляция как транскрипции, так и пространственной организации нуклеосом.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект 15-04-99605а.

## К ВОПРОСУ О «БЫСТРОМ ЧТЕНИИ» ДЛИННЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ НУКЛЕОТИДОВ В ДНК

### About "Fast Reading" Long DNA Sequences

**Намиот В.А.1, Анашкина А.А.2, Филатов И.В.3, Туманян В.Г.2, Есипова Н.Г.2**

1 – Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Научно-исследовательский институт ядерной физики, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 1

2 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32

3 – Московский физико-технический институт, 141700, Институтский пер., 9, Московская обл., г. Долгопрудный

*e-mail: vnamiot@gmail.com*

На основе теории селективных дальнедействующих взаимодействий предлагается способ «быстрого чтения» нуклеотидных последовательностей в единичных молекулах ДНК [1]. Предварительно, изучаемые молекулы растягиваются с переводом в так называемую S-форму, а затем они размещаются в распрямлённом состоянии на подложке. «Считывание» нуклеотидного текста осуществляется с помощью иглы (подобной используемым в туннельной или атомно-силовой микроскопиях). Игла приводится в контакт с каждым из нуклеотидов в цепи. На распрямляющий электрод подается синусоидальное напряжение частотой от нескольких десятков до сотни килогерц, вызывающее в нуклеотидах (за счёт взаимодействия их зарядов с полем, создаваемым электродом) колебательные движения. Колебания регистрируются иглой, и их характеристик (включающих в себя амплитуды и фазы первой и второй гармоник сигнала) достаточно для определения, какой именно нуклеотид находится на данной позиции. В принципе, скорость подобного «считывания» может достигать нескольких десятков тысяч нуклеотидов в секунду на одну иглу.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект 15-04-99605.*

1. Намиот В.А., Анашкина А.А., Филатов И.В., Туманян В.Г., Есипова Н.Г. / Секвенирование ДНК на основе анализа дальнедействующих взаимодействий макромолекул. Биофизика, 2012. Т.57. С.925-932.

## НОВАЯ ПАРАДИГМА СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ БЕЛКОВ

### A New Paradigm of Protein Structural Organization

**Некрасов А.Н., Зинченко А.А.**

ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова  
РАН 117997, город Москва, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10

Тел.: +7 (495) 335-01-00; факс: +7 (495) 335-08-12 e-mail: alexei\_nekrasov@mail.ru

В этом исследовании предложен новый способ описания белковых последовательностей, позволяющий выявлять иерархическую организацию структурной информации, записанной в аминокислотной последовательности белков. В рамках классических представлений, элементарной структурной единицей белковых последовательностей является аминокислотный остаток. Проведенные ранее исследования позволили выявить ряд закономерностей в расположении аминокислотных остатков, но ни одно из этих исследований не позволило выявить непрерывной иерархии, наличие которой является необходимой для объяснения ряда характеристических свойств белков. Ставя своей целью выявление фундаментальных особенностей организации белковых последовательностей, в нашем исследовании мы изучили информационную энтропию [1] как функцию от расстояния между аминокислотными остатками. В качестве объекта исследования были использованы базы негомологичных белковых последовательностей NRDB [2] различных релизов.

Полученные зависимости имеют тождественный вид для всех релизов NRDB, что указывает на то, что выявленные закономерности не зависят от выбранной базы, а характеризуют белки как особый класс природных полимеров. Отличительной чертой полученных зависимостей является наличие области с постоянным и низким значением информационной энтропии. Это позволяет рассматривать группу из пяти последовательно расположенных остатков как единое целое – «информационную единицу» (ИЕ). Используя приближение, в котором элементарным блоком белков являются ИЕ, нами был разработан алгоритм, позволяющий выявить иерархическую организацию информации в первичных структурах белков. Разработанный алгоритм – метод Анализа Информационной Структуры (АНИС) состоит из нескольких последовательно выполняемых шагов:

Шаг 1. Перекодирование первичной структуры исследуемого белка из классического описания к описанию, использующему ИЕ.

Шаг 2. Получение набора информационных единиц, из которых состоит исследуемая первичная структура белка, путем последовательного смещения с шагом в одну позицию от N-к C-концу исследуемой последовательности.

Шаг 3. Расчет частот встречаемости по базе данных негомологичных белков информационных единиц из первичной структуры исследуемого белка.

Шаг 4. Построение «частотного профиля заселенности» первичной структуры белка.

Шаг 5. Исследование «частотного профиля заселенности» с помощью центросимметричных сглаживающих функций с различной полушириной, позволяющих выявить иерархическую структуру организации информации в первичных структурах белков.

Новое приближение и разработанный на его основе АНИС метод могут быть использованы для выявления независимо формирующихся и структурно-устойчивых элементов в пространственной структуре белков, иммуногенных фрагментов в первичной структуре белков, а также функционально важных участков в первичной структуре белков [3].

1. C.E. Shannon / Bell System Technical Journal 1948. T.27. C.379-423.

2. L. Holm, C. Sander / Bioinformatics 1998. V.14(5). P.423-429.

3. [http://www.researchgate.net/profile/Alexei\\_Nekrasov/stats/publication\\_downloads](http://www.researchgate.net/profile/Alexei_Nekrasov/stats/publication_downloads)

## ЗАКОНОМЕРНОСТИ ФРАГМЕНТАЦИИ ДНК ПРИ СЕКВЕНИРОВАНИИ И ФИЗИЧЕСКОЕ КАРТИРОВАНИЕ ГЕНОМА

### Non-random DNA fragmentation in next-generation sequencing and the physical mapping of genomes

*Нечипуренко Ю.Д.1, Попцова М.С.2, Нечипуренко Д.Ю.2, Ходыков М.В.1, Ильичева И.А.1, Гроховский С.Л.1*

1 – Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32;

2 – Физический факультет МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 2

*e-mail: nech99@mail.ru*

В основе большинства современных методов определения последовательности лежит расщепление всей геномной ДНК на короткие фрагменты длиной несколько сотен пар оснований. После их секвенирования производится компьютерная сборка всего генома с многократным наложением перекрывающихся участков. В основе такого подхода к секвенированию лежит предположение, что разрывы ДНК на фрагменты происходят случайно и не зависят от последовательности нуклеотидов. Однако при фрагментации ДНК геномов с помощью методов, основанных на разрыве ДНК под действием гидродинамических сил (ультразвук, небулизация и «Каварис»), обнаружено, что фрагменты из одних областей присутствуют в избытке, а из других - в недостатке. Ранее мы показали, что при разрыве двухспиральной ДНК при помощи ультразвука частоты разрыва цепи зависят от последовательности нуклеотидов [1-7]. В результате проведенного нами анализа 5'-концевых участков фрагментов, выровненных на соответствующие референтные геномы, мы обнаружили, что частоты разрывов разных ди- и тетра-нуклеотидов на концах фрагментов находятся в хорошем соответствии с данными ультразвукового расщепления ДНК. Частоты ультразвукового расщепления можно использовать для физического картирования генома, то есть определения участков, имеющих аномалии по ряду физических характеристик [8].

1. Гроховский С.Л., Ильичева И.А., Нечипуренко Д.Ю., Панченко Л.А., Полозов Р.В., Нечипуренко Ю.Д. / Биофизика 2008, Т.53, С. 417-425.
2. Нечипуренко Ю.Д., Головкин М.В., Нечипуренко Д.Ю., Ильичева И.А., Панченко Л.А., Полозов Р.В., Гроховский С.Л. / Журнал структурной химии 2009, Т. 50, С.1040-1047.
3. Sergei L. Grokhovsky, Irina A. Il'icheva, Dmitry Yu. Nechipurenko, Michail V. Golovkin, Larisa A. Panchenko, Robert V. Polozov and Yury D. Nechipurenko /Biophysical Journal, 2011, Vol.100, N1, P.117-125.
4. Sergei Grokhovsky, Irina Il'icheva, Dmitry Nechipurenko, Michail Golovkin, Georgy Taranov, Larisa Panchenko, Robert Polozov and Yury Nechipurenko. / in Gel Electrophoresis – Principles and Basics, Dr. Sameh Magdeldin (Ed.), ISBN: 978-953-51-0458-2, InTech. 2012.
5. Poptsova M.S., Il'icheva I.A., Nechipurenko D.Y., Panchenko L.A., Khodikov M.V., Oparina N.Y., Polozov R.V., Nechipurenko Y.D., Grokhovsky S.L. / Sci Rep. 2014 Mar 31;4:4532.
6. Grokhovsky S.L., Il'icheva I.A., Nechipurenko D.Yu., Golovkin M.V., Panchenko L.A., Polozov R.V. and Nechipurenko Yu.D. /- in "Advances in Engineering Research", Volume 8. pp. 213-236. (Editor: Victoria M. Petrova). "Nova Science Publishers". ISSN: 2163-3932. ISBN: 978-1-63321-282-4. (2014).
7. Д.Ю. Нечипуренко, И.А. Ильичева, М.В. Ходыков, М.С. Попцова, Ю.Д. Нечипуренко, С.Л. Гроховский. / Биофизика, 2014, Т. 59, С. 1061-1070.
8. Нечипуренко Ю.Д., Нечипуренко Д.Ю., Ильичева И.А., Головкин М.В., Панченко Л.А., Полозов Р.В., Гроховский С.Л. / Журнал «Компьютерные исследования и моделирование», 2010, Т. 2 С. 419-428.

**ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГЕНОМНОЙ ДНК И РЕГУЛЯЦИЯ ТРАНСКРИПЦИИ  
ПРОКАРИОТ: ДРЕВНИЙ ФАКТОР ЕСТЕСТВЕННОГО ОТБОРА****Electrostatic properties of genome DNA and transcription regulation in procaryotes: an ancient natural selection factor****Осипов А.А.**Институт биофизики клетки РАН, 142290, Пущино МО, ул. Институтская, 3  
Тел.: +7(929)606-98-28; e-mail: aosypov@gmail.com

ДНК – сильно заряженная молекула, и электростатика должна играть важную роль в ее взаимодействии с белками, в частности, регулирующими транскрипцию. Однако отсутствие метода, позволяющего рассчитать профиль электростатического потенциала (ЭП) протяженных участков ДНК, тормозило исследование этой проблемы. В нашей лаборатории был разработан такой метод и построена DEPPDB – база данных электростатических и других физических свойств всех полных секвенированных геномов.

Отрицательный ЭП имеет неоднородное распределение вдоль молекулы ДНК и прямо, но не однозначно, зависит от ее GC состава. Важно конкретное расположение нуклеотидов и окружающие последовательности. Измеренная в прямом эксперименте частота связывания молекулы РНК-полимеразы вдоль генома прямо коррелирует с рассчитанным значением ЭП.

Области регуляции транскрипции имеют выраженные особенности ЭП. Сайты связывания транскрипционных факторов различных белковых семейств в разных таксонах расположены в протяженных областях повышенного ЭП и сами имеют высокое его значение. Промоторы в среднем имеют повышенное значение величины и неоднородности профиля ЭП. Точки старта транскрипции прокариотических геномов характеризуются протяженной (сотни п.о.) зоной повышенного ЭП и серией неоднородностей непосредственно вокруг ТСТ. Это связано с посадкой белков и формированием других физических свойств, необходимых для работы машины транскрипции. Конкретные детали этой архитектуры схожи у близких таксонов. Многочисленные данные свидетельствуют о том, что третий промоторный детерминант — ир-элемент — имеет электростатическую природу.

При изучении влияния электростатики на работу генома следует учитывать закономерности формирования других физических свойств ДНК – изгибности, термостабильности, суперскрученности. Есть данные о взаимодействии этих свойств и электростатики как при их формировании, так и при регуляции работы генома, напр. при сравнении термофильных и психрофильных геномов, а также переключении метаболизма у шизофильных организмов.

Полученные данные позволяют сделать вывод о важности и универсальности роли электростатики в регуляции транскрипции прокариотических геномов. Предлагаемый механизм влияет на вероятность связывания и точность позиционирования участвующих в регуляции транскрипции белков. Универсальный характер регуляторного воздействия электростатики позволяет предположить его важность для процесса горизонтального переноса генов и эволюции систем регуляции транскрипции и внести вклад в понимание проблемы повышенного содержания АТ в регуляторных областях генома.

Особенности формирования физических свойств на основе нуклеотидной последовательности позволяют по-новому взглянуть на фундаментальные проблемы второго правила Чаргаффа, избыточности генетического кода и нейтральности синонимических замен и обосновать фундаментальное положение о фенотипе ДНК и принципы биофизической биоинформатики.

## **ЭКСПЕРТНАЯ СИСТЕМА ПОДДЕРЖКИ ПРИНЯТИЯ РЕШЕНИЯ В ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ ЧЕЛОВЕКА**

### **The assessment of the human reproductive system expert decision support systems**

**Пономарева Н.С., Панич А.Е.**

ФГАУ ВО «Южный федеральный университет», 344090, г. Ростов-на-Дону, ул. Мильчакова 10  
Тел.: +7(863)273-49-45; e-mail: [nsponomareva@sfedu.ru](mailto:nsponomareva@sfedu.ru)

На сегодняшний день использование современных информационных технологий становится критическим фактором развития персонализированной медицины, поэтому разработка и внедрение информационных систем является одной из самых актуальных задач. Учитывая, что с одной стороны, наиболее частыми патологическими состояниями беременности являются ее самопроизвольное прерывание и гестозы, обусловленные нарушением формирования плаценты и развитием плацентарной недостаточности, а с другой стороны принимая во внимание сложность механизмов, в становлении которых принимает участие множество генетических, биохимических и физикальных факторов необходимо создание информационной системы для практикующих врачей.

Экспертная система поддержки принятия решения в оценке состояния репродуктивной системы человека содержит мультифакторную базу знаний, созданную на основе результатов практических исследований сотрудников лаборатории генетики человека и животных и лаборатории биомедицины ЮФУ и сотрудников Ростовского государственного медицинского университета. Определены типы, признаковое пространство и признаковое описание атрибутов базы знаний данных пациентов.

Определены основные пользователи системы (врач, исследователь и пациенты) и их требования к программной реализации разрабатываемой экспертной системы. Описано взаимодействие субъектов с компонентами экспертной системе (базой знаний, модулем логического вывода, модулем представления информации). Создана структура экспертной системы, содержащая компоненты, функции и субъекты.

Система рассчитывает риск бесплодия и репродуктивных потерь на основе входной информации о состоянии гомозиготы (нормальные аллели, полиморфная) или гетерозиготы (с одним полиморфным аллелем) по генам фолатного цикла, факторов системы гемостаза, цитокинов и системы контроля клеточного цикла и репарации с учетом вклада, вносимого в оценку репродуктивных потерь и бесплодие в супружеских парах.

Расчет риска гестоза основан на особенностях генотипа пациента (полиморфизм генов фолатного цикла, системы факторов свертывания крови, ренин-ангиотензин системы) и исследованиях постгеномных маркеров, анализе анамнестических данных и физикальных признаков.

Добавление новых признаков в множества описания объектов пополнит базу знаний и позволит расширить множество классов дмагназов, т.е. диагностировать не только гестоз, бесплодие, риск репродуктивных потерь, но и другие заболевания репродуктивной системы.

Экспертная система разработана для практического использования врачами в медицинских учреждениях.

*Исследование выполнено в рамках проектной части госзадания Министерства Образования и Науки РФ, грант № 6.703.2014/К «Поиск новых мишеней для предиктивной диагностики заболеваний репродуктивной системы».*

1. Джарратано Джозеф. Экспертные системы: принципы разработки и программирование/ Джозеф Джарратано, Гари Райли – 4-е издание. : Пер. с англ. – М.: ООО «И.Д. Вильямс», 2007.



**РИБОНУКЛЕОТИДНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ А-САЙТА ПЕПТИДИЛ-ТРАНСФЕРАЗНОГО ЦЕНТРА РИБОСОМЫ ДЕМОНИСТРИРУЕТ ГОМОЛОГИЮ С УЧАСТКАМИ ГЕНОВ ШИРОКОГО СПЕКТРА КОНСЕРВАТИВНЫХ БЕЛКОВ****The ribonucleotide sequence of A-site of ribosomal peptidyl-transferase center demonstrates the homology with genes of wide range of conservative proteins****Скобликов Н.Э.1,2, Зимин А.А. 3**

1 – Северо-Кавказский научно-исследовательский институт животноводства, 350055, Россия, Краснодар, пос. Знаменский, ул. Первомайская, 4

2 – ООО «Три-3-СитиЛаб», 350000, Россия, Краснодар, ул. Московская, 96

3 – Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, 142290, Россия, Пушкино, Московская область, пр-т. Науки, 5

*e-mail: zimmin@ibpm.pushchino.ru*

Работа основывалась на гипотезе, что нуклеотидная последовательность консервативного участка рибосомной 23 S РНК, принимающей участие в формировании пептидил-трансферазного центра (ПТЦ) рибосомы, могла являться кодирующей молекулой (РНК-геном) для спектра консервативных белков на ранних этапах биологической эволюции. В качестве источника такой последовательности был выбран участок 23 S рРНК (участок А-сайта, включающий ветви H92, H90 и H93 пептидил-трансферазного центра), характеризующийся высоким консерватизмом структуры и нуклеотидного состава у различных таксонов прокариот. Рассчитав результат гипотетической трансляции одной и возможных рамок считывания, провели поиск полученной аминокислотной последовательности в белках с помощью программы protein BLAST с использованием алгоритма blastp. Выяснилось, что фрагменты этой последовательности (прежде всего – мотив IxhxxELGLE) обнаруживаются в структуре множества белков различных функциональных классов у прокариот различных таксонов. В числе белков, содержащих фрагменты этой последовательности: 6 аминоацил-тРНК-синтетазы обоих классов, 3 рибосомных белка, ДНК-полимераза III, НАД-зависимая ДНК-лигаза А, 5 ферментов метаболизма. Соответствующие участки генов этих белков демонстрировали гомологию с консенсусной последовательностью гена 23 S рРНК. Мы полагаем, что такая последовательность РНК (AUUAAAGCGGUACGCGAGCUGGGUUUAGAACGU) является одновременно двойной предковой формой: структурно – для ПТЦ, информационно – для спектра древних пептидов, и определяется нами как последний общий матрично-рибосомный м/рРНК-предшественник (Last Universal RiboNucleic Ancestor, LURNA).

*Работа была частично поддержана грантом РФФИ 13-04-00991а.*

## **RULE-BASED МОДЕЛИРОВАНИЕ СИСТЕМ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ**

### **NewRule-based modelling of cell signalling pathways**

**Сорокин А.А**

Институт биофизики клетки РАН, 142290, Пущино, ул. Институтская, 3  
Тел.: +7(4967)739-165; факс: +7(4967) 33-05-09; e-mail: [lptolik@gmail.com](mailto:lptolik@gmail.com)

Одним из существенных препятствий при разработке математических моделей путей внутриклеточной сигнализации является, так называемый «комбинаторный взрыв», быстрый рост размерности модели (числа описываемых молекулярных компонент) при добавлении в нее новых реакций, белков, сайтов пост-трансляционной модификации. Проиллюстрируем «комбинаторный взрыв» на реальном примере: взаимодействие только 5 белков на ранних этапах активации рецептора фактора роста эпидермиса (EGFR) приводит к образованию 1232 возможных молекулярных компонент. Еще более наглядным примером может быть белок p53, который имеет 27 сайтов фосфорилирования и, соответственно, один может образовывать  $2^{27} = 134,217,728$  фосфорилированных форм [1], при этом концентрация p53 в клетке колеблется примерно от 5,000 до 500,000 молекул на клетку. Мы видим, что при самой высокой концентрации p53 не хватает даже для того, чтобы реализовать все возможные фосфорилированные формы, не говоря о взаимодействии с другими белками. Это тоже довольно распространенная характеристика моделей путей внутриклеточной сигнализации.

Для построения, симуляции и анализа моделей, имеющих склонность к «комбинаторному взрыву» в последние 10 лет были разработаны методы rule-based моделирования [2-3]. Принцип такого подхода заключается в замене явного кинетического уравнения на минимально необходимый шаблон (rule), что позволяет как выписать уравнения модели в явном виде, так и собирать модель «на лету», в том случае, если она содержит огромное число возможных молекулярных компонент.

В докладе на примере модели активации рецептора фактора роста эпидермиса (EGFR) рассмотрены основные концепции методов rule-based моделирования, границы применимости, подходы к построению моделей, способы анализа структуры полученной модели и результатов ее симуляции.

1. Hlavacek, W.S., Faeder, J.R., Blinov, M.L., Perelson, A.S., Goldstein, B. The complexity of complexes in signal transduction // *Biotechnology And Bioengineering*, 84, 7, 783–794, 2003
2. Danos V. Agile modelling of cellular signalling (invited paper). // *Electronic Notes in Theoretical Computer Science*, 229, 4, 3–10, 2009.
3. Hlavacek, W.S., Faeder, J.R., Blinov, M.L., Posner, R.G., Hucka, M., Fontana, W. Rules for modeling signal-transduction systems. // *Science's STKE : signal transduction knowledge environment*, 2006, 344, re6, 2006.

**ПРЕДСКАЗАНИЕ ПРОМОТОРОВ В E.COLI НА ОСНОВЕ ДАННЫХ О РАСПРЕДЕЛЕНИИ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ВДОЛЬ МОЛЕКУЛЫ ДНК****Promoter prediction in E.coli based on analysis of electrostatic potential distribution around DNA**

***Темлякова Е.А., Дзелядин Т.Р., Камзолова С.Г., Сорокин А.А.***

Институт биофизики клетки РАН, 142290, Пущино, ул. Институтская, 3

Тел.: +7(4967)730165; факс: +7 (4967)330509; e-mail: [evgenia.teml@gmail.com](mailto:evgenia.teml@gmail.com)

Промоторы – небольшие участки ДНК (около 60 п.о.), располагающиеся перед точкой старта транскрипции и участвующие в процессе связывания РНК-полимеразы. Их нуклеотидные последовательности имеют ряд хорошо описанных закономерностей (элементов), играющих важную роль в процессах ДНК-белкового распознавания и инициации транскрипции: гексонуклеотиды -10 и -35 областей, спейсер между ними, АТ-богатые участки в upstream области. Поиск промоторных последовательностей сильно осложнен двумя обстоятельствами: во-первых, не каждый промотор обладает всем набором указанных элементов; во-вторых, описанные выше области часто сильно варьируют в нуклеотидном составе, что в свою очередь обеспечивает тонкую регуляцию кинетической силы каждого промотора в отдельности. Таким образом, возникает необходимость в поиске каких-то дополнительных характеристик промоторов, на основе которых было бы возможно более точно обнаруживать эти важнейшие регуляторные участки генома.

В данной работе была продемонстрирована возможность использования характеристик распределения электростатического потенциала вдоль молекулы ДНК для поиска промоторов. Построены классификационные модели, позволяющие разделять промоторные и непромоторные последовательности (случайные бернуллиевские, кодирующие, псевдопромоторы) с точностью порядка 83–85%. Определены наиболее значимые участки для такого разделения, по-видимому, играющие важную роль при ДНК-полимеразном узнавании. Характеристики точности предсказаний, полученные при помощи наших классификационных моделей, были сопоставлены с аналогичными характеристиками для методов, опирающихся на поиск закономерностей в нуклеотидном составе промоторов. Было показано, что наш метод дает на 30–40 % большую селективность при поиске промоторов, что при анализе полной хромосомы *E.coli* приводит к сокращению ложных срабатываний (определение непромоторной области как промоторной) примерно в два раза.

Распределение электростатического потенциала рассчитывалось при помощи метода, использующего уравнение Пуассона-Больцмана [1], и значительно более быстрого подхода на основе формулы Кулона [2]. Разница в полученных результатах проанализирована и представлена.

1. Baker N.A., Sept D. et al. / PNAS, 2001, Vol.98(18), P. 10037-10041.

2. Polozov R. V., Dzhelyadin T. R. et al. / J. Biomol. Struct. Dyn., 1999, Vol.16(6). P. 1135–1143.

## ГРАФ-ОРИЕНТИРОВАННОЕ ХРАНИЛИЩЕ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ДАННЫХ О МИКРОБИОМЕ ЧЕЛОВЕКА

### Graph-oriented storage system for human microbiome data

**Темлякова Е.А., Рясик А.А., Сорокин А.А.**

Институт биофизики клетки РАН, 142290, Пущино, ул. Институтская, 3

Тел.: +7(4967)730165; факс: +7 (4967)330509; e-mail: [evgenia.teml@gmail.com](mailto:evgenia.teml@gmail.com)

Несколько лет назад был успешно реализован масштабный проект по расшифровке геномов микроорганизмов, обитающих внутри и на поверхности тела человека – “Проект микробиом человека” [1]. В результате работы над этим проектом был составлен каталог генетических данных для более чем 2300 бактерий, который находится в открытом доступе и до сих пор пополняется новыми данными. При этом, к сожалению, большинство представленных в каталоге геномов невозможно непосредственно включить в процесс исследования и анализа, так как они слабо охарактеризованы и требуют дополнительной обработки и аннотирования.

В рамках данной работы была разработана граф-ориентированная инфраструктура, способная собирать, структурировать и интегрировать различные сведения о бактериях, включающие: описанные генетические объекты, протеом, транскриптом, регуляторные и метаболические сети, данные о физико-химических свойствах макромолекул и др. Сбор данных осуществляется из авторитетных источников, таких как: GenBank, MetaCyc, UniProt, PDB, Intact и др. Собранная информация представляется в виде семантического графа, где узлы – это объекты различной природы (например: гены, реакции, ссылки на базы данных), а ребра между ними отображают различные типы отношений и связей между объектами. Помимо этого, реализованы алгоритмы для работы с содержимым хранилища, позволяющие оценить степень подобия среди нуклеотидных и аминокислотных последовательностей, а также схожие закономерности в распределении физико-химических характеристик различных участков генома. Это позволяет обнаруживать и связывать между собой похожие белки, гены, промоторы и т.д. как внутри одного, так и среди разных микроорганизмов.

Граф-ориентированное хранилище реализовано на платформе Neo4j [2] и на данном этапе находится в тестовом режиме. Наполнение и обновление данных осуществляется на основе программных модулей разработанных на языке Python. Построение запросов, представление и визуализация результатов производится при помощи стандартного web-интерфейса и языка запросов Cypher.

*Работа поддержана грантом РФФИ No14-04-31793-мол\_а.*

1. NIH Human Microbiome Project: <http://www.hmpdacc.org/catalog/>
2. Neo4j web-site (Neo Technology): <http://www.neo4j.org/>

**ВЫНУЖДЕННЫЕ КОНФОРМАЦИИ ПОЛИПЕПТИДНОЙ ЦЕПИ****Enforced Conformations of Polypeptide Chain**

**Урошлев Л.А.1, Торшин И.Ю.2, Батяновский А.В.3, Есипова Н.Г.1, Туманян В.Г.1**

1 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32;

2 – Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 73;

3 – Институт биофизики клетки и клеточной инженерии НАН Беларуси, 220072, Минск, ул. Академическая, 27

*e-mail: tuman@eimb.ru*

Считается, что нативная структура белка соответствует минимуму свободной энергии. Хотя и можно предположить, что минимум энергии достигается и в любом локальном сегменте структуры, возможно чтобы за счет неоптимальной конформации одного сегмента была достигнута оптимальная конформация другого. Например конкретное объяснение явления существования «запрещенных» контактов в  $\beta$ -изгибе II'-типа (с напряженными ван-дер-ваальсовыми контактами) определяется более массивной  $\beta$ -шпилькой. Мы выдвинули идею топологического замка [1]: фиксация концевых остатков  $\beta$ -шпильки, примыкающих к  $\beta$ -изгибу, резко ограничивает число конформационных вариантов для аминокислотных остатков, входящих в  $\beta$ -изгиб. Это определяется тем, что при замыкании псевдоцикла ряд конформационных параметров становятся зависимыми. Если возможная конформация  $\beta$ -изгиба всего одна и в ней значения  $\phi$  и  $\psi$  одного из остатков попадают в запрещенную область карты Рамачандрана, то она могла бы осуществиться в силу того, что другие варианты топологически невозможны. Можно сформулировать более общее положение: есть конформации, которые навязываются конформациями соседних сегментов. Именно таков механизм образования I, I', II, II' типов  $\beta$ -изгибов. Для расчетов примеров таких объектов использованы два независимых метода: метод перебора по сетке (шаг  $1^\circ$ ) с последующей оптимизацией и метод геометрии расстояний. Проведенные в данной работе расчеты показали, что оба метода дают согласующиеся решения, соответствующие характерным для этих типов  $\beta$ -изгибов значениям углов  $\phi$  и  $\psi$ . Получено по одному дополнительному решению. Часть дополнительных решений ранее не была описана, но найдена нами в банке данных PDB, а часть не описана в литературе и в банке данных не обнаруживается. Итак, выяснен генезис конформаций основных типов  $\beta$ -изгибов. Они являются следствием топологических ограничений в системе  $\beta$ -шпилька- $\beta$ -изгиб: их следует считать навязанными со стороны  $\beta$ -шпилек, к которым примыкают  $\beta$ -изгибы.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проекты 14-04-00639 и 14-04-90034-Бел\_а.*

1. Урошлев Л.А., Торшин И.Ю., Батяновский А.В., Есипова Н.Г., Туманян В.Г. (2015) Запрещенные конформации полипептидной цепи на примере бета-изгиба бета-шпильки в SH3-доме альфа-спектрина. Биофизика. Т. 60, С. 5-14.

## **БИОФИЗИКА И КОМПЬЮТЕРНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ: ОТ ПОИСКА МИШЕНЕЙ ДО КОНСТРУИРОВАНИЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВ**

### **Biophysics and In Silico Pharmacology: from Finding Targets to De Novo Drug Design**

***Филимонов Д.А., Поройков В.В.***

*ИБМХ, 119121, Москва, Погодинская ул., 10/8,*

e-mail: dmitry.filimonov@ibmc.msk.ru

На основании того, что большинство проявлений биологической активности органических соединений есть результат молекулярного узнавания, зависящего прежде всего от соответствия между отдельными атомами лиганда и макромолекулы-мишени, мы разработали целостную систему дескрипторов атомных окрестностей – многоуровневых (MNA, MultilevelNeighborhoodsofAtoms), маркированных (LMNA, LabeledMNA) и количественных (QNA, QuantitativeNeighborhoodsofAtoms), и применили их в ряде задач анализа и моделирования взаимосвязей «структура-активность/свойство» (SAR/QSAR/QSPR) [1-4]. Например, дескрипторы MNA применяются для прогноза спектров биологической активности органических соединений в компьютерной системе PASS более 20 лет. Независимыми исследователями опубликовано около 300 работ, во многих из них компьютерные прогнозы PASS подтверждены экспериментом [1]. Дескрипторы LMNA применены для прогноза сайтов метаболизма ксенобиотиков [2], что особенно важно при разработке эффективных и безопасных лекарств. Дескрипторы QNA используются в программе GUSAR для построения количественных и качественных моделей зависимостей «структура-активность», в частности для оценки токсичности ксенобиотиков [3]. Используя те же идеи о локальном соответствии при молекулярном узнавании мы разработали оригинальный метод анализа аминокислотных последовательностей белков для установления их структурно-функциональной специфичности и функционально важных сайтов [5].

На основе созданных нами программ реализованы свободно доступные через Интернет веб-сервисы (<http://way2drug.com/projects.html>) (PASSOnline – предсказание более 4000 видов биологической активности; GUSAROnline – прогноз острой токсичности для крыс и взаимодействие с нежелательными мишенями; CLC-Pred – прогноз цитотоксичности для опухолевых и неопухолевых клеточных линий; DIGEP-Pred – прогноз индуцированных органическими соединениями изменений профилей экспрессии генов; SOMP – прогноз сайтов метаболизма основных ферментов первой и второй фазы биотрансформации ксенобиотиков; SMP – сервис для определения принадлежности ксенобиотиков к субстратам и/или метаболитам различных ферментов). В настоящее время число зарегистрированных пользователей портала Way2Drug составляет свыше 13 тысяч человек из 91 страны мира; ими получены результаты прогноза более чем для 500 тысяч молекул.

1. Filimonov D. A. et al. /Chemistry of Heterocyclic Compounds, 2014, No 3 (561), 483-499; <http://www.way2drug.com/PASSonline/>
2. Rudik A.V. et al. /J. Chem. Inf. Model., 2014, 54, 498-507.
3. Filimonov D.A. et al. /SAR and QSAR Environ. Res., 2009, 20 (7-8), 679-709.
4. Filimonov D.A., Poroikov V.V. Probabilistic approach in activity prediction. In: Chemoinformatics Approaches to Virtual Screening. Eds. Alexandre Varnek and Alexander Tropsha. 2008. Cambridge (UK): RSC Publishing, 182-216.
5. Sobolev B.N. et al. /BMC Bioinformatics, 2010, 11:313.

**НОВЫЙ МЕТОД РЕКОНСТРУКЦИИ ЭВОЛЮЦИОННЫХ СОБЫТИЙ В СТРУКТУРЕ 5' НЕТРАНСЛИРУЕМЫХ ОБЛАСТЕЙ В ГЕНОМАХ БАКТЕРИЙ****A novel method for reconstruction of evolutionary events in 5' untranslated regions' structure in bacterial genomes****Образцова А.С., Червонцева З.С., Ставровская Е.Д., Миронов А.А.**

ФББ МГУ имени М.В.Ломоносова, 119234, Москва, ГСП-1, Ленинские горы МГУ 1, стр. 73

Тел.: +7(916) 100-40-69; e-mail: [chezoya@gmail.com](mailto:chezoya@gmail.com)

В последние годы было показано, что некодирующие РНК могут нести различные функции, которые обусловлены их вторичной структурой. Среди них – структурно-каталитические единицы, транспортные РНК, молекулы, участвующие в сплайсинге, процессинге и модификации хроматина, а также регуляторы экспрессии генов. К последним относятся, например, РНК-переключатели, которые располагаются перед началом кодирующей части гена, на 5'-конце мРНК, и обычно имеют сложную пространственную структуру. В связи с экспоненциальным ростом количества данных, получаемых при помощи современных методов секвенирования, разработка компьютерных методов поиска локально структурированных участков геномов является актуальной задачей биоинформатики.

Существуют различные программы, реализующие методы предсказания структурированности РНК, в основе которых лежит анализ нуклеотидной последовательности. Однако ни одна из них не работает достаточно быстро и точно [1], чтобы проводить множественные полногеномные скрининги. В данной работе мы предлагаем метод, удовлетворяющий этим требованиям. Наш подход объединяет анализ структурированности последовательности с анализом филогенетического окружения. Кроме предсказания новых некодирующих РНК, метод даёт информацию о наиболее вероятных эволюционных событиях изменения структурированности.

Основу метода составляют две программы, написанные ранее в нашей лаборатории. RNASurface [2] позволяет оценить структурированность единичной последовательности (используется быстрый подсчет минимальной свободной энергии), а tHMM [3] уточняет оценку, используя информацию о филогенетическом окружении и производит реконструкцию событий потери/приобретения структурированности на ветках дерева.

Метод был успешно протестирован на выборке генов из 199 геномов бактерий таксонов *Bacilli* и *Clostridia*, для которых ранее была показана регуляция при помощи РНК-переключателей.

1. Eddy, S.R., Computational analysis of conserved RNA secondary structure in transcriptomes and genomes., *Annu. Rev. Biophys.*, 2014, vol. 43, pp. 433-56.
2. Soldatov, R.A., Vinogradova, S.V., and Mironov, A.A., RNA Surface: Fast and accurate detection of locally optimal potentially structured RNA segments, *Bioinformatics*, 2014, vol. 30, pp. 457-463.
3. Bykova, N.A., Favorov, A.V., and Mironov, A.A., Hidden Markov Models for Evolution and Comparative Genomics Analysis, *PLoS One*, 2013, vol. 8.

## **БИОИНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ПОИСКА МИКРО РНК ВОКРУГ ГЕНОВ GH1, GHRH И IGF1 У МЛЕКОПИТАЮЩИХ С РАЗНЫМ ВЕСОМ**

**Bioinformatic analysis of the search around the micro RNA genes GH1, GHRH and IGF1 in mammals with different weight**

***Шиманская Е.И., Козлова М.Ю., Реброва Г.Н., Шкурят Т.П.***

Южный федеральный университет

Вес тела млекопитающего может отличаться в 75 миллионов раз, например, вес самого маленького млекопитающего Bumblebee bat 2 г, в то время как самый крупный, Balaenoptera Musculus, весит 150 тонн. Это сложная регуляция зависит от нескольких гормонов.

Мы провели биоинформационный анализ локализации микроРНК в интронах и межгенном пространстве генов- GH1, GHRH и IGF1 Loxodonta Africana (4800kg), Bos Taurus (750кг), Sus scrofa (170 кг), G. gorilla (150кг), Giant panda (115кг), Pongo abelii (87кг), Ovis aries (80кг), Homo sapiens (62кг), Pan troglodytes (45кг), Canis lupus (40кг), Macaca mulatta (8,2 кг), Oryctolagus cuniculus (1, 8кг), Erinaceus europeaus (0,75kg), Cavia porcellus (0,7kg), Rattus norvegicus (0,3 кг) и Mus Musculus (0,02кг).

Результаты эксперимента показали значительную разницу в количестве копий исследуемых микроРНК вокруг генов соматотропной оси у всех приматов. Наибольшее количество мотивов в цис-регуляторных областях и интронах исследуемых генов было обнаружено в miR-5096 и miR-1268 в группе приматов. Более 90 копий miR-566, 80 копий miR-1273, 80 копий miR-1268, 90 копий miR-5096 и 15 копий miR-3929 были локализованы в интронах и вокруг исследуемых генов у всех приматов; 10 копий mmi-miR-3470, 1 экземпляр eca-miR-1244; и 1 копия mmi-miR-3471-2 были найдены у грызунов. МикроРНК : miR-599, miR-1273, miR-1268, has-miR-5096, мы нашли только у приматов.

*Исследование было проведено при поддержке проекта Южного федерального университета 213.01-2015/003ВГ «Изучение ДНК-элементов некодирующих белок в структуре различных геномов».*



**Новые методы  
в биофизических исследованиях**

## БИОСЕНСОРЫ НА ОСНОВЕ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ В КРИОГЕЛЕ ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА ФОТОБАКТЕРИЙ PHOTOBACTERIUM PHOSPHOREUM

Алескерова Л.Э., Исмаилов А.Д.

Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, 119234, Москва, Ленинские горы 1, стр. 12 [leyla.07\\_86@mail.ru](mailto:leyla.07_86@mail.ru)

В настоящее время, когда загрязнение окружающей среды, как тяжёлыми металлами, так и токсинами органической природы является очень значительным, биомониторинг и другие методы её оценки становятся весьма актуальными. Фотобактерии широко используются в качестве биосенсоров в биомониторинге токсикантов. Биolumинесценция отражает реакцию клетки на химические соединения с цитотоксичным или генотоксичным действием. Уменьшение свечения бактерий служит количественным индикатором общей токсичности образца, активация свечения на рекомбинантных штаммах – критерием специфической токсичности.

Для биодетекции токсикантов фотобактерии применяются как в свободном, так и в иммобилизованном виде. Иммобилизация фотобактерий позволяет повысить стабильность биосенсора при хранении и длительность его применения. Для иммобилизации самых разных групп микроорганизмов эффективно используются криогели поливинилового спирта (ПВС). Известно, что психрофильные штаммы *Photobacterium phosphoreum* обладают наиболее интенсивной и длительной люминесцентной активностью в глубоинной культуре. Исходя из данного факта, в качестве тест-объекта для иммобилизации использовали психрофильные бактерии *P. phosphoreum* (шт. 331 КМ МГУ). Оптимизированы технологические операции иммобилизации в криогеле ПВС светящихся бактерий *P. phosphoreum*, с сохранением практически 100%-ного уровня эмиссионной активности клетки в течение длительного времени без введения дополнительного криопротектора и процедуры активации свечения. Сравнительный анализ сред показал высокую стабильность свечения клеток в криогеле, сформированном на основе среды культивирования. Четко определяемый уровень свечения клеток в препаратах криогеля при 4°C – до 6 недель. Можно полагать, что сбалансированная среда формирования геля выполняет функцию субстратов и протекторов. Наличие высокого пула эндогенных субстратов в ПВС-криогеле, может служить одним из объяснений наблюдаемой удельной активности иммобилизованных клеток и стабильности свечения при инкубации препаратов в простом солевом растворе. Диффузия клеток из матрикса криогеля в раствор практически отсутствует.

Структура матрикса ПВС-криогелей, формирующаяся в ходе процедуры замораживания и последующего оттаивания, оптимальна для стабилизации клеток. Физические характеристики сформированных ПВС-криогелей устойчивы в широком диапазоне положительных температур, что позволяет с высокой эффективностью реализовать работу биосенсора в разных температурных режимах. Физико-химические параметры матрикса незначительно зависят от солевого состава, который имеет принципиальное значение для морских светящихся бактерий. В силу своей практической прозрачности криогели ПВС идеальны для светящихся объектов. Важно, что криогель ПВС нетоксичен по отношению к включенным микроорганизмам. Наличие макропор (0.1–1 мкм) в ПВС-криогеле снимает диффузионные ограничения для газов, в первую очередь кислорода, субстратов и молекул токсинов самой различной химической природы. Биосенсор может эффективно применяться как в дискретном, так и непрерывном режимах биомониторинга.

**ИЗМЕРЕНИЕ И ОЩУЩЕНИЕ В ЧЕЛОВЕКО-КОМПЬЮТЕРНОЙ СРЕДЕ****Measurement and perception in man-computer complex****Антонец В.А.**

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

Институт прикладной физики РАН, 603950, г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46

Тел.: +7(831)436-56-60; e-mail: antonetsva@gmail.com

Доклад посвящен новому сугубо инструментальному методу измерения в реальном масштабе времени количественных параметров перцептивных систем человека, обеспечивающих восприятие чувственных стимулов различной модальности, а также некоторым результатам его применения в психофизиологии. Метод основан на том, что испытуемому ставится задача динамического управления виртуальными зрительными и слуховыми стимулами, генерируемые программно-аппаратным комплексом. Ориентируясь исключительно на свои ощущения, испытуемый должен так управлять комплексом, чтобы воспроизводить предъявляемые стимулы с требуемыми экспериментатором параметрами. Например, это может быть звук определенной высоты или громкости, угол наклона отрезка прямой линии, величина, форма или цвет фигуры, отображаемой на экране монитора, и другие виртуальные объекты. Очевидно, что погрешность выполнения задачи управления зависит от восприятия испытуемым предъявляемого стимула, а, следовательно, и характеризуют его точность. Однако погрешности управления легко могут быть измерены и, тем самым, восприятие может быть охарактеризовано количественно. На основе разработанного метода создан программно-аппаратный комплекс Handtracker. В нем управление параметрами предъявляемых зрительных и звуковых стимулов осуществляется при помощи бесконтактного манипулятора путем осмысленного изменения испытуемым расстояния между координатной плоскостью и манипулятором, удерживаемым рукой. Комплекс позволяет формировать практически неограниченное разнообразие зрительных слуховых стимулов и режимов их предъявления. По выбору экспериментатора испытуемый может также управлять параметрами зрительных и слуховых стимулов не только с помощью бесконтактного манипулятора (собственно handtracker), но и с помощью стрелок или назначенных клавиш клавиатуры, мыши, джойстика, touch-pad'a. Кроме изучения восприятия отдельных зрительных и слуховых стимулов комплекс позволяет изучать межмодальное взаимодействие, поскольку звуковой и зрительный стимулы можно предъявлять одновременно, то испытуемый одной и той же манипуляцией управлять ими обоими. Поэтому можно сопоставлять ошибки управления при восприятии звука и изображения совместно и по отдельности. Комплекс предусматривает возможность независимого управления сразу несколькими (до восьми) параметрами звуковых и зрительных стимулов. Поэтому управление различными параметрами стимулов или различными комбинациями параметров стимулов может быть поручено двум или несколькими испытуемым, что позволит сопоставлять качество их восприятия и изучать их коллективное поведение при решении задач управления стимулами. Это означает, что разработанный комплекс, являющийся моторным чувственным человеко-машинным интерфейсом, решает и проблему создания человеко-человеческого чувственного интерфейса («homo – homini» perception interface) и согласования субъективных чувственных образов. В докладе также рассматривается перспектива реализации метода на мобильной платформе. Благодаря широкому распространению смартфонов, это создало бы технические предпосылки для когнитивных эпидемиологических исследований, привязанных к географическим регионам, странам, социальным, профессиональным и иным, в том числе и наперед неизвестным признакам, формирующим популяции.

*Работа поддержана грантами РФФИ №№ 97-06-80286-а, 00-06-80141-а, 05-08-33526-а, 08-07-99037-р\_офи, 13-04-12063 офи\_м.*

## **ПРИМЕНЕНИЕ ТЕХНОЛОГИИ МИКРОФЛЮИДИКИ DOLOMITE В БИОЛОГИИ. ИНКАПСУЛЯЦИЯ.**

***Бибов М. Ю., Бриттал Д.И.***

ООО «Диаэм», 127299, Москва, а/я 100

тел./факс: +7 (495) 745-0508, [info@dia-m.ru](mailto:info@dia-m.ru), [db@dia-m.ru](mailto:db@dia-m.ru)

**Микрофлюидика Dolomite** — технология, позволяющая работать с очень малыми объемами жидкостей, газов, с кристаллическими и полимерными частицами, клетками животного, растительного и бактериального происхождения, пузырьками и каплями с возможностью наблюдать за ними, манипулировать ими и контролировать процессы, протекающие с ними.

Это дает возможность проводить «традиционные» исследования в миниатюрном формате, а также проводить исследования, которые ранее были невозможны.

Отдельные клетки, молекулы ДНК или РНК могут быть инкапсулированы в отдельные капли, в которые при желании можно добавлять реактивы, такие как лизирующий буфер или смесь реактивов для ПЦР в реальном времени, так чтобы каждая капля служила микрореактором. Таким образом можно анализировать большое количество индивидуальных клеток в популяции, редкие клетки, проводить высокопроизводительную сортировку при работе с библиотеками или анализировать отдельные клетки.

### **Выделение нативных антител или анализ антигенного профиля Т-клеточных рецепторов из образцов крови.**

Нативно спаренное антитело или связывающие участки эпитопа Т-клеточного рецептора могут быть выделены из образцов посредством заключения отдельных клеток в отдельные капли совместно с реагентами для реал-тайм ПЦР; ампликоны из отдельных клеток могут быть штрих-кодированы или связаны путем лигирования, а также посредством ПЦР с перекрывающимися праймерами.

### **Создание библиотек для флуоресцентной сортировки.**

Клетки или библиотеки экспрессии можно сортировать путем изоляции отдельных клеток или клонов вместе с реакционной смесью в маленьких каплях эмульсии воды в масле, которые можно подавать в сортер.

### **Высокопроизводительное секвенирование РНК, определение характера экспрессии.**

- кДНК каждой клетки в популяции можно пометить уникальным образом путем заключения каждой клетки в каплю с реакционной смесью для ПЦР и штрих-кодированными гранулами.

- Библиотеки можно в конечном итоге амплифицировать в эмульсии, каждая капля которой содержит 1 молекулу-матрицу.

### **Инкапсуляция клеток в гелевые шарики для клеточной терапии.**

Чипы для получения капель позволяют инкапсулировать клетки в гелевые шарики, защищающие пересаживаемые клетки от иммунной системы хозяина, при этом не препятствуя диффузии питательных веществ.

**Dolomite предлагает широкий ассортимент продукции для получения микрокапель жидкости, которая обладает рядом преимуществ:**

Высокая монодисперсность.

Легкость масштабирования.

Простота применения.

**ТРИТИЕВАЯ ПЛАНИГРАФИЯ: ПОДХОДЫ И РЕЗУЛЬТАТЫ****Tritium planigraphy: approaches and results****Е. Н. Богачева, А. А. Долгов, А.В. Шишков**

Институт химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук, 119991, Москва, Косыгина, 4

Тел.: +7(495)939-72-14; факс: +7(499)135-35-45; e-mail: ben@chph.ras.ru

Метод тритиевой планиграфии (ТП) относится к методам изучения пространственной структуры биологических макромолекул. В отличие от других методов у ТП нет ограничений по молекулярной массе объекта, он позволяет исследовать как твердые вещества, так и растворы даже при низких концентрациях. Разработан комплексный подход к исследованию пространственной структуры белков, основанный на совместном использовании данных ТП и пакета программ для интерпретации опытных данных и предсказания структуры белков.

Суть метода ТП состоит в том, что поверхность исследуемого вещества облучается потоком горячих атомов трития со специально подобранными характеристиками. Малые размеры атома трития (0,09 нм), используемого в качестве нанозонда, и его радиоактивность обеспечивают высокую чувствительность метода и позволяют обнаружить участки, локализованные в поверхностном слое макромолекулы. Затем проводится разделение на фрагменты (вплоть до отдельных аминокислотных остатков) молекул опытного образца и определяется распределение радиоактивности в них, что и является целью опыта. Дальнейшая обработка этих данных дает информацию о стерической доступности компонентов системы (макромолекулы в составе комплекса, аминокислотных остатков и даже отдельных атомных групп в макромолекуле) [1,2]. Несмотря на поверхностный характер процесса (третий проникает на глубину порядка 0.3-0.5 нм), в силу рельефности поверхности удастся получить информацию примерно о 2/3 входящих в состав аминокислотных остатков.

Методом ТП исследована структура белка М1 вируса гриппа А/Puerto Rico/8/34 (PR8, подтип H1N1) в растворе при кислом рН и в составе вириона. Предложена гипотетическая модель целого белка, включая С-концевой домен [3]. Основное различие структур белка в растворе и в кристаллическом состоянии наблюдается в области контакта N- и М-доменов, которая в кристаллическом состоянии упакована более плотно. Места максимального включения метки практически совпадают с неструктурированными областями в белке, предсказанными с помощью биоинформатического анализа. Эти области сконцентрированы в С-домене и в петлевых областях между М-, N- и С-доменами. Данные подтверждены с помощью аналитического центрифугирования и динамического светорассеяния. Обнаружены аномальные гидродинамические размеры и низкая структурированность М1-белка в растворе. Полифункциональность белка в клетке, по-видимому, связана с его пластичной третичной структурой, которая обеспечивает за счет неструктурированных областей контакт с различными молекулами-партнерами.

1. Баратова Л.А., Богачева Е.Н., Гольдманский В.И. и др. М., Наука, 1999. 175с.
2. Bogacheva E.N., Goldanskii V.I., Shishkov A.V., Galkin A.V., Baratova L.A. / Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1998. V.95 (6). P.2790–2794.
3. Shishkov A., Bogacheva E., Fedorova N., Ksenofontov A., Badun, Radyukhin V., Lukashina E., Serebryakova M., Dolgov E., Chulichkov A., Dobrov E., Baratova L. / FEBS J., 2011. V.278. P.4905–4916.

## ОЦЕНКА СТОИМОСТИ ПЛАЗМИД ТРАНСГЕННЫХ БАКТЕРИЙ ПРИ РАЗЛИЧНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭКСПРЕССИИ КЛОНИРОВАННЫХ ГЕНОВ

### The evaluation of the plasmid cost of transgenic bacteria with a variable expression of cloned genes

***Брилькова Е.В.1, Брильков А.В.2***

1 – Институт биофизики СО РАН, 660036, Красноярск, Академгородок

2 – Сибирский федеральный университет, 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79

Тел. +7(983) 153-85-65, факс +7(391) 243-34-00, e-mail: evmorbril@mail.ru

Оценка параметров плазмидсодержащих трансгенных бактерий (ГМО), развивающихся в контролируемых условиях является первой по важности задачей для прогнозирования интродукции в природные экосистемы. Начиная с известных работ R. Lenski начала 1990-х годов, для оценки стоимости признаков популяций микроорганизмов, в том числе и, детерминируемых плазмидными генами, наиболее часто применяется метод так называемых “трансферов” [1]. Этот метод предполагает изучение динамики численности двух популяций с признаком (плазмидой) и без него (без плазмиды) при многократных пересевах при периодическом культивировании. В настоящей работе показано, что не смотря на столь широкое распространение, метод “трансферов” принципиально не соответствует поставленной задаче.

Хемостат представляет собой тип модельной экосистемы, методически наиболее близкий природным условиям развития популяций. Стационарное состояние, получаемое в хемостате, позволяет изучать закономерности выживания генетически модифицированных микроорганизмов (ГМО) в заданных экологических условиях с учетом различных характеристик микробной популяции. К ним относятся: стабильность плазмид в клетках генно-инженерного штамма, стоимость поддержания плазмид (“plasmid cost”), эффективность экспрессии клонированных в плаزمиде генов. Адекватность методов оценки стоимости плазмид трансгенных микроорганизмов, развивающихся в лабораторных и природных условиях, остается до сих пор предметом острых дискуссий. В данном случае речь идет о неожиданной высокой выживаемости ГМО после их интродукции в природные экосистемы (см. работы Р. Ленски, Б. Левина, М. Трависано и др). Многочисленные экспериментальные данные по снижению популяционной стоимости вновь приобретенных признаков, генов, плазмид у трансгенных микроорганизмов не укладываются в классические представления биофизики взаимодействующих популяций, основанных на принципе конкурентного исключения. Таким образом, проблема существует и требует тщательного изучения.

1. Lenski, R. E. Quantifying fitness and gene stability in microorganisms. In : Assessing Ecological Risks of Biotechnology, L. R. Ginzburg, editor. – Butterworth-Heinemann, Boston. 1991. – Pp. 173-192.

## ПРИМЕНЕНИЕ И РАЗВИТИЕ МЕТОДА ДИНАМИЧЕСКОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ НАДМОЛЕКУЛЯРНЫХ СТРУКТУР В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ

**Use and further development of the dynamic light scattering method to investigate supramolecular structures in aqueous solutions of bacterial lipopolysaccharides**

**Бурьгин Г.Л., Сигида Е.Н., Федоненко Ю.П., Хлебцов Б.Н., Щеголев С.Ю.**

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, 410049, г. Саратов, просп. Энтузиастов, 13

e-mail: su@ibppm.sgu.ru

Структура, размер и количество надмолекулярных частиц (НМЧ) в водных системах токсинов бактерий играют большую роль при их взаимодействии с клетками партнеров и чрезвычайно важны для реализации разнообразных проявлений биологической активности данных веществ. Это справедливо, в том числе, для липополисахаридов (ЛПС) – основного класса молекул, формирующих наружную мембрану грамотрицательных бактерий [1, 2]. ЛПС, выделяемые клетками во внешнюю среду, могут активировать иммунную систему животных [2, 3], инициировать ответные реакции макропартнера в растительно-микробных ассоциациях [4] и т.д. Методом динамического рассеяния света (ДРС) нами исследована температурная зависимость интенсивности рассеяния, среднего размера и распределения по размерам НМЧ в водных растворах ЛПС (2 мг/мл) почвенных бактерий *Azospirillum*. Показано, что к данным системам может быть применено приближение оптически мягких релеевских частиц, в рамках которого получены соотношения, впервые обеспечивающие количественную сравнительную оценку массово-объемной концентрации биополимерного вещества во взвесах  $C$  и числовой концентрации НМЧ  $N$  с учетом их размера и степени полидисперсности:  $C_{отн} = 100(J/J_r)(d_{1r}/d_1)^3$ ;  $N_{отн} = 100(J/J_r)(d_{2r}/d_2)^6$ ; где  $J$  и  $J_r$  – интенсивность рассеянного под фиксированным углом света,  $d_1$ ,  $(d_2)$  и  $d_{1r}$ ,  $(d_{2r})$  – средний диаметр частиц, соответственно, для данного и контрольного ( $r$  – реперного) образца. С учетом результатов работы [5]  $d_1 = d_m[(v+4)(v+5)(v+6)]^{1/3}/v$ ,  $d_2 = d_m[(v+1)(v+2)(v+3)(v+4)(v+5)(v+6)]^{1/6}/v$ , где  $v = 6.15/(\Delta d/d_m)^2$  – параметр полидисперсности модельного гамма-распределения по размерам частиц [6],  $d_m$  и  $\Delta d$  – его мода и полуширина.

В диапазоне 0–60°C обнаружены интервалы температурной зависимости интенсивности рассеяния двух типов: а) с нерегулярным скачкообразным изменением интенсивности рассеяния и значительной гетерогенностью систем по размерам частиц и б) с существенно более сглаженным характером этой зависимости и резким уменьшением гетерогенности взвесей. В интервалах второго типа, чье положение зависело от штаммовой принадлежности препаратов ЛПС, оказалось возможным корректное определение параметров НМЧ (предположительно образовавшейся мицеллярной фазы) методом ДРС. Выявленные статистически достоверные различия размера и концентрации мицеллярных частиц объяснены их зависимостью от особенностей химического строения ЛПС для исследованных бактериальных штаммов.

В качестве независимой морфологической оценки препаратов использован метод атомно-силовой микроскопии, показавший хорошее согласие с результатами, полученными методом ДРС.

1. Brandenburg K., Mayer H. et al. / Eur. J. Biochem., 1993. Vol. 218. P. 555-563.
2. Alexander C. Rietschel E.T. / J. Endotoxin Res., 2001. Vol. 7. P. 167-202.
3. Raetz C.R., Whitfield C. / Annu. Rev. Biochem., 2002. Vol. 71. P. 635-700.
4. Evseeva N.V., Matora L.Y. et al. / Plant and Soil, 2011. Vol. 346. P. 181-188.
5. Shchyogolev S.Yu. / J. Biomed. Opt., 1999. Vol. 4. P. 490-503.
6. Шифрин К.С. / Труды ГГО, 1961. Т. 109, С. 168-178.

## **БИОФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ НА БАЗЕ СОВРЕМЕННОГО ТЕПЛОВИДЕНИЯ, РАЗРАБОТАННЫЕ В СИБИРСКОМ ОТДЕЛЕНИИ РАН**

### **Biophysical methods for humans and animals studies based on the use of up-to-date infrared thermography: Experience accumulated in the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences**

#### **Вайнер Б.Г.**

Институт физики полупроводников им. А.В.Ржанова СО РАН (ИФП СО РАН),  
Новосибирский государственный университет,  
630090, г. Новосибирск, пр-т Ак. Лаврентьева, 13  
Тел.: +7(383)3307781; e-mail: boris-stmt@yandex.ru

Интенсивное развитие биомедицинского тепловидения [1–3] в последние годы обусловлено появлением в этой сфере ИК камер нового поколения, построенных на базе матричных детекторов излучения, позволивших полностью снять проблему быстродействия и температурного разрешения, диктуемую физическими свойствами живых систем. Типичные сегодня частота кадров порядка 100 кадров/с и чувствительность сотые доли градуса позволяют реализовать, так называемый, принцип интервентной тепловизионной диагностики [4] и для ряда задач поставить обсуждаемый метод вне конкуренции перед другими биофизическими методами исследования. В СО РАН начало биомедицинских и биофизических работ с применением матричных тепловизоров было положено в середине 1990-х годов на экспериментальной базе ИФП СО РАН, где такие системы были созданы. К настоящему времени здесь по данной тематике накоплен значительный опыт, представленный, в частности, в нескольких научных монографиях [2, 5, 6 и др.]. В обзорном докладе приведены наиболее значимые результаты этих исследований. Центральным вопросом выступают новые методы, основанные на применении матричного тепловидения. При этом информация о свойствах биологических объектов извлекается, исключительно, на количественном уровне, что отличает современное тепловидение от типичного для доматричной эпохи. Изучались спонтанные и инициированные интервентным воздействием биофизические процессы в организме человека и малых лабораторных животных (белые крысы). При этом в реальном времени регистрировался не только температурный отклик, но синхронно с ним также вариабельность сердечного ритма, прецизионный профиль дыхания (оригинальным тепловизионным способом), уровень микроциркуляторной перфузии (методом ЛДФ), данные пульсоксиметрии и др. Интервентное воздействие осуществлялось в виде механической, термической (общей и локальной) или окклюзионной нагрузок на организм. Представлены новые подходы к обработке поверхностных тепловых полей, в частности, к количественному анализу гетерогенных термограмм поверхности тела [5]. Освещены новые направления практического применения результатов в биомедицинской сфере [7].

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

1. Vainer B.G. / Phys. Med. Biol., 2005. V.50. P.R63-R94.
2. Vainer B.G. / Ch. 3 in: Infrared Thermography Recent Advances and Future Trends / Ed. C.Meola / Bentham e-Books, 2012. P.61-84.
3. Иваницкий Г.Р., Хижняк Е.П., Деев А.А. / Биофизика, 2012. Т.57. С.130-139.
4. Vainer B.G. / Paper QIRT-2012-340 at <http://qirt.gel.ulaval.ca/dynamique/index.php?idD=60&Lang=0>
5. Вайнер Б.Г., Москалев А.С., Тарков М.С. / Гл. VI в кн.: Система кровообращения и артериальная гипертензия: биофизические и генетико-физиологические механизмы, математическое и компьютерное моделирование / Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2008. С.205-249.
6. Vainer B.G. / Ch. 5 in: Body temperature regulation / Ed. A.B.Cisneros, B.L.Goins / New York: Nova Science Publishers, Inc., 2009. P.123-153.
7. Vainer B.G., Markel A.L. / Med. Hypotheses, 2015. V.84. P.298-300.



**НОВЫЕ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА СЕМЯН****New luminescence methods for assesment of seed quality****Веселова Т.В.**

Кафедра биофизики биологического факультета Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова, 119991, Москва, Воробьевы горы, 1 стр. 12

*taveselova@yandex.ru*

После действия различных факторов у жизнедеятельных организмов происходят накопление повреждений, и практически сразу включаются специальные системы репарации. В отличие от них у семян, находящихся в покое, эти два процесса разделены во времени. В семенах происходит однонаправленное накопление повреждений, поскольку в отсутствие свободной воды репарация проводимая маловероятная. Только во время проращивания, при увлажнении семян включаются системы репарации. Одним из ранних признаков повреждения семян является появление при проращивании проростков с морфологическими дефектами. Но повреждения возникают в сухих семенах, поэтому был необходим аналитический метод, исключающий добавление воды. Метод оценки качества индивидуальных семян без их проращивания был разработан. Лот сухих семян пониженной всхожести может быть разделен на три фракции разного качества, сильные, слабые и мертвые в зависимости от уровня Фосфоресценции при Комнатной Температуре (ФКТ) индивидуальных семян. Из сильных семян высокого качества с низким уровнем ФКТ вырастают нормальные проростки. У слабых семян низкого качества, из которых вырастают проростки с морфологическими дефектами, уровень ФКТ приблизительно вдвое выше. У мертвых семян уровень ФКТ в три и более раз выше. При хранении семян уровень ФКТ можно измерять многократно для того, что следить за изменением качества семян после воздействия. Использовали различные семена: соя, горох, огурцы, пшеница, кукуруза, гречиха, рожь и другие. В качестве физических воздействий были выбраны: старение (естественное и ускоренное) повышенная температура, гамма излучение, электромагнитное и магнитная обработка, лазерное облучение, звук воздействие 20 и 100 гц, электрическое поле коронного разряда и др. Для исследования механизма действия различных факторов был разработан термохемилюминесцентный (ТХЛ) метод определения в порошке сухих семян присутствия продуктов перекисного окисления липидов (по уровню ТХЛ в области 50-110<sup>0</sup>С), а также продуктов неферментативного гидролиза олигосахаридов – глюкозы (по уровню ТХЛ в области 150<sup>0</sup>С). Было показано, что после воздействия различных физических факторов, например, гамма излучение в малой дозе, активируется неферментативный гидролиз, что вызывает переход сильных семян в слабые. Качество семян снижается, а содержание глюкозы в семени возрастает. Накопление глюкозы (в линейной форме) как продукта неферментативного гидролиза, активирует аминокарбонильную реакцию – гликозилирование. Количество глюкозы в семенах уменьшается. Семена как бы возвращаются во фракцию сильных семян. Эти семена называют «улучшенными». Из таких семян вырастают нормальные проростки. Однако «улучшенные» семена плохо хранятся и быстрее погибают. Временное «улучшение» семян это не восстановление повреждения, а дальнейшее повреждение, поскольку конечные продукты глубокого гликозилирования – это жестокие шивки, характерные для мертвых структур.

## **ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КАРДИОТОКСИНОВ С ЛИПИДНЫМИ МЕМБРАНАМИ: ИЗУЧЕНИЕ МЕТОДАМИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ**

### **Interaction of cardiotoxins with lipid membranes: atomistic Molecular Dynamics study**

**Волынский П.Е., Коншина А.Г., Дубовский П. В., Ефремов Р.Г.**

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Тел.: +7(495)727-44-98; факс: +7(495)330-50-33; e-mail: [peter@nmr.ru](mailto:peter@nmr.ru)

Цитолитические пептиды из яда насекомых и змей являются мембрано-активными [1]. Детали их взаимодействия с липидными бислоями важны для понимания взаимосвязей структура-биологическая активность. Привлекательным методом исследования этих взаимодействий является компьютерное моделирование методами Молекулярной Динамики (МД) в полноатомном приближении. Применение этих подходов для исследования коротких  $\alpha$ -спиральных пептидов позволило детально охарактеризовать их взаимодействие с мембраной. Встраивание таких пептидов в липидный бислой происходит в компьютерном эксперименте уже за несколько десятков наносекунд [2]. При увеличении размера полипептидов для качественного исследования их взаимодействия с мембраной время расчета необходимо значительно увеличивать. Это делает использование полноатомного приближения малоэффективным. Альтернативным подходом, позволяющим исследовать взаимодействие пептидов с мембранами в микросекундной временной шкале, является МД в крупнозернистом (coarse-grain) представлении. Несмотря на менее детальное описание взаимодействий белок-белок и белок-мембрана, использование этого подхода позволяет исследовать особенности взаимодействия пептидов с мембраной [3]. Комбинирование крупнозернистого и полноатомного представлений (full-atom) позволяет определить характер взаимодействия пептидов с мембранами (моды связывания на крупнозернистом участке траектории) и исследовать дополнительные детали встраивания пептидов в липидный бислой (на финальном участке траектории в полноатомном представлении).

Для иллюстрации этого подхода мы обратились к хорошо изученным цитолитическим пептидам из яда кобр, кардиотоксинам. Они состоят из ~60-ти аминокислотных остатков, характеризуются так называемой трех-петлевой укладкой полипептидной цепи, стабилизированной четырьмя дисульфидными связями [4]. Для одного из представителей этого семейства, кардиотоксина 2 (или цитотоксина 2) из яда среднеазиатской кобры *Naja oxiana* в МД-эксперименте в крупно-зернистом приближении мы показали, что за время около 3-5 микросекунд происходит встраивание этого токсина в липидный бислой пальмитоилолеоилфосфатидилолина (ПОФХ) оконечностями трех петель, независимо от стартовой ориентации белка по отношению к поверхности липидного бислоя. Далее мы осуществляли перевод крупнозернистого приближения в полноатомное представление и изучали в течение 20-30 наносекундной МД микроскопические детали встраивания токсина в мембрану. Опробованные вычислительные протоколы представляют интерес для исследования как кардиотоксинов, так и других классов мембрано-активных белков.

*Работа поддержана РФФИ (грант 13-04-02128).*

1. Dubovskii PV, Vassilevski AA, Kozlov SA, Feofanov AV, Grishin EV, Efremov RG (2015) Cell Mol Life Sci:DOI 10.1007/s00018-00015-02016-x
2. Polyansky AA, Chugunov AO, Vassilevski AA, Grishin EV, Efremov RG (2012) Curr Protein Pept Sci 13:644-657
3. Victor BL, Lousa D, Antunes JM, Soares CM (2015) J Chem Inf Model 55 (4):795-805
4. Konshina AG, Dubovskii PV, Efremov RG (2012) Curr Prot Pept Sci 13 (6):570-584

**ИССЛЕДОВАНИЕ Т-ЛИМФОЦИТОВ CD4 И CD8 МЕТОДОМ КОГЕРЕНТНОЙ ФАЗОВОЙ МИКРОСКОПИИ****Investigation of CD4 and CD8 T-lymphocytes with coherent phase microscopy**

***Вышенская Т.В.1, Болотова А.А.1, Звержховский В.Д.1, Кретушев А.В.1, Евдокимов А.А.1  
Василенко И.В.2***

1 –Московский государственный университет информационных технологий, радиотехники и электроники, 119454, Москва, пр-кт Вернадского

2 –ГБОУ Российская Медицинская Академия Последипломного Образования, 123836, Москва, ул. Баррикадная д.2/1

*e-mail: andreevna0494@yandex.ru*

Количественная оценка морфофункционального состояния живых клеток путем исследования их фазовых изображений – актуальная задача медицинской биофизики. Метод когерентной фазовой микроскопии основан на том, что различные органеллы клетки обладают различным показателем преломления, и это свойство делает их контрастными. Для повышения информативности изображений в рамках оптической сферической модели клетка была разделена на зоны («тонкая» цитоплазма, «плотная» цитоплазма, окружающая ядро, ядро, ядрышко) и введены интегральные функции площади и фазового объема, с помощью которых по фазовым изображениям определяются геометрические и фазовые параметры зон клетки, в том числе и показатели преломления. Предложенная методика позволяет определить оптические свойства структур клетки, связанных с ее функциональным состоянием и определить границы зон структурных элементов объекта, различающихся по локализации и показателю преломления.

Применение разработанной методики к фазовым изображениям лимфоцитов доноров показало, что среди лимфоцитов CD8 (киллеров) содержится значительное число клеток с увеличенным фазовым объемом цитоплазмы, не наблюдающимся у клеток CD4 (хелперов). Это явление было объяснено наличием в цитоплазме лимфоцитов CD8 перфориновых гранул, при помощи которых осуществляется цитотоксическое воздействие. Проведенное исследование показывает, что с помощью фазовой микроскопии и пакета программ для вычисления интегральных функций фазового портрета может быть оценен так называемый перфориновый потенциал лимфоцитов CD8.

*Работа была выполнена при поддержке гранта РФФМ13-02-00278*

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГАЛЛОВОЙ КИСЛОТЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ В КАЧЕСТВЕ СТАНДАРТНОГО ОБРАЗЦА

### Using gallic acid for evaluation antioxidant activity as a standard sample

*Гатина Ю.С.1, Будкевич Р.О.*

Северо-Кавказский федеральный университет, 355009, г. Ставрополь, ул. Пушкина, 1  
e-mail: [yuliana.gatina@yandex.ru](mailto:yuliana.gatina@yandex.ru)

В настоящее время проводится большое число исследовательских работ, направленных на изучение антиоксидантной активности пищевых продуктов и антиоксидантной системы организма человека. Актуальной проблемой является точность методик измерения активности антиоксидантов. Стандартными образцами для данных методов могут выступать кислоты, такие как аскорбиновая[1] или галловая, и флавонолы, такие как кверцетин и дегидрокверцетин. Аскорбиновая кислота, как известно, химически нестабильна и быстро окисляется под действием кислорода. Галловая кислота, в отличие от аскорбиновой, химически стабильна (хранимоспособность раствора – 40 суток) и меньше подвержена окислению.

Целью данной работы было сопоставить методы оценки антиоксидантной активности и повысить точность FRAP метода[1], используя в качестве стандартного образца более стабильное и чистое соединение – галловую кислоту.

Исследования проведены методом FRAP с использованием спектрофотометра Evolution 60PC и амперометрического детектирования на приборе ЦветЯуз[2]. Были построены калибровочные кривые на основе стандартов аскорбиновой и галловой кислот в одинаковых концентрациях.

Выявлено, что амперометрический метод позволил построить калибровочные кривые для галловой и аскорбиновой кислоты, характеризующиеся линейной зависимостью. Полученные линейные кривые не были достоверно подобны друг другу. Согласно методикам амперометрического и FRAP определения антиоксидантной активности, калибровочные графики линейны при концентрациях от 0,2 мг/л до 20 мг/л. Следовательно, для них работает геометрический закон подобия при сравнении концентраций стандартного образца. Так, отношение крайних калибровочных точек на графике должно иметь геометрическое подобие с соответствующими коэффициентами подобия. Данный коэффициент при сравнении крайних концентраций в 0,2 мг/л и 1 мг/л математически должен равняться 5; промежуточных точек в 0,2 мг/л, 0,5 мг/л и 0,5 мг/л, 1 мг/л – 2,5 и 2 соответственно. Приведенные отношения соблюдаются для амперометрического метода, со стандартами в виде аскорбиновой и галловой кислоты. Для FRAP метода полученные отношения соблюдаются только при использовании галловой кислоты (коэффициенты подобия: 4; 2,3 и 1,8 соответственно) в качестве стандарта. Аскорбиновая кислота, имея коэффициенты подобия значительно ниже требуемых (2,17; 1,63 и 1,33 соответственно), подходит для метода FRAP оценки антиоксидантной активности меньше, чем галловая кислота.

Таким образом, растворы галловой кислоты достаточно стабильны, дают более точные результаты, которые сходятся с математической моделью, и могут быть использованы в качестве стандартного образца для оценки антиоксидантной активности, как с использованием амперометрического метода, так и метода FRAP.

1. Цюпко Т.Г., Петракова И.С., и др. / Аналитика и контроль, 2011. Т. 15. № 3. С.287-298.
2. Яшин А.Я., Черноусова Н.И. / Пищевая промышленность, 2007. № 5. С.28-31.

**ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ КАРОТИНОИДОВ В КЛЕТКАХ НАЕМАТОСОЦКУС PUVIALIS ПРИ ПОМОЩИ СПЕКТРОСКОПИИ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ****Evaluation of carotenoids in *Haematococcus pluvialis* cells using Raman spectroscopy**

***Георгиевская А.М., Паршина Е.Ю., Юсипович А.И., Чуринов А.А., Соловченко А.Е., Семенова Л.Р., Селях И.О., Лобакова Е.С., Максимов Г.В.***

Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, 119991, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

Тел.: +7(495)939-19-66; факс: +7(495)939-11-15; e-mail: yavor@pisem.net

Были сняты спектры КР суспензии клеток одноклеточной водоросли *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae) штамма Т1 из средней полосы России (55°07'30.27"N, 37°52'18.03"E), находившихся на разных стадиях стресс-индуцированного каротиногенеза (0–4 сутки воздействия стрессовых условий).

Каротиноиды — природные полиизопреноидные соединения с длинной цепочкой сопряженных связей в молекуле, что позволяет успешно регистрировать устойчивые хорошо разрешенные спектры комбинационного рассеяния (КР) от этих молекул.

В клетках микроводорослей различные виды каротиноидов входят в состав хлоропластов, а также накапливаются в олеосомах, локализованных в цитоплазме. В благоприятных условиях преобладают первичные каротиноиды, такие как лютеин, β-каротин. В стрессовых условиях все клетки Т1 трансформируются в неподвижные гематоцисты красно-оранжевого цвета. При этом изменяется количественный и качественный состав каротиноидов. При культивировании в стрессовых условиях наблюдали индукцию вторичного каротиногенеза, сопровождающуюся накоплением высоких количеств каротиноидов, преимущественно астаксантина в форме моно- и диэфиров жирных кислот.

Максимальная вариация амплитуды сигнала КР обнаружена в полосах с максимумами 1530 см<sup>-1</sup> (ν<sub>1</sub>) и 1160 см<sup>-1</sup> (ν<sub>2</sub>). Найдена сильная (r > 0.9) корреляция между амплитудой сигнала КР в этих полосах КР и накоплением вторичных Кар при действии стрессовых условий.

Полученный результат позволяет на основании локально измеренных отношений амплитуд пиков ν<sub>1</sub>/ν<sub>2</sub> оценить субклеточную локализацию и локальный состав каротиноидов в различных участках клетках *Haematococcus pluvialis* in vivo.

## МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭКСЦЕНТРИСИТЕТА В ФАЗОВЫХ ИЗОБРАЖЕНИЯХ ЛИМФОЦИТОВ

*Владислав Звержховский, Марсель Анарбаев*

МГТУ МИРЭА

Фазовые изображения лимфоцитов содержат большую информацию об этом важном объекте медицинской диагностики. Недавно был предложен новый подход (Tuchinsky et al, 2013), позволяющий определить с помощью  $S, W$ -функций площади органелл клеток, их фазовый объем и рефрактерность (разность показателей преломления внешней среды и объекта), причем для значений показателей преломления вещества характеризует его структуру и физическое состояние. Проведенные нами теоретические исследования на простейшей двухкомпонентной модели (ядро и цитоплазма) с радиусами сфер и показателями преломления, взятыми из эксперимента ( $R_1 = 6$  мкм,  $\Delta n_1 = 0,034$ ,  $R_2 = 3$  мкм,  $\Delta n_2 = 0,01$ ) показали вклад эксцентриситета в фазовые параметры сферических клеток. Анализ двухкомпонентной модели из двух вложенных сфер с переменным расстоянием  $\epsilon$  (меняется в интервале  $0 - 3$  мкм) между их центрами показал, что точка излома  $W$  и  $S$  функций в отсутствие эксцентриситета определяется однозначно значением площади ядра. При смещении ядра относительно центра рефрактерность ядра уменьшается, так же эксцентриситет приводит к смещению точки излома и необходимости корректировки для определения точного значения площади внутренней сферы. В отсутствие эксцентриситета с помощью профиля рефрактерности можно определить величины показателей преломления вещества ядра и цитоплазмы. В профиле рефрактерности эксцентриситет приводит к размыванию границы зон ядра и цитоплазмы и появлению наклона в области  $R \geq 1,5$  мкм.

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АСИММЕТРИИ РАСПОЛОЖЕНИЯ ЯДРА В ЦИТОПЛАЗМЕ НА ФАЗОВЫЕ ИЗОБРАЖЕНИЯ ЛИМФОЦИТОВ****Investigation of nucleolus position asymmetry on phase images of lymphocytes****Звержховский В.Д.1, Анарбаев М.1, Вышенская Т.В.1, Лисина О.Ю.1,2, Евдокимов А.А.1**

1 –Московский государственный университет информационных технологий, радиотехники и электроники, 119454, Москва, пр-кт Вернадского, 78

2 – ФГБНУ НИИ общей патологии и патофизиологии, 125315, Москва, Балтийская ул., 8  
*e-mail: tvysh@yandex.ru*

Фазовые изображения лимфоцитов содержат большую информацию об этом важном объекте медицинской диагностики. Недавно был предложен новый подход [1] позволяющий определить с помощью функций фазового портрета площади органелл клеток, их фазовый объем и рефрактерность (разность показателей преломления внешней среды и объекта). Проведенные нами теоретические исследования на простейшей двухкомпонентной модели клетки (ядро и цитоплазма) с радиусами сфер и показателями преломления, взятыми из эксперимента на лимфоцитах ( $R_1 = 6$  мкм,  $\Delta n_1 = 0,034$ ,  $R_2 = 3$  мкм,  $\Delta n_2 = 0,01$ ) показали вклад расстояния  $\epsilon$  между центрами ядра и цитоплазмы в фазовые параметры сферических клеток. Расстояние  $\epsilon$ , меняющееся в интервале  $0 - 3$  мкм, приводит к смещению точки излома фазовых интегральных  $W$  и  $S$  функций [1] и необходимости корректировки для определения точного значения площади и фазового объема внутренней и внешней сфер. В отсутствие смещения ( $\epsilon=0$ ) с помощью профиля рефрактерности можно определить величины показателей преломления вещества ядра и цитоплазмы. В профиле рефрактерности асимметрия приводит к размыванию границы зон ядра и цитоплазмы и появлению наклона в области  $R \geq 1,5$  мкм. Таким образом установлено, что для лимфоцита среднее значение рефрактерности ядра будет определяться с наименьшей погрешностью в точке  $R=1.2$  мкм. Поскольку показатель преломления вещества характеризует его структуру и физическое состояние, профиль рефрактерности клетки может отражать процессы, проходящие в различных ее зонах.

*Работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 13-02-00278*

1. Tychinsky, A.V. Kretushev, T. V. Vyshenskaya, and A.A. Shtil, "Dissecting eukaryotic cells by coherent phase microscopy: a quantitative analysis of quiescent and activated T-lymphocytes," J. Biomed. Opt. 17(7), 076020 (2012).

## МЕТОДИКИ РЕГИСТРАЦИИ СМЕЩЕНИЙ И СИЛ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ СЕНСИБИЛИЗИРОВАННЫХ МИКРОСФЕР-ЗОНДОВ С КЛЕТКАМИ МЕТОДОМ ОПТИЧЕСКОГО ПИНЦЕТА В УСЛОВИЯХ «ТЕНИ» ИССЛЕДУЕМОГО ОБЪЕКТА

**Measurements techniques for registering displacements and interaction forces between sensitized probing beads and cells using optical tweezers under “object shadow” conditions**

***Конonenko В.Л.1,2, Бывалов А.А.3, Конышев И.В.3, Атауллаханов Ф.И.2,4***

1 – Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва,

2 – ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздрава России, 117997, Москва,

3 – Вятский государственный университет, 610000, Киров, ул. Московская, 36; Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН, 167982, Сыктывкар, ул. Первомайская, 50

4 – Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, 119991, Москва, ул. Косыгина, 4; Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Тел.: +7(499)137-83-47; факс: +7(499)137-41-01; e-mail: [vlkononenko@gmail.com](mailto:vlkononenko@gmail.com)

Методики «оптического пинцета» (ОП), использующие удержание диэлектрических микросфер лазерным лучом, сфокусированным объективом микроскопа, стали одним из наиболее эффективных инструментов биофизических исследований на клеточном, субклеточном и макромолекулярном уровнях. Быстрое расширение областей применения ОП обуславливает необходимость развития и самого метода, включая его основы. В настоящее время использование ОП для измерения смещений микрообъектов и сил их взаимодействия основано на удалённой калибровке чувствительности и жёсткости оптической ловушки по смещению удерживаемой микросферы. Калибровка производится удалённо от каких-либо объектов по изменению сигнала квадрантного фотодетектора (КФД), регистрирующего рассеиваемое микросферой излучение силового либо следящего лазера, в ходе её задаваемого смещения (сигнальным кривым КФД). Однако при изучении взаимодействий сенсibilизированных микросфер в ловушке с достаточно крупными объектами (например, эукариоцитами), создающими при сближении с ловушкой дополнительный, существенно больший сигнал КФД (эффект «тени» объекта) данные удалённой калибровки априорно не пригодны. Необходимы новые подходы к анализу сигнальных кривых (СК) КФД, служащих источником количественной информации в методе ОП, а также новые – локальные, *in situ* – методы калибровки ОП. В работе установлены основные закономерности формы СК КФД для контактных экспериментов между малым (~1 мкм) шариком в ловушке и крупным объектом (клетка, шар). На этой основе разработаны общие принципы регистрации и обработки данных в условиях «тени» исследуемого объекта, и две процедуры определения *in situ* смещения шарика в ловушке при взаимодействии с объектом. Измерения выполнены на серийном ОП JPK Nanotracker и на установке ОП, созданной в ЦТПФХФ РАН. В экспериментах с шариком диаметром 1 мкм в ловушке и объектами разной геометрии (шарики диаметром 1 и 4.6 мкм, нормальные и частично сферулированные эритроциты, макрофаги мыши линии J774) получен репрезентативный набор форм СК КФД для типичных контактных экспериментов. Разработаны две методики регистрации базисной линии сигнала КФД, необходимой для определения величины силы отрыва шарика от объекта по форме СК КФД в условиях «тени» объекта. Эти методики, как и предложенные процедуры *in situ* калибровки смещения шарика в ловушке, основаны на перемещении объекта относительно ловушки пьезостолмиком микроскопа. На основе измерения и теоретических оценок жёсткости ловушки в зависимости от расстояния до объекта выяснены условия применимости калибровки. На практике для определения силы отрыва шарика от объекта по его зарегистрированному смещению в ловушке достаточно удалённой калибровки жёсткости. Результаты обеспечивают получение надёжной количественной информации методом ОП в контактных экспериментах с крупными объектами.



**АТОМНО-СИЛОВАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ ОДИНОЧНЫХ ВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ****New Atomic force spectroscopy of single virus particles****Корнеев Д.В., Генералов В.М., Зайцев Б.Н.**

Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», 630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово

Тел.: +7(383)363-48-78; e-mail: korneev\_dv@vector.nsc.ru

Атомно-силовая микроскопия (АСМ) широко применяется в исследованиях различных биологических объектов [1], кроме визуализации, данный метод позволяет осуществлять механическую манипуляцию наноразмерными объектами и измерять локальные механические характеристики различных поверхностей в режиме атомно-силовой спектроскопии (АСС) [2].

Метод АСС позволил осуществить механическую манипуляцию одиночными вирусными частицами [3]. Первичный этап взаимодействия вирусной частицы и поверхности заражаемой клетки – адгезия вириона, до сих пор является относительно малоизученным для большинства вирусов. Манипуляция одиночными вирионами открывает новое направление в биофизике вирусов и позволяет *in situ* изучать механические аспекты проникновения вируса в живую клетку.

Для осуществления механической манипуляции необходимо зафиксировать одиночный вирион на острие зонда АСМ. Присутствие в вирусной суспензии большого количества примесей (свободный белок, фрагменты клеток и т.д.), полностью удалить которые не удается даже при высокой степени очистки, значительно осложняет данную задачу. Для достижения селективного осаждения вирионов на острие зонда был использован эффект движения диэлектрических частиц по направлению к электродам в неоднородном переменном электрическом поле – положительный диэлектрофорез (ДЭФ) [4]. Для вируса осповакцины и бактериофага AP22 были определены полосы частот, соответствующие положительному ДЭФ и получено воспроизводимое селективное осаждение вирионов на острие покрытых золотом АСМ-зондов марки CSG01/Au (НТ-МДТ, Россия). Результаты осаждения вирусных частиц контролировали методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) с использованием специально изготовленного держателя зондов.

Проведены эксперименты по манипуляции одиночными вирионами методом АСС: модификация геометрических параметров острия зонда, определение полосы частот положительного ДЭФ, осаждение вирионов и проведение силовых измерений в жидкостной ячейке. Исходные вирусные препараты, исходные и модифицированные АСМ-зонды были охарактеризованы методом ПЭМ. Разработан программный пакет ForceReader, предназначенный для визуализации и анализа силовых кривых. Силовые измерения проводились на приборах Solver P47Bio (НТ-МДТ, Россия) и Nanoscope V (Bruker, США).

1. Плескова С.Н. / Атомно-силовая микроскопия в биологических и медицинских исследованиях, Долгопрудный, 2011, 182 С.
2. Butt H.J., Cappella B., Kappl M. / Surf. Sci. Rep., 2005, 59, pp. 1–152.
3. D. Alsteens, E. Pesavento, et. al. / ACS Nano, 2009, 3(10), pp. 3063-3068.
4. Н.А. Pohl, Dielectrophoresis, Cambridge, 1978.
5. Корнеев Д.В. / Наука из первых рук, 2014, Т. 57-58, № 3-4, С. 182-187.

## ОПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГОЛОГРАФИЧЕСКИХ СЕНСОРОВ И КОЛОРИМЕТРИЧЕСКИЙ СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДЛИНЫ ВОЛНЫ УЗКОПОЛОСНОГО СВЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Optical properties of holographic sensors and a colorimetric method determination of wavelength of narrow-band light radiation

**Крайский А.В.1, Постников В.А.2, Султанов Т.Т.1, Миронова Т.Т.1, Крайский А.А.1, Шевченко М.А.1**

1 – Физический институт им.П.Н.Лебедева РАН, 119991, Москва, Ленинский просп., 53;

2 – ФГУ«НИИ физико-химической медицины», ФМБА России, 119991, Москва, Малая Пироговская, д.1а

Тел.: +7(499)783-36-65; факс: +7(499)135-78-80; e-mail: kraiski@sci.lebedev.ru

Голографические сенсоры (ГС) – позволяют создать новый класс диагностических устройств для определения компонентов растворов и биологических жидкостей [1-2]. Они могут применяться в различных областях: медицине, пищевой промышленности мониторинге окружающей среды, в частности, водных ресурсов и т.п. ГС – это голограммы Денисюка, в которых голографический слой изменяет свою толщину под действием искомого вещества и цвет. отраженного света изменяется. Голографические слои изготавливаются на основе галоидного серебра, при этом получают нанозерна серебра

Предметом настоящего доклада являются оптические особенности голографических сенсоров и связанный с ними колориметрический способ измерения длин волн отраженного излучения. Точность определения длины волны отраженного света определяется толщиной голографического слоя, типом записанного на голограмме объекта и геометрией измерительной схемы. При высокой дифракционной эффективности линия может значительно уширяться, понижая точность измерения [3]. Линия отражения может уширяться и при неоднородном набухании слоя по глубине. В некоторых процессах может происходить резкое увеличение дифракционной эффективности, что приводит к уширению линии [2]. Для моделирования работы сенсора и определения параметров ГС в приближении эффективной среды на основе формулы Максвелла-Гарнетта разработана компьютерная модель распространения излучения в слоистой периодической среде нормально к плоскости слоев.

Для ускорения методов анализа был разработан колориметрический способ измерения средней длины волны узкополосного излучения, что позволяет по цифровому изображению определять концентрацию глюкозы во всех точках ГС одновременно [4-5]. Точность определения длины волны от 0.5 нм до 3 нм в зависимости от длины волны.

Метод высоко эффективен при проведении одновременных многоточечных анализов. Была показана реализуемость пространственной многоканальности ГС посредством разработки конструкции многоячейстого ГС и расширения рабочего диапазона колориметрического метода определения длины волны узкополосного излучения с помощью бытового цифрового фотоаппарата практически на всю видимую область 455 – 625 нм. Сочетание колориметрического метода анализа с многоточечным сенсором открывает возможности проведения одновременно большого количества анализов: от нескольких десятков.

*Работа выполнена при поддержке Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» в 2007 – 2014 гг.*

1. Yetisen, A.K., Naydenova, I., da Cruz Vasconcellos, F., Blyth, J., and Lowe, C.R., Chem. Rev., 2014.
2. Крайский, А.В., Постников, В.А., Султанов, Т.Т., и Хамидулин, А.В., Квантовая электроника, 2010, т. 40, сс. 178-182.
3. Крайский, А.В., Квантовая электроника (в печати).
4. Крайский, А.В., Миронова, Т.В., и Султанов, Т.Т., Квантовая электроника, 2010, т. 40, №7, сс. 652-658.
5. Крайский, А.В., Миронова, Т.В., и Султанов, Т.Т., Квантовая электроника, 2012. т. 42, №12, сс. 1137-1139.

**ПРИМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ СВЕЯЩИХСЯ БАКТЕРИЙ В ТОКСИКОЛОГИИ****Applications of luminous bacteria enzymes in toxicology*****Кратасюк В.А 1,2, Есимбекова Е.Н.2,1***

1- Сибирский федеральный университет, 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79

2 – Институт биофизики СО РАН, 660036, Красноярск, Академгородок

*e-mail: valkrat@mail.ru*

Биолюминесцентная ферментативная платформенная технология на основе биферментной системы светящихся бактерий NADH:FMN-оксидоредуктаза + люцифераза (R + L) была предложена и разработана для экспрессного контроля загрязнения и контроля состояния водных экосистем [1]. Токсические характеристики среды (воды, почвы, воздуха, биологических жидкостей и т.п.) определяют по изменению параметров биолюминесценции в присутствии анализируемых образцов по сравнению с контролем. Предложен подход для биотехнологического конструирования новых биотестов для медицинской диагностики, оценки токсичности пищевых добавок и наноматериалов, а также способы увеличения чувствительности метода путем варьирования концентраций ферментов и субстратов, соотношения объемов компонентов реакции и образца, порядка добавления компонентов системы R + L и образца и другие. Использование различных механизмов сопряжения ферментативных реакций с биферментной системой R + L позволило разработать концепцию «ферментативная модель организма», представляющая собой комплексный молекулярный биотест для измерения отдельных функций живых организмов по активности ферментов-катализаторов этих функций: NADH:FMN-оксидоредуктазы, протеазы (трипсин и др.), НАД<sup>+</sup>-дегидрогеназы (лактатдегидрогеназа, алкогольдегидрогеназа, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа и др.), бутерилхолинэстераза и др. Показано, что ферментативные методы отличаются по чувствительности к различным классам токсических веществ и в комплексе адекватно позволяют обнаружить токсичность среды. Для обеспечения хорошей повторяемости биотестов было разработано семейство многокомпонентных иммобилизованных реагентов «Энзимолум» с составом компонентов, определяемым аналитической задачей. В состав входят ферменты (NADH:FMN-оксидоредуктаза, люцифераза и др.) и их субстраты (миристиновый альдегид, NADH), иммобилизованные в крахмальный или желатиновый гели. Реагент представляет собой сухой диск, содержащий необходимые реагенты для одного измерения, сохраняет высокую ферментативную активность в течение 3 лет и является биологическим модулем биолюминесцентного биосенсора. Реагент является центральной частью Портативной биолюминесцентной лаборатории, в которую также входит прибор-биолюминометр LumiShot, пробоотборники и методики. Анализ имеет ряд преимуществ по сравнению с традиционными биотестами, в том числе увеличивается точность и чувствительность анализа, сокращается время анализа, появляется возможность проведения анализа при высоком содержании органических веществ. Показаны перспективы применения биолюминесцентных ферментативных биотестов для экологического мониторинга, медицинской диагностики, определения влияния физической нагрузки на спортсменов, а также в новых практиках для ВУЗов и школ.

*Работа выполнена в рамках госзадания Министерства образования и науки РФ, проект 1762 и КГАУ «Красноярский краевой фонд поддержки научной и научно-технической деятельности».*

1. Esimbekova E., Kratasyuk V., Shimomura O. / Adv Biochem Eng Biotechnol. , 2014. V. 144. P. 67-109.

## НОВЫЕ АСПЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЖИВЫХ КЛЕТОК МЕТОДОМ ОПТИЧЕСКОЙ МИКРОТОМОГРАФИИ

### New aspects of live cells optical microtomography

*Левин Г.Г.1, Вишняков Г.Н.1, Минаев В.Л.1, Латушко М.И.1, Бочкарева С.С.1, Пикалов В.В.2, Максимов Г.В.3*

1 – Всероссийский научно-исследовательский институт оптико-физических измерений, 119361, Москва, ул. Озерная, 46

*e-mail:vniofi@vniofi.ru*

2 – Институт теоретической и прикладной механики им. С.А. Христиановича Сибирского отделения Российской академии наук, 630090, Новосибирск, ул. Институтская, 4/1

*e-mail:admin@itam.nsc.ru*

3 – Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, кафедра биофизики; 119991, Москва, ГСП-2, Ленинские горы

*e-mail:gmaximov@mail.ru*

Получение фазовых количественных изображений методом оптической микрофотографии представляет особый интерес для изучения клеточных процессов *in vivo*, без проведения дополнительных подготовительных процедур, фиксации и окрашивания исследуемого объекта. Данный метод позволяет получить трехмерную (3D) карту распределения показателя преломления в живой клетке, визуализируя ее отдельные структуры, содержание различных молекул, а также их динамику [1].

В основе созданного прототипа оптического микрофотографа лежит фазовый сдвиговый интерференционный микроскоп ( $\times 100$ ,  $NA=1.3$ ), оснащенный системой углового сканирования и работающий в проходящем низкокогерентном светодиодном излучении ( $\lambda=650$  нм) [2]. Полученные в интервале  $120^\circ$  интерферограммы обрабатываются методом фазовых шагов, далее реконструируются сдвиговые фазовые изображения, по которым восстанавливается 3D томограмма распределения показателя преломления внутри клетки. По 3D томограммам количественно оцениваются динамические процессы, например, клеточный рост, мембранные флуктуации, эффекты изменения осмотического давления. Распределение показателя преломления дает информацию об изменении во времени морфологических, а также биохимических параметров, т.к. плотность сухой массы неводных биомолекул, например, внутриклеточных белков. Так, путем интегрирования значений отдельных элементов томограммы вычисляется объем внутриклеточных органелл, по показателям преломления изоповерхности – их площади [3].

Данный метод также применяется для исследования состояния различных типов клеток, в частности, параметров, коррелирующих с патологическими состояниями. Так, характеристика клеток крови важна для понимания аутоиммунных, нейродегенеративных, инфекционных и раковых заболеваний [4].

1. Vishnyakov G.N., Levin G.G., Minaev V.L., Pickalov V.V., Likhachev A.V. / *Microscopy and Analysis (UK)*, 2004. Vol.18 (1). P. 15-17.
2. Levin G., Vishnyakov G., Minaev V. / Труды конференции «Focus on Microscopy 2015», 2015. P.388.
3. Levin G. G., Vishnyakov G. N., Minaev V. L. / Труды конференции «European Conferences on Biomedical Optics», 2015. P. 9536-15.
4. KyeoReh Lee, Kyoohyun Kim, Jaehwang Jung and etc. / *Sensors*, 2013. №13, P. 4170-4191

**СИСТЕМЫ NIKON ВЫСОКОГО И СВЕРХВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ: НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ФЛЮОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ ЖИВЫХ КЛЕТОК****Nikon High- and Super-Resolution microscope systems offer new approaches to live cell imaging*****Лемак М.С.1***

1 – ООО «Никон», 2-й Сыромятнический пер., д.1, Москва, Россия

Тел.: +7(915)173-43-40; e-mail: [maria.lemak@nikon.ru](mailto:maria.lemak@nikon.ru)

Компания Никон является известным производителем широкой линейки световых микроскопов, от простых «рабочих лошадок» для рутинных исследований до высокотехнологичных конфокальных микроскопов и систем визуализации, позволяющих получать изображения с нанометровым разрешением.

Недавно на базе исследовательского инвертированного микроскопа Nikon Eclipse Ti-E была создана уникальная модульная система Ti-LApp, которая позволяет объединять одном микроскопе несколько инструментов для разноплановых исследований. Так, например, в систему Ti-LApp входит новое техническое решение N-STORM 4.0, основанное на методе стохастической оптической реконструкции, и позволяющее исследовать клеточные структуры и динамические процессы в живых клетках в субдифракционном диапазоне.

Кроме того, система управляемого позиционированного освещения на основе технологии DMD (Digital Mirror Device), также входящая в состав системы Ti-LApp, позволяет одновременно освещать в поле зрения область любой заданной формы, площадью от долей микрона, и является незаменимым инструментом для исследований, связанных с фотостимуляцией, фотоактивацией и фотоконверсией флюоресцентных белков и красителей. Благодаря сочетанию данной системы с конфокальными микроскопами с вращающимся диском CrestOptics, компания Никон может предложить новую доступную высокоскоростную и высокоточную интегрированную систему для оптогенетических исследований на культурах клеток под единым управлением программного обеспечения NIS Elements.

Таким образом, объединение различных модулей в системе Ti-LApp открывает широкие возможности для применения методов корреляционной флюоресцентной микроскопии для реализации новых идей в исследовании взаимосвязей клеточных структур и функций.

## ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА MIRD-ФОРМАЛИЗМА ДЛЯ РАСЧЕТА ПОГЛОЩЕННЫХ ДОЗ, ФОРМИРУЕМЫХ ИНКОРПОРИРОВАННЫМИ РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИМИ ПРЕПАРАТАМИ, НА ПРИМЕРЕ $^{68}\text{Ga}$ -ЦИТРАТА

MIRD-formalism using for calculation of absorbed doses for radiopharmaceutical, e.g.  $^{68}\text{Ga}$ -citrate

*Лунёв А.С.1,2, Петросова К.А.2, Клементьева О.Е.2, Кодина Г.Е.2, Лысенко Н.П.1*

1 – ФГБОУ ВПО МГАВМиБ им. К.И. Скрябина, 109472, Москва, ул. Академика Скрябина, 23;

2 – ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, 123098, Москва, ул. Живописная, 46

Тел.: +7(963)775-61-23; e-mail: 15h33@rambler.ru

**Введение.** Применение радиофармпрепаратов (РФП) сопряжено с риском развития ряда осложнений, напрямую связанных с ионизирующим излучением радионуклида, поэтому в процессе разработки и доклинических испытаний новых РФП в первую очередь необходимы сведения о создаваемых ими поглощенных дозах (ПД) в патологическом очаге и критических органах. Это важно с точки зрения безопасности применения РФП. Однако получение информации о ПД практически или полностью невозможно техническим путем, поэтому преобладающими являются математические методы исследования: создание камерной модели *кинетики транспорта* радионуклида *in vivo* (определение скоростей выведения РФП из камер) с учетом *переноса ионизирующего излучения* и его *взаимодействия* с органами (метод Монте-Карло). Такие расчеты позволяют корректно интерпретировать, а также персонализировать вопрос безопасности применения того или иного РФП, учитывая индивидуальные особенности живого организма.

Метод расчета ПД является весьма рутинным, поэтому максимальная доступность и интуитивное понимание данного метода для специалистов всего мира явилось главной задачей для Комитета по дозиметрии (Committee Medical Internal Radiation Dose, MIRD) в разработке компьютерного пакета OLINDA/EXM (Organ Level Internal Dose Assessment Code) версии 1.0 для расчета ПД [1].

Одним из перспективных препаратов для ПЭТ-визуализации воспалений является  $^{68}\text{Ga}$ -цитрат – аналог  $^{67}\text{Ga}$ -цитрата, уже около сорока лет применяющегося в клинической практике ОФЭКТ-визуализации, но имеющего ряд недостатков, к которым относятся высокие ПД, поэтому поиск более выгодного изотопа привел специалистов к применению более выгодного по ядерно-физическим характеристикам изотопа галлия-68 [2].

**Материалы и методы:** Объектом исследования – РФП  $^{68}\text{Ga}$ -цитрат. Материалом исследования являлись самки нелинейных крыс (181,9±16,0 г) с моделью асептического воспаления мягких тканей. Количественные данные о биораспределении  $^{68}\text{Ga}$ -цитрата в организме крыс (прямая радиометрия проб органов и тканей) впоследствии были использованы для экстраполяции на организм стандартизированной модели человека и для расчета ПД в патологическом очаге, в органах, тканях и во всем организме с применением программы OLINDA/EXM 1.0.

**Результаты:** Наибольшие поглощенные дозы регистрировались в мочевом пузыре 18,4 мГр, почках 11,6 мГр и кишечнике 23,7 мГр (при вводимой диагностической активности 400 МБк), которые, согласно публикациям МКРЗ и НКДАР ООН, нельзя включить в оценку вреда облучения. Эффективная доза составила 14,9 мЗв. Удельная поглощенная доза, рассчитанная на смоделированный очаг воспаления массой 1-20 г, равна 4,9±4,3 мГр/МБк.

**Выводы:** Результаты дозиметрической оценки с помощью метода MIRD-формализма определяют высокий уровень радиационной безопасности исследуемого РФП ( $^{68}\text{Ga}$ -цитрат).

1. Stabin M.G. / Seminars in Nuclear Medicine, 2008. 38. No 5. P. 308-320.

2. Nanni C., Errani C., Boriani L. et al. / Journal of Nuclear Medicine, 2010. 51. P. 1932-1936.

## ОЦЕНКА ПАРАМЕТРОВ ВИНОДЕЛЬЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ НА ОСНОВЕ АКУСТИЧЕСКОЙ ИМПЕДАНСОМЕТРИИ

### Evaluation of wine production parameters based on the acoustic impedancemetry

***Марковский М.Г., Гугучкина Т.И., Яхно Т.А., Санин А.Г., Яхно В.Г.***

Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства (ФГБНУ СКЗНИИСив), 350901, Краснодар, ул. им. 40-летия Победы, 39  
Институт прикладной физики РАН, 603950, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46  
e-mail: 8612525877@mail.ru

Динамика механических свойств осадка, образующегося при высыхании капли многокомпонентной жидкости, определяемая при помощи акустической импедансометрии может применяться для оценки качества жидких продуктов разного состава и происхождения [1]. Данный метод был применен для исследования вин, произведенных по традиционной технологии из классических и экспериментальных сортов винограда в цехе микровиноделия ФГБНУ СКЗНИИСив. В качестве параметров были выбраны сорт винограда и основные физико-химические показатели винодельческой продукции: объемная доля этилового спирта, массовая концентрация сахаров, титруемых и летучих кислот, приведенного экстракта, диоксида серы, органических кислот, фенольных веществ и др. В ходе исследования моделировалась технологическая обработка виноматериала холодом и оценивалось изменение состава, происходящее при этом. Для обработки данных акустической импедансометрии применялись методики, разработанные авторами технологии (Приложение к [2]), также был изучен новый подход, основанный на применении классифицирующих и регрессионных нейросетевых моделей [3,4]. Показано, что даже в случае ограниченного набора образцов исходной продукции метод может быть полезен для классификации типа и сорта исходного винограда, не уступая в этом другим способам экспресс-анализа, например ближней инфракрасной спектроскопии. При наработке достаточного количества данных по эталонным виноматериалам точность классификации может быть значительно повышена. Необходимо учитывать влияние технологических обработок и учитывать наиболее значимые из них, например, обработку холодом, так как она приводит к значительному изменению ионного состава винопродукции. Ограниченно применимым может быть также построение корреляций с отдельными физико-химическими параметрами, но информативность такого подхода уступает традиционным лабораторным методам анализа винопродукции. В дальнейшем метод может быть использован для экспрессного выявления фальсифицированной винной продукции, как на основе «библиотек», так и в режиме реального времени при наличии эталона. К практическим достоинствам метода относятся его дешевизна, отсутствие необходимости пробоподготовки и простота использования.

1. Яхно Т.А., Яхно В.Г. / ЖТФ, 2009, 79, 8, 133-141.
2. Yakhno T.A., Sanin A.G., et al. / J. Biomedical Science and Engineering, 2015, 8, 1-23. <http://dx.doi.org/10.4236/jbise.2015.81001>
3. Hanke M., Halchenko Y. O., Sederberg P. B. et al. / Neuroinformatics, 2009, 7, 37-53.
4. Wehrens R., Buydens L.M.C. / J. Stat. Softw., 2007, 21, 5, 1-19.

## ПАССИВНАЯ АКУСТИЧЕСКАЯ ТЕРМОМЕТРИЯ ПРИ ФАЗОВОМ ПЕРЕХОДЕ ЛИПИДОВ

### Passive acoustic thermometry of lipids' phase transition

**Немченко О.Ю., Аносов А.А.**

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им.И.М. Сеченов Минздрава России, 119991, Москва, ул.Трубецкая, д.8, стр.2  
тел. 8 (499) 367-18-72; e-mail: olga.nemch@mail.ru

Известен ультразвуковой метод исследования водных суспензий липосом, при котором измеряются скорость звука и поглощение в суспензии в акустическом резонаторе. Метод, предлагаемый в данной работе, не предполагает использование внешнего источника. Исследуются собственные тепловые акустические шумы, существующие в любом объекте, в том числе и в водной суспензии липосом. Этот пассивный метод акустической термометрии основан на регистрации собственного теплового излучения исследуемого объекта [1]. Метод позволяет наблюдать увеличение интенсивности флуктуаций плотности при фазовом переходе липидов. Проведены модельные эксперименты с водной суспензией липосом из димиристоилфосфатидилхолина.

Если нагретую кювету с липосомами поместить в холодную среду с температурой ниже температуры фазового перехода, то в момент фазового перехода липида измеряемый тепловой акустический сигнал в такой системе имеет максимум. Если охлажденную кювету с липосомами поместить в нагретую выше температуры фазового перехода среду, то в момент фазового перехода липида измеряемый тепловой акустический сигнал в такой системе имеет минимум. Интенсивность теплового акустического излучения [2] пропорциональна не только температуре, но и поглощению в среде. При фазовом переходе регулярное изменение теплового акустического сигнала, связанное с изменением температуры, нарушается. Зарегистрированный эффект связан с увеличением поглощения ультразвука суспензией липосом в момент фазового перехода липидов. Вне фазового перехода, когда поглощение суспензии липосом слабое, зарегистрированный сигнал – это сигнал из среды, прошедший сквозь кювету. При фазовом переходе липидов, когда в кювете поглощение большое, вклад акустического излучения суспензии липосом из кюветы оказывается значительным. Отметим, что нетепловая акустическая эмиссия, которая наблюдается при фазовых переходах в жидких кристаллах, не была зарегистрирована.

Пассивная акустическая термометрия может оказаться полезной для контроля адресной доставки лекарств, помещенных в термочувствительную липосомальную оболочку. Для того, чтобы разрушить целостность липосомальной мембраны, можно использовать локальный нагрев пораженной ткани до температуры фазового перехода липидов в липосомах, повышая выход лекарственного средства. Контролировать глубинную температуру при локальном нагреве тканей организма можно с помощью акустотермометрии.

*Работа поддержана РФФИ (грант 13-02-00239).*

1. Anosov A.A., Barabanenkov Yu.N., Kazanskij A.S., Less Yu.A., Sharakshane A.S. Thermal acoustic radiation from multilamellar vesicles in lipid phase transition // Chem. Phys. Lipids. 2008. 153. 81-84.
2. Passechnick, V.I. Verification of the Physical Basis of Acoustothermography. Ultrasonics 1994. V.32. №4. P. 293-299.



**СЫВОРОТОЧНЫЕ АЛЬБУМИНЫ РАЗЛИЧНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ПОЗВОНОЧНЫХ: ИЗУЧЕНИЕ С ПОМОЩЬЮ СПЕКТРАЛЬНО-ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ЗОНДОВ****Serum albumins of different vertebrates: a study using spectral-fluorescent probes****Панова И.Г.1, Татиколов А.С.2**

1 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук, 119334, г. Москва, ул. Вавилова, 26

2 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, 119334, г. Москва, ул. Косыгина, 4

Тел.: +7(499)135-55-07; факс: +7(499)135-80-12; e-mail: pinag@mail.ru

Сывороточный альбумин – главный компонент плазмы крови позвоночных – является предметом большого числа биохимических и биофизических исследований. Важность альбумина для живых организмов определяется его способностью создавать онкотическое давление крови, транспортными и антиоксидантными свойствами. Поиск новых возможностей для исследования сывороточных альбуминов различных представителей позвоночных животных и человека является важной задачей для научно-исследовательских и диагностических целей. Для исследования сывороточных альбуминов нами были разработаны спектрально-флуоресцентные зонды ДЭЦ на основе полиметинового (цианинового) красителя и СКК на основе скварилиевого красителя с сульфогруппами. Характерным свойством зонда ДЭЦ является способность специфически распознавать молекулы сывороточного альбумина человека. Образование комплекса красителя с альбумином вызывает появление длинноволновой полосы поглощения с максимумом ~612 нм, принадлежащей транс-мономеру красителя, обладающему интенсивной флуоресценцией (исходный краситель, находящийся в водном растворе в виде цис-димера, практически не флуоресцирует). Этот зонд оказался эффективным для исследования жидких сред организма человека, например, сыворотки крови и жидких сред глаза (стекловидного тела и жидкости передней камеры). В настоящей работе с применением красителя ДЭЦ было проведено исследование сывороточных альбуминов различных позвоночных животных и человека. Показано, что краситель ДЭЦ специфически взаимодействует с сывороточным альбумином человека. С альбуминами других представителей позвоночных животных взаимодействие красителя ДЭЦ слабее, и при этом не проявляется полоса поглощения связанной формы (транс-мономера), характерной для альбумина человека. В то время как с альбумином человека краситель ДЭЦ связывается только в виде транс-мономера, с альбуминами позвоночных животных он связывается главным образом в виде нефлуоресцирующих цис-мономера и цис-димера, а также образует агрегаты на молекулах альбуминов. В отличие от ДЭЦ, зонд СКК пригоден для исследования сывороточного альбумина у различных представителей позвоночных, который в равной степени (достаточно эффективно) взаимодействует со всеми исследованными альбуминами.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект № 13-03-00863.*

## ОТОБРАЖЕНИЕ ВЕГЕТАТИВНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ АКТИВНОСТИ ЧЕЛОВЕКА В ПОКАЗАТЕЛЯХ ВАРИАбельНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА

**Analysis of heart rate variability for representation of the autonomic nervous system for daily life activity of human**

***Полевая С.А.12, Некрасова М.М.1, Бахчина А.В.2, Ковальчук А.В.3, Парин С.Б.12***

1 – Нижегородская государственная медицинская академия, 603950, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

2 – Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского, 603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

3 – Институт прикладной физики РАН, 603950, г. Нижний Новгород. ГСП – 120, ул. Ульянова, 46  
Тел.: +7(831)439-04-52; e-mail: *polevaia@ipfran.ru*

Оптимизация режимов энергообеспечения моторной и когнитивной активности человека в соответствии с целевой функцией проявляется в неравномерности временного ряда интервалов между сердечными циклами [1]. Актуально развитие методов динамического спектрального анализа для поиска паттернов variability сердечного ритма, отображающих вегетативные компоненты функциональных систем, обеспечивающих целенаправленное поведение человека в контекстах естественной деятельности. В работе рассматриваются алгоритм очистки спектра CLEAN, метод регуляризации временной сетки пилообразным сигналом и другие способы спектрального анализа, успешно примененные для анализа неравномерных временных рядов в астрономии [2]. Эти решения оказались эффективны для анализа сверхвысоко-частотных компонентов variability сердечного ритма (VHF 0,6-3 Гц) при исследовании вегетативного обеспечения активности человека в различных динамических контекстах. Представлены результаты анализа режимов вегетативного обеспечения по данным непрерывной телеметрии сердечного ритма для двух естественных контекстов: управление транспортным средством; подготовленная и неподготовленная диалоговая речь на английском языке студентов-лингвистов во время учебных занятий.

Проведенный анализ и эксперименты показывают, что структуры variability сердечного ритма имеют существенные различия в стационарных и динамических измерениях. При исследовании режимов вегетативного обеспечения активности человека в условиях естественной деятельности для увеличения временного разрешения наиболее эффективен анализ высокочастотных компонентов спектра variability сердечного ритма. Принципиально, что перед исследованием сверхвысокочастотной области спектра мощности в переходных состояниях необходимо проводить "очистку" спектра от помех, вызванных неравномерностью временного ряда. Анализ связи между variability сердечного ритма и событийным контекстом позволил выделить маркеры оптимальных и экстремальных состояний человека в процессе естественной деятельности.

*Работа выполнена при частичном финансировании по гранту РФФИ № 14-06-00390\_a и гранту РГНФ № 15-06-10894\_a.*

1. Dehaene S., Changeux J.P. Experimental and theoretical approaches to conscious processing. / *Neuron*, 2011, V.70, p.200-227
2. Терещихин В.Ю. Анализ временных рядов в астрофизике. М.:Наука, 1992. 392 с.

**ОПТИМИЗАЦИЯ ВИДЕОАНАЛИЗА IN VIVO НА ПРИМЕРЕ ВНУТРЕННЕГО ОПТИЧЕСКОГО СИГНАЛА В РАЗВИВАЮЩЕЙСЯ СОМАТОСЕНСОРНОЙ КОРЕ КРЫСЕНКА****Optimization of videoanalysis in vivo based on intrinsic optical signal in the somatosensory cortex of neonatal rat****Синцов М.Ю. 1,4, Сучков Д.С. 1, Минлебаев М.Г. 1,2,3**

1 – НИЛ Нейробиологии, Казанский федеральный университет, 420008 г. Казань ул. Кремлевская, д.18

2 – Средиземноморский институт нейробиологии (INMED) 163 route de Luminy, 13273 Marseille, France

3 – Aix-Marseille University, Marseille, France, 58 Boulevard Charles Livon, 13284 Marseille, France

4 – Московский физико-технический институт (государственный университет), 141701, г. Долгопрудный, Институтский переулок, 9

Тел.: +7 (843) 233-78-24; e-mail: [mikhail.yu.sintsov@gmail.com](mailto:mikhail.yu.sintsov@gmail.com)

В настоящее время для неинвазивной детекции активного состояния нейрональной ткани используется ряд методов, включающих ЭЭГ, МЭГ, фМРТ, БИК-спектроскопию и оптическую микроскопию. Большинство из этих методов обладают существенными недостатками как высокая стоимость оборудования (МЭГ, фМРТ) или недостаточное пространственное разрешение (ЭЭГ, МЭГ, БИК-спектроскопия). Регистрация внутреннего оптического сигнала ткани (ВОС) лишена таких недостатков [1], что позволяет использовать эту методику для детекции групп активных нейронов на поверхности коры. Однако, низкая интенсивность полезного сигнала существенно ограничивала область применения ВОС взрослыми животными.

Нами предпринята попытка оптимизировать постановку эксперимента и анализа видеоряда микроскопии для достоверной детекции активного участка коры в условиях низкого соотношения сигнал-шум на примере ВОС при исследовании соматосенсорной коры новорожденных крысят. Для этого новорожденного крысёнка (p5-p21) с оголенным черепом помещали под излучение красных светодиодов (600-630нм) и регистрировали оптическое состояние баррел кортекса до и после стимуляции усов с помощью высокочувствительной CCD-камеры. Проверка достоверности полученных локализаций активной нейрональной ткани осуществлялась с помощью интракортикального введения внеклеточных электродов. В ходе анализа изображений использовались методы пространственной фильтрации медианным и гауссовым фильтрами, временной высокочастотной фильтрации, а также светокоррекции методом взвешенного вычитания базового сигнала. Детекцию активного участка коры осуществляли по анализу выбросов амплитуд компонент анализа главных компонент, полученных из временных профилей интенсивности каждого пикселя. В ходе исследования было показано: 1) значительное улучшение качества сигнала ВОС после обработки сигнала авторским программным обеспечением; 2) качественное и количественное соответствие сигнала ВОС и мощности отклика ЭЭГ; 3) количественное изменение характеристик ВОС (амплитуда, скорость нарастания и релаксации) с возрастом крысят.

Разработанная методика может быть также применена к анализу активности коры методом введения потенциал-чувствительных меток.

1. Grinvald A. et al. / Nature, 1986, v.324, p.361-364

## **ВНЕДРЕНИЕ КЛАСТЕРИЗАЦИИ НЕЙРОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ В СОМАТОСЕНСОРНОЙ КОРЕ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС**

### **Implementation of the clusterization of neuronal activity in the newborn rat's somatosensory cortex**

**Сучков Д.С.1, Синцов М.Ю.1,2, Минлебаев М.Г.1,3,4**

1 – Российско-французская ассоциированная лаборатория «Нейробиология развития» К(П)ФУ, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18

2 – Московский физико-технический институт (государственный университет), 141701, г. Долгопрудный, Институтский переулок, 9

3 – Aix-Marseille University, Marseille, France, 58 Boulevard Charles Livon, 13284 Marseille, France;

4 – Средиземноморский институт нейробиологии (INMED) 163 route de Luminy, 13273 Marseille, France

Современные методы исследования параметров популяционной активности нейронов позволяют сказать многое о принципах работы разных структур мозга. Мы можем судить о характере поведения целой популяции или нескольких типов популяций клеток исходя, например, из таких параметров как частота или мощность. Но для более детального исследования взаимодействия популяций клеток необходимо иметь информацию об активности отдельных клеток. Однако исследования одиночных клеток *in vivo* связаны с определенными техническими трудностями. Наиболее подходящая методика патч-клэмп в таких исследованиях имеет ряд ограничений, как, например, кратковременность записи и немногочисленность параллельно регистрируемых клеток *in vivo*. Но есть метод, основанный на внеклеточной регистрации с помощью нескольких близко расположенных (~25-50 мкм) электродов. На полученном локальном полевом потенциале (ЛПП) детектируются отдельные потенциалы действия (ПД) и их проекции на все электроды. Далее сформированный массив принципиальных компонент проекций для каждого ПД подвергается кластеризации по алгоритму максимизации условного математического ожидания [1]. Полученные кластеры отражают характерные формы ПД в исследуемой области, соответствующие определенным клеткам. Таким образом, можно определить функциональные составляющие активности и проследить взаимодействие клеток в данном локусе. Большая амплитуда ПД в клетках взрослых крыс и наличие постоянной активности нейронов обуславливает широкую применимость этого метода в различных приложениях. В данной работе впервые продемонстрировано, что данная методика применима также для животных на малых возрастах (первая неделя после рождения) несмотря на малые амплитуды ПД и низкую активность нейронов. В качестве модельной системы был использован участок соматосенсорной коры соответствующий проекциям вибрисс крысы – баррел кортекс. Выбор был обусловлен наличием четко сегрегированных структур (баррелов) имеющих деление на взаимосвязанные функциональные слои [2]. Полученные результаты показали наличие четких кластеров в слое L4 и L6 имеющих четкую локализацию к ЛПП вызванной активности.

1. Biernacki, C., Celeux, G., and Govaert, G. (2000), "Assessing a Mixture Model for Clustering With the Integrated Completed Likelihood," *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 22, 719–725.

2. Lübke J, Egger V, Sakmann B, Feldmeyer D (2000) Columnar organization of dendrites and axons of single and synaptically coupled excitatory spiny neurons in layer 4 of the rat barrel cortex. *The Journal of Neuroscience* 20:5300-5311.

**ПОЛИМЕТИНОВЫЕ КРАСИТЕЛИ КАК СПЕКТРАЛЬНО-ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ЗОНДЫ  
ДЛЯ БИОМАКРОМОЛЕКУЛ: НОВЫЕ ДАННЫЕ****Polymethine dyes as spectral-fluorescent probes for biomacromolecules: new data****Татиолов А.С.**

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4

Тел.: +7(495)939-71-71; факс: +7(499)135-71-01; e-mail: [tatikolov@mail.ru](mailto:tatikolov@mail.ru)

Полиметиновые (цианиновые) красители (ПК) широко используются в качестве спектрально-флуоресцентных зондов для биомакромолекул. Это обусловлено их фотофизическими и фотохимическими свойствами, которые сильно зависят от молекулярного окружения. Кроме того, ПК могут образовывать нековалентные комплексы с различными биомолекулами, что способствует их применению в качестве таких зондов. Множество данных о нековалентном взаимодействии ПК с биомакромолекулами и применении ПК в качестве биомолекулярных зондов собрано в недавнем обзоре [1]. В настоящем сообщении представлены новые данные по этой теме, появившиеся в литературе после публикации обзора. Соответствующие работы посвящены как изучению взаимодействия ПК с биомакромолекулами, так и разработке новых зондов для биомакромолекул. В качестве последних выступали главным образом ДНК (нуклеиновые кислоты, олигонуклеотиды) и белки (в основном сывороточные альбумины). Из наиболее интересных можно упомянуть работы, посвященные изучению с помощью квантово-химических расчетов хиральных агрегатов, которые образует ПК 3,3'-диэтилтиадикарбоцианин (DiSC2(5)) в малом желобе ДНК. Кроме того, было показано, что известный зонд-интеркалятор для ДНК YOYO-3 может образовывать нефлуоресцирующие Н-агрегаты на матрице ДНК, что снижает его эффективность. Ряд интересных работ посвящен изучению взаимодействия ПК с G-квадруплексами ДНК и разработке зондов для них. Следует отметить разработку ПК-зондов для амилоидных фибрилл. Имеются также работы по обнаружению ферментов с помощью ПК, специально сконструированных для этих целей. Изучалось также взаимодействие ряда ПК с сывороточными альбуминами. Некоторые ПК были предложены в качестве зондов для альбуминов. В нашей группе изучалось нековалентное взаимодействие ПК с гликозаминогликанами (ГА) – биомакромолекулами, которые ранее оставались вне сферы исследований при разработке зондов. Было показано, что ПК 3,3',9-триметилтиакарбоцианин (Cyap 2) может служить спектральным зондом для ряда ГА: гиалуроновой кислоты, хондроитин-сульфата, гепарина, гепаран-сульфата, поскольку эффективно взаимодействует с ними с образованием агрегатов, обладающих различными спектральными свойствами в зависимости от типа ГА. Проводилось также изучение взаимодействия ранее разработанного нами спектрально-флуоресцентного зонда 3,3'-ди-( $\gamma$ -сульфопропил)-4,5,4',5'-добензо-9-этилтиакарбоцианин-бетаина (ДЭЦ) с сывороточными альбуминами. Было показано, что высокая эффективность и селективность данного ПК по отношению к сывороточному альбумину человека (САЧ) обусловлена более высокой энергией взаимодействия с САЧ, чем с альбуминами других животных. Изучено также взаимодействие с альбуминами ряда оксакарбоцианиновых красителей. В группе продолжается разработка новых зондов для биомакромолекул.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект № 13-03-00863.*

1. Tatiolov A.S. / J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Reviews, 2012. V.13. P.55–90.

## ИЗМЕНЕНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК ПОСТУРАЛЬНОГО ТРЕМОРА РУКИ ПОСЛЕ НАЧАЛА ЕЁ ДВИЖЕНИЯ

### Characteristics shift of postural hand tremor after motion start

Тиманин Е.М.

Институт прикладной физики РАН, 603950, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46  
Тел.: +7(831)416-49-86; факс: +7(831)436-37-92; e-mail: [eugene@appl.sci-nnov.ru](mailto:eugene@appl.sci-nnov.ru)

Интерес к исследованию тремора связан с тем, что он может содержать информацию о состоянии центральной нервной системы, которая управляет мышечной активностью, являющейся непосредственной причиной тремора. Причины усиления тремора и механизмы формирования его характеристик в конкретных случаях продолжают изучаться как на физиологическом уровне, так и в математических моделях. В частности, известен эффект изменения характеристик постурального тремора при активации движения конечности. Эффект состоит в увеличении амплитуды тремора и в смещении максимума его спектра в сторону низких частот (где то с 8 до 6 Гц), что объясняется изменением упругих характеристик мышц при их укорочении [1]. Ниже приведены результаты исследования этого эффекта средствами аппаратно-программного комплекса “Механонейромиограф” [2], которые указывают на участие в его реализации системы регуляции мышечного тонуса.

При измерении тремора испытуемый вставал в позу Ромберга с вытянутой вперед левой рукой, на тыльную сторону кисти которой крепился акселерометр. Производилась запись сигнала постурального тремора в течение 15 секунд, и далее еще 15 секунд записывался сигнал кинетического тремора в ходе медленного сгибания руки в локтевом суставе и движения кисти в горизонтальной плоскости. Производилось 5 записей с визуальным контролем движения испытуемым и 5 пять записей без визуального контроля (глаза закрыты). Дополнительно проведены записи вязкоупругих характеристик дельтовидной мышцы левой руки методом вибрационной вискоэластометрии [2] в ходе выполнения тестов с открытыми глазами. Датчик вискоэластометра устанавливался в специальное крепление, зафиксированное на плече резиновым ремнем, и поджимался к мышце с усилием  $20 \pm 2$  г, как в условиях неподвижной руки, так и в условиях движения.

В экспериментах с открытыми глазами наблюдалось снижение медианной частоты спектра тремора с  $7.5 \pm 0.2$  Гц до  $6.4 \pm 0.2$  Гц, увеличение суммарной мощности спектра тремора с  $10.8 \pm 1.1$  (см/сек<sup>2</sup>)<sup>2</sup> до  $17.3 \pm 2.0$  (см/сек<sup>2</sup>)<sup>2</sup>, увеличение доли мощности в полосе 1 – 7 Гц с  $41.4 \pm 2.0$  % до  $63.7 \pm 2.8$  %, уменьшение модуля сдвиговой упругости дельтовидной мышцы с  $9.6 \pm 0.3$  кПа до  $8.6 \pm 0.2$  кПа. В экспериментах с закрытыми глазами наблюдались близкие изменения медианной частоты с  $7.7 \pm 0.2$  Гц до  $6.5 \pm 0.1$  Гц, слабые изменения суммарной мощности с  $15.2 \pm 1.1$  (см/сек<sup>2</sup>)<sup>2</sup> до  $14.9 \pm 1.2$  (см/сек<sup>2</sup>)<sup>2</sup>, более сильное увеличение низкочастотной доли мощности с  $31.6 \pm 2.7$  % до  $61.6 \pm 1.8$  %.

На сложную природу эффекта указывают его различия в состояниях с открытыми и с закрытыми глазами, а также изменения упругости дельтовидной мышцы, которые присутствуют при отсутствии её укорочения в ходе теста, но достаточно слабы, чтобы объяснить сдвиги частотных характеристик спектра тремора.

1. Lakie M., Vernooij C.A. et al / J Physiol. 2012. V. 590. P.2471-2483.

2. Тиманин Е.М., Густов А.В. и др. / Фундаментальные науки – медицине: Биофизические медицинские технологии: Монография: В 2-х т. – М.: МАКС Пресс, 2015. Т.2. С.194-215.

**ПЕРЕОСМЫСЛЕНИЕ ПАРАДИГМ В МЕТОДЕ СПИН-МЕТКИ****New Is it time for paradigm shift in spin label method?****Тимофеев В.П.1, Ткачев Я.В.1**

1 – Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32  
Тел.: +7(499)135-60-00; факс: +7(499)135-15-37; e-mail: tim.imb@gmail.com

Как известно, Макконнелл был первым, кто присоединил нитроксильный радикал к макромолекулам: белку БСА и полимеру – полилизину. В методе спин-метки интерпретация спектров ЭПР спин-меток, присоединенных к макромолекулам, проводилась и проводится по принципу устоявшихся парадигм. Таких парадигм накопилось предостаточно. Основой для понимания каждой парадигмы служит нам симуляция спектров ЭПР. Мы предлагаем переосмыслить эти парадигмы, и проанализировать возможность так называемого сдвига парадигмы (paradigm shift). Самое главное в нашем подходе при расшифровке спектров ЭПР спин-меченых макромолекул — это независимость одновременно происходящих двух стохастических процессов. Например, один процесс — это броуновское вращение глобулы белка, а второй процесс — переориентация нитроксила на боковой группе белка. Один процесс медленный и изотропный, другой — намного более быстрый и анизотропный. Разработана математическая модель, которая количественно описывает оба процесса при изменении температуры и вязкости среды в спин-меченом образце, и позволяет проводить симуляцию экспериментальных спектров ЭПР. На этой основе будут показаны ошибочность имеющихся парадигм. В первую очередь — неприменимость формулы Кивельсона к спектрам ЭПР спин-меченых биополимеров. Во-вторых, не происходит изменения компонент тензора СТС из-за влияния белкового окружения. В нашем подходе магнитные параметры изменяются из-за быстрого анизотропного движения нитроксила, которое приводит к частичному усреднению магнитных тензоров, введеному Макконнеллом для объяснения спектров ЭПР липидных меток в мембранах. В-третьих, он не учел медленное движение кластеров, захватывающих липидные зонды и необосновано предложил считать вращение радикала ТЕМПО изотропным как в водной среде, так и в липидной. Гриффит получил так называемые профили полярности и профили параметра упорядоченности липидов в мембранах с помощью липидных спин-меток. Мы показываем здесь, что оба названных профиля не существуют. Применяя спин-метки с разной длиной ножки, многие авторы использовали их как «линейки» (rulers). Этот феномен легко объясняется частичным усреднением тензоров. Фрид ввел несовпадение осей тензоров: диффузионного и магнитного (tilt). По нашему мнению, это лишь математический прием, который присутствует до сих пор во всех последующих программах Фрида и не несет реального физического смысла. Имеется еще ряд ошибочных представлений, которые следуют из того, что многие исследователи пытаются получить полноценную информацию из одного, записанного при комнатной температуре, спектра ЭПР, что невозможно. Необходимо получать набор спектров ЭПР, записанных при разных экспериментальных условиях. Это возродит внимание к интерпретации обычных ЭПР спектров спин-меченых образцов, и тем самым укрепит мощь метода спин-метки (1).

1. Yaroslav Tkachev and Vladimir Timofeev., Uniform EPR Spectra Analysis of Spin-Labeled Macromolecules by Temperature and Viscosity Dependences. Nitroxides – Theory, Experiment and Applications. Chapter 10. Ed. A.I. Kokorin. InTech, 2012.

## СПЕКТРАЛЬНЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СРОДСТВА АРИЛ-ЗАМЕЩЕННЫХ ПОРФИРИНОВ К БИОЛОГИЧЕСКИМ СТРУКТУРАМ

### The spectral technique for determination of aryl-porphyrins binding constants to biological structures

**Яковец И.В.1, Тихонов К.Д.1, Янковский И.В.1,2, Болотина Л.Н.2, Зорин В.П.1**

1 – Белорусский государственный университет, 220030, Минск, Беларусь, пр. Независимости, 4

2 – CNRS, CRAN, University of Lorraine, 55511, Vandœuvre-les-Nancy, France

Тел.: +375(29)151-23-50; e-mail: viprorok@mail.ru

Изучение фармакокинетики лекарственных средств в организме сопряжено с определением сродства препаратов к различным биологическим структурам (транспортным белкам, клеточным и тканевым структурам). Нерастворимость и агрегация лекарственного соединения в водной среде затрудняет определение сродства препарата к биологическим структурам прямыми методами анализа. Типичным примером таких соединений являются арил-замещенные порфирины, применяемые в диагностике и фотодинамической терапии опухолевых заболеваний. В данной работе рассмотрен метод количественного определения сродства ряда арил-замещенных порфиринов к основным белкам сыворотки крови, биологическим мембранам и другим структурам, который основан на анализе процессов равновесного распределения порфиринов между биологическими структурами и производными  $\beta$ -циклодекстрина.

В ходе работы был проведен анализ процессов комплексообразования арил-замещенных порфиринов (мезо-тетра(гидроксифенил)хлорина (мТГФХ), тетра(сульфофенил)порфирина и тетра(карбоксифенил)порфирина) с метил- $\beta$ -циклодекстрином. Установлены спектрально-флуоресцентные методы, позволяющие установить стехиометрию и рассчитать количественные параметры комплексообразования [1]. Согласно полученным данным, установлено, что образуются преимущественно комплексы со стехиометрией 1:2. Значения констант равновесного превышают  $10^{12} \text{ M}^{-2}$ .

Процессы связывания порфиринов с основными транспортными белками сыворотки крови человека (альбумин, липопротеины низкой и высокой плотности), а также с биологическими мембранами (липидные везикулы) были исследованы на основании анализа кривых титрования циклодекстрином.

Полученные значения констант ассоциации порфиринов с циклодекстринами были использованы для количественного определения коэффициентов распределения порфиринов в растворах белков и биологических мембран. В случае мТГФХ были получены следующие коэффициенты распределения: сывороточный альбумин человека –  $1,1 \times 10^2$ , липопротеины низкой плотности –  $3,0 \times 10^4$ , липопротеины высокой плотности –  $6,6 \times 10^4$ . Соотношения полученных данным методом коэффициентов распределения мТГФХ при связывании с белками плазмы хорошо согласуются с полученными ранее данными оценки относительного сродства данного порфирина к белкам плазмы методом гель-хроматографии [2].

1. Яковец И.В., Янковский И.В., Болотина Л.Н., Зорин В.П. // Вестник БГУ, Серия 1. 2015. № 2. 39-45.
2. Interaction of liposomal formulations of meta-tetra(hydroxyphenyl)chlorin (temoporfin) with serum proteins: protein binding and liposome destruction / V. Reshetov [et al.] // Photochem. Photobiol. 2012. Vol. 88. No. 5. P. 1256-1264.



**ИЗУЧЕНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ А2Е И ЕГО ОКИСЛЕННЫХ ФОРМ В ЛИПОФУСЦИНОВЫХ ГРАНУЛАХ ИЗ КЛЕТОК РЕТИНАЛЬНОГО ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ КАДАВЕРНЫХ ГЛАЗ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ВРЕМЯПРОЛЕТНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ВТОРИЧНЫХ ИОНОВ (TOF-SIMS)**

**The study of spatial distribution of A2E and its oxidized forms in lipofuscin granules from human retinal pigment epithelium cells by the method of time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry (TOF-SIMS)**

**Яковлева М.А.а, Гулин А.А.б,в, Бельских Ю.С.г, Арбуханова П.М.д, Надточенко В.А. б,в,е, Борзенко С.А.д, Фельдман Т.Б.а,г, Островский М.А.а,г**

*а – ИБХФ РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, д.4; e-mail: lina.invers@gmail.com*

*б – ИХФ РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, д.4; e-mail: aleksandr.gulin@phystech.edu*

*в – МГУ им. М.В. Ломоносова,*

*д – ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» имени С.Н. Федорова, 127486, Москва,*

*е – ИПХФ РАН, 142432, Московская обл., г. Черноголовка*

В настоящее время перспективным методом для изучения биологических объектов становится метод времяпролетной масс-спектрометрии вторичных ионов (TOF-SIMS), позволяющий проводить скрининг послойного распределения сигнала исследуемых объектов за счет комбинации TOF-SIMS с процедурой ионного травления. В данной работе этим методом был проведен анализ пространственного распределения флуорофоров в липофусциновых гранулах (ЛГ), выделенных из клеток ретинального пигментного эпителия (РПЭ) кадаверного глаза человека. ЛГ накапливаются в клетках РПЭ в процессе старения и особенно интенсивно при некоторых патологиях, например, при возрастной макулярной дегенерации (ВМД). ЛГ обладают ярко выраженной флуоресценцией. На этом основан современный неинвазивный метод диагностики глазных патологий – аутофлуоресценция глазного дна. *В свойстве ЛГ присутствует более 21 флуорофора, структура большей части которых еще не установлена. Наиболее изученным флуорофором является бис-ретинилиденэтаноламин (А2Е).* Ранее нами было показано, что с возрастом в составе ЛГ повышается относительное содержание продуктов фотоокисления и фотодеградации А2Е [1], которые обладают фото/токсичными свойствами и могут рассматриваться как фактор риска при старении сетчатки и при возникновении и развитии ВМД. Поэтому изучение распределения флуорофоров ЛГ внутри гранул и на их поверхности имеет важное значение как для понимания процесса липофусциногенеза, так и оптимизации метода аутофлуоресценции глазного дна. Целью данной работы было сравнительное изучение распределения А2Е и его окисленных форм в наружном (мембранном) и внутренних слоях ЛГ. ЛГ были выделены из РПЭ кадаверных глаз человека, которые были получены из Глазного тканевого банка ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России. Распределение флуорофоров в толще ЛГ было исследовано методом TOF-SIMS. Масс-спектры образцов снимали послойно путем последовательного «стравливания» внешних слоев ионами цезия (Cs<sup>+</sup>). В данном методе ионизация молекул образца происходит за счет его облучения импульсным сфокусированным пучком ионов висмута с энергией 30 кэВ. Изменения наблюдали, сравнивая изменение сигнала (количества ионов) для пиков с определенными  $m/z$  в составе общего масс-спектра ЛГ сначала на поверхности гранул, а затем на разной её глубине. Показано, что на поверхности гранул присутствуют липиды (молекулярные ионы жирных кислот,  $m/z$  184), при этом они почти полностью отсутствуют во внутренних слоях. В противоположность этому, продемонстрировано, что А2Е и продукты его окисления (молекулярные ионы,  $m/z$  592, 608, 624, соответственно) накапливаются в основном во внутренних слоях гранул, в то время как в поверхностном слое они присутствуют лишь в следовых количествах на фоне высокого содержания липидов. Внутри гранулы распределение А2Е и его окисленных форм, судя по предварительным данным, является равномерным.

1. Feldman T.B., Yakovleva M.A. et al. // Anal.Bioanal.Chem., 2015, V.407(4), pp.1075-1088.



# **Действие физико-химических факторов на биологические системы**

## МАГНИТНО-ПОЛЕВЫЕ И МАГНИТНО-ИЗОТОПНЫЕ ЭФФЕКТЫ 25MG НА КИНЕТИКУ РОСТА БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТОК E. COLI

### Magnetic-field and magnetic isotope effects of 25Mg on growth kinetics of bacteria E. coli

**Авдеева Е.И.1, Летута У.Г.1,2, Бердинский В.Л.1,2**

1 – Оренбургский государственный университет, 460018, Оренбург, пр. Победы 13

2 – Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, 460000 Оренбург, ул. Пионерская 11

Тел.: +7 (35-32) 37-25-08; e-mail: shevulyana@yandex.ru

Обнаружение магнитных изотопных эффектов в процессах ферментативного синтеза [1], показало, что биологические объекты чувствительны к наличию магнитного момента у ядра изотопа магния, кальция или цинка. Содержание магнитного изотопа магния в питательной среде повышает жизнеспособность микроорганизмов *Escherichia coli* по сравнению с немагнитными изотопами  $^{24,26}\text{Mg}$  [2]. В работе [3] показано, что включение внешнего постоянного магнитного поля диапазона 0-100 мТл изменяет показатели колониеобразующей способности *E. coli* в зависимости от магний-изотопного обогащения бактериальных клеток.

Цель данной работы – подробное исследование совместного влияния внешнего постоянного магнитного поля широкого диапазона 0-100 мТл и более узкого диапазона 0-20 мТл на кинетику роста бактерий *E. coli*, культивируемых на средах с содержанием магнитного и немагнитных изотопов магния. Получены ростовые кривые бактерий, обнаруживающие зависимость клеточного метаболизма от величины внешнего магнитного поля и типа изотопа магния (магнитный/немагнитный), содержащегося в питательной среде. Такая зависимость проявляется в различном времени адаптационной фазы роста, максимально достигаемой плотности, а также изменением величины эффекта в разных диапазонах для магнитного и немагнитных изотопов магния. Детально исследовано влияние слабых магнитных полей диапазона 0-20 мТл и изотопов магния на рост бактерий *E. coli*, а также на пул АТФ.

1. А.Л. Бучаченко, Успехи химии, 2014. Т. 83(1). С. 1.
2. У.Г. Шевченко, Е.И. Авдеева, В.Л. Бердинский, Химическая физика, 2012. Т. 31(7). С. 62 [U. G. Shevchenko, E. I. Avdeeva, V. L. Berdinsky, Russ. J. of Phys. Chem. B, 2012. Vol. 6(4). 531].
3. У. Г. Летута, Е. И. Авдеева, В. Л. Бердинский, Изв. АН. Сер. Хим., 2014. Т. 5. С. 1102.

**ВЛИЯНИЕ РЕДКОЗЕМЕЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ НА ЭНЕРГОБАЛАНС КОРНЕЙ ЯРОВОЙ И ОЗИМОЙ ФОРМ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ****The effect of rare earth elements on the energy balance in the roots of spring and winter wheat form*****Александров Е.А.1, Воробьев В.Н.1,2***

1 – Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008 Казань, ул. Кремлевская, 18.

2 – Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань,

Тел.: +7(843)231-90-35; e-mail: [VNVorobev@kpfu.ru](mailto:VNVorobev@kpfu.ru), [vorobyev@mail.knc.ru](mailto:vorobyev@mail.knc.ru)

В настоящее время влиянию редкоземельных элементов (РЗЭ) на метаболизм растений уделяется особое внимание. Их применение в качестве микроудобрений значительно повышает урожайность некоторых сельскохозяйственных культур, что стимулирует интерес к выяснению механизмов влияния РЗЭ на растительные клетки. Ожидалось, что при влиянии РЗЭ активизируется дыхание корней [1] проростков озимой и яровой форм пшеницы. Проведенные исследования не выявили достоверных изменений интенсивности дыхания корней обеих форм пшеницы, при проявлении качественных отличий в теплопродукции. Известно, что процесс тепловыделения коррелирует с дыханием [2, 3], а изменение соотношения теплопродукции и дыхания ( $q/455RO_2$ ) используют в качестве оценки эффективности метаболизма растений. Образуемая при дыхании энергию оценивали по поглотившемуся  $O_2$ . Для этого использовали выражение  $RO_2 = [(-455 \pm 15) \text{ kJ mol}^{-1}]$ , характеризующее изменение энтальпии на моль потребленного для окисления субстрата  $O_2$  [4, 5]. У контрольных растений яровой и озимой пшеницы в виде тепла рассеивалось 58% и 85% образуемой в процессе дыхания энергии. Под влиянием  $La(NO_3)_3$  тепловое рассеивание превышает 100% независимо от формы пшеницы. В варианте с  $Dy(NO_3)_3$  тепловыделение яровой пшеницы увеличивается на 31% от контроля, а озимой на 97%. Доля тепловой диссипации для яровой и озимой форм при действии  $Lu(NO_3)_3$  составила 29% и 65% соответственно. С позиций термодинамики диссипированная в виде тепла энергия считается потерянной для биологической системы безвозвратно. Полученные количественные данные о скорости дыхания и тепловыделения позволяют судить о запасании энергии в процессе жизнедеятельности растений. Количество запасенной энергии ( $\Delta H$ ) рассчитывали как  $455RO_2 - q$ . Для контрольных растений яровой пшеницы  $\Delta H$  составило 1.44 мВт. Наименьший показатель прироста  $\Delta H$  наблюдался в образцах, выращенных на  $Dy(NO_3)_3$  (0.74 мВт). Для  $Lu(NO_3)_3$ , вследствие наименьшей тепловой диссипации, прирост  $\Delta H$  составил 2.19 мВт. Под влиянием  $La(NO_3)_3$  количество выделившейся энергии в виде тепла превышало количество энергии, образовавшейся при окислении дыхательного субстрата на 0.24 мВт  $\Delta H$  в контрольном варианте озимой пшеницы составил 0.51 мВт. Прирост  $\Delta H$  в варианте с  $Lu(NO_3)_3$  увеличился по отношению к контролю на 250%. Отрицательные значения накопления энергии наблюдались в вариантах с  $La(NO_3)_3$  и  $Dy(NO_3)_3$  (-0.06 и -2.14 мВт соответственно). Чем больше тепловые потери, тем меньше  $\Delta H$ , которую растение может использовать для наращивания биомассы. Отрицательные значения  $\Delta H$  свидетельствуют об истощении адаптивных ресурсов растений, а, следовательно, невозможности поддержания функциональной целостности биомассы.

1. Xia, C. F. et al. / Chemosphere, 2013. V.11. P. 1577-1582.
2. Tan A. M. et al / Biochem. Biophys, 1998. V.37. P.91-94.
3. Levine C. et al. / Environ. Toxicol. Chem, 2000. V.19. P.1906-1910.
4. Hansen. L.D. et al. / Planta, 1994. V. 194. P. 77-85.
5. Criddle R.S. et al. / Planta, 1997. V. 201. P.441 - 445.

## ВЛИЯНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ФЛУОРЕСЦЕНЦИЮ РАЗРЯЖЕННОГО ФОТОПРОТЕИНА ОБЕЛИНА

### Effects of physical and chemical factors on the fluorescence discharged photoprotein obelin

Алиева Р.Р.1,2, Кудряшева Н.С. 1,2

1 – Сибирский Федеральный Университет, 660041, Красноярск, пр. Свободный 79

2 – Институт биофизики СО РАН, 660036, Красноярск, Академгородок 50, стр. 50

e-mail: [alieva\\_rosa@mail.ru](mailto:alieva_rosa@mail.ru)

Разряженный фотопротейн обелин (комплекс белка с целентерамидом, продукт биолюминесцентной реакции морского гидрополипа *Obelia longissima*) относится к группе флуоресцентных белков и находит применение в качестве флуоресцентного биомаркера для визуализации биомедицинских процессов. Разряженный обелин стабилен и нетоксичен; спектры его флуоресценции переменны и представляют собой суперпозицию нескольких компонентов (эммиттеров, соответствующих различным флуоресцентным формам целентерамида), вклад которых в суммарный спектр может изменяться под действием различных факторов. Цель исследования состоит в выявлении закономерности воздействия на фотолюминесценцию разряженного фотопротейна обелина ряда физико-химических факторов – энергии фотовозбуждения, хронического воздействия повышенной температуры (40°C) и экзогенных соединений (этилена, этиленгликоля, глицерина и ДМСО).

Установлено, что интенсивность и спектральный состав флуоресценции разряженного обелина зависят от длины волны возбуждения и деструктивных факторов (хронического воздействия повышенной температуры и экзогенных соединений). Обнаружено, что воздействие температуры и экзогенных соединений увеличивают вклад фиолетовой и уменьшают вклад сине-зеленой спектральных компонентов. Изменения спектров флуоресценции разряженного обелина связаны с уменьшением эффективности переноса протона в возбужденном состоянии целентерамида. Соотношение вкладов фиолетовой и сине-зеленой спектральных компонентов предложено использовать для количественной оценки степени деструкции флуоресцентного белка под влиянием хронического воздействия температуры и экзогенных соединений.

Выявлено, что высокоэнергетическое фотовозбуждение во вторую полосу поглощения ( $S_2^*$ ) разряженного обелина инициирует дополнительное излучение в ультрафиолетовой и красной областях спектра; вклад этого излучения увеличивался при хроническом воздействии повышенной температуры (40°C) и экзогенных соединений. «Красное» излучение было предположительно отнесено к излучению эксиплексов, образующихся при деструкции комплекса белка с целентерамидом

Проведено сравнение спектров флуоресценции разряженного обелина со спектрами хромофора данного комплекса – целентерамида в водно-спиртовом растворе; выявлены сходства и различия. Проведены квантово-химические исследования электронной структуры целентерамида.

Полученные результаты увеличивают потенциал применения разряженного обелина в биомедицинских исследованиях в качестве цветного биомаркера.

**ВЛИЯНИЕ ВНЕШНЕГО ГАЗОВОГО ДАВЛЕНИЯ НА ТРАНСМЕМБРАННЫЙ ВОДООБМЕН В КОРНЯХ РАСТЕНИЙ****The influence of external gas pressure on transmembrane water exchange of plants roots*****Анисимов А.В., Суслов М.А., Даутова Н.Р., Ионенко И.Ф.***

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, 420111, Казань,

ул. Лобачевского, 2/31

e-mail: [anisimov@kibb.knc.ru](mailto:anisimov@kibb.knc.ru)

Исследования влияния на растения давления физиологического диапазона до 5 МПа, интересны с точки зрения выяснения механизмов движущих сил и регуляции межклеточного переноса воды, передачи импульсами давления (акустическими волнами) сигнальной информации, влияния на метаболизм через модификацию эндомембранной системы клеток. В работе исследовалось влияние газового давления на водопроницаемость плазмалеммы клеток корня кукурузы. Релаксационным методом спинового эха ЯМР оценивались скорости трансмембранного водного обмена в сегментах корня при дегазации (вакуум до  $10^{-3}$ ) и под положительным (до 4 МПа) давлением воздуха, азота, аргона. Необходимое различие времен релаксации вне- и внутриклеточной воды создавалась допингом во внеклеточное пространство парамагнитного комплекса GdDTPA. При анализе данных принимались во внимание факторы изменения температуры и растворимости газов в жидкости при изменениях давления газа в изохорических условиях. Показано, что ускорение протонной релаксации под давлением связано с парамагнитным влиянием на релаксацию воды кислорода воздуха, проникающего из межклетников и растворяющегося при избыточном давлении в воде клеток (кислородный допинг). Данные с заменой воздуха на азот и аргон свидетельствуют, что собственно фактор давления может влиять на водопроницаемость плазмалеммы с результатом, зависящим от вида газа. Установлено, что изменения проницаемости не приводят к летальным изменениям метаболизма клеток, поскольку после возвращения к атмосферному давлению сегменты корня показывают рост.

## **ВНЕШНИЙ ЗВУК ВЛИЯЕТ НА ФОНЕТИКУ РЕЧИ**

### **External sound influents on speech phonetics**

***Антонец В.А.1,2, Харитонов А.А.1, Алешин К.Н.1, Чевачин А.А.1***

1 – Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

2 – Институт прикладной физики РАН, 603950, г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46

Тел.: +7(831)436-56-60; e-mail: E-mail: antonetsva@gmail.com, kharitonov\_alexey@inbox.ru

Мотивом для выполнения описываемого ниже исследования было случайное обнаружение авторами эффекта воздействия внешнего звука на фонетические характеристики речи. Обзор литературных источников показал, что изучение фонетики речи является весьма актуальным научным и прикладным занятием, общее представление о котором можно получить в последних обзорах и учебниках. Однако ни в этих обзорах и учебниках, ни в других работах не формулируется вопрос о влиянии внешнего звукового воздействия на фонетическую речь. В связи с этим исследование влияния внешнего звукового воздействия на фонетические характеристики речи, которому посвящена предлагаемая работа, представляется актуальным. В ходе работы было проведено 2 цикла экспериментов. В 1-ом цикле при проведении исследования на испытуемых (5 человек) надевались плотно прилегающие наушники и ему предлагалось в течение нескольких секунд произносить в микрофон звук «с». Сначала испытуемые должны были произносить звук «с» в обычной обстановке (звук в наушники не подавался), а затем при действии тонального звука с частотой из диапазона 2 – 5кГц при уровне звукового давления 60 (громкая речь) – 90 (крик) дБ. Оказалось, что при действии внешнего звука уровень спектральных составляющих произносимого испытуемым звука падает, вплоть до того, что у некоторых испытуемых он становится неразличимым на уровне шумов. Сторонний наблюдатель при этом воспринимает речь испытуемого как шепелявую. Во 2-ом цикле, цель которого состояла в оценке динамических особенностей обнаруженного эффекта, каждому из 15-ти испытуемых был предъявлен видеоряд, состоящий из перемежающихся 16 пустых слайдов и 16 слайдов с указанием буквы «с» (16), при каждом появлении которой он должен был произносить соответствующий звук до тех пор, пока слайд не сменится пустым (3 сек.) В определенные периоды времени слайды сопровождалась подаваемым в наушники тональным звуком с частотой 4,5 кГц и уровнем звукового давления 100 дБ. Последовательность слайдов включала в себя 4 серии: 1) отсутствие воздействия (3 слайда), 2) воздействие (5 слайдов), 3) воздействие (3 слайда), 4) отсутствие воздействия (5 слайдов). Первая серия позволяла оценить вариации фонетических характеристик в обычных условиях. Для развития общего утомления между сериями 2 и 3 был предусмотрено 10-секундное звуковое воздействие без предъявления букв. Серия 4 требовалась для оценки остаточного эффекта. Все 16 произнесенных звуков подвергались спектральному анализу. Использование технических возможностей пакета программ Statistica-10 позволило установить как естественные вариации спектральных характеристик в обычных условиях, их различие при действии внешнего звука и в фазе последействия. Полученные данные согласуются с гипотезой о том, что элементарный фонетический акт является результатом выполнения стереотипной программы управления моторными актами речевого аппарата. Это управление основано на восприятии слуховым анализатором речевого акустического результата. При этом воздействие внешнего сигнала может приводить к неверной интерпретации слышимого испытуемым звука собственного голоса, интерферирующего с внешним звуковым воздействием, что, в свою очередь, приводит к нарушению воспроизведения моторного стереотипа и далее к нарушению фонетического стереотипа.



**ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ВОДЫ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА****The intra-cellular water structure transformation under hydrogen peroxide action**

*Апашева Л.М., Лобанов А.В., Рубцова Н.А., Сергеев А.И., Комиссаров Г.Г.*

ФГБУ науки Институт химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук

Москва ул. Косыгина д. 4

*т. 8(495) 939 73 50, факс+7 (495) 938 24 84, E-mail: gkomiss@yandex.ru*

Нами исследованы влияние на развитие растений пероксида водорода (ПВ) [1], его роль в процессе фотосинтеза [2], свойство стимулировать образование крахмала (пат. РФ № 32253235), показана роль ПВ в повышении устойчивости растений в стрессовых ситуациях (дефицит влаги (пат. РФ № 2423813), заморозки (пат. РФ № 2264070), засоленность грунтов (пат. РФ № 2445759)). Тест-объектами были значимые с/х растения (рожь, пшеница, кукуруза, кабачки, подсолнухи, картофель и др.). Применяли предпосевную обработку семян, внекорневую обработку растений и внесение в среду культивирования ПВ. Растения выращивали в специальных камерах, где создавали стрессовые условия культивирования. Показано, что обработка растений ПВ повышает их устойчивость в стрессовых ситуациях на 60-80% по сравнению с контролем.

Одним из объяснений антистрессового действия ПВ может быть представление о том, что устойчивость растений зависит от соотношения в растительных клетках свободной и связанной с клеточными структурами воды.

Проведены эксперименты с использованием метода протонной спин-спиновой релаксации. Процессы спин-спиновой релаксации описываются временем релаксации  $T_2$ . Для фракции свободной воды времена релаксации составляют сотни мсек, а для воды, связанной с клеточными структурами, времена релаксации существенно меньше – десятки мсек. Во всех опытных образцах растений, обработанных водным раствором ПВ, наблюдали увеличение вклада в кривую продольной намагниченности быстрой компоненты  $T_2$ , что соответствует более связанному состоянию протонов воды.

В контрольных растениях содержание протонов воды, соответствующее более связанной воде, составляло 11-14% от общего количества протонов воды. В клетках растений, обработанных ПВ, вклад связанной воды увеличивался. Показано, что обработка растений водными растворами ПВ (семян или надземной части), а также выращивание растений на средах, содержащих ПВ, увеличивает долю в растительных клетках связанной воды и одновременно уменьшает содержание свободной воды.

Таким образом, под влиянием ПВ происходит перераспределение фракций воды в клетках – увеличивается содержание воды, связанной с клеточными структурами, что способствует повышению устойчивости растений к стрессам, поскольку ПВ обладает антистрессовыми свойствами.

1. Комиссаров Г.Г. / Фотосинтез: физико-химический подход. М, УРСС, 2003. 223 с.
2. Апашева Л.М., Комиссаров Г.Г. / Известия РАН, сер. биол., 1996. №5. С.621-623.

## ПРОСТРАНСТВЕННЫЕ ВОЛНЫ: СВОЙСТВА И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

### The spatial wave: the properties and the prospects of using

***Астафурова М.В.1, Астафуров В.И.2***

1 – ГБОУ Гимназия 1542, 119620 Москва, ул. Авиаторов, д. 8, корп. 2

2 – ФГУП НТЦ РХБГ ФМБА России, 123182 Москва, ул. Щукинская, 40

Тел.: +7(499)193-11-02; e-mail: vastafurov@mail.ru

Из пространственно-электромагнитной модели материального континуума с необходимостью следует вывод о существовании в Природе пространственного волнового излучения [1]. Физический вакуум рассматривается в данной модели как волновой векторный континуум, в котором пространственный вектор, имеющий три составляющих, характеризует пространство, а электромагнитный вектор, имеющий две составляющих, – электромагнитное свойство материи. Колебания электромагнитной компоненты структуры физического вакуума приводят к образованию электромагнитных волн, а колебания пространственной компоненты – к образованию пространственных волн. В рамках данной модели, в частности, находит разрешение вопрос о природе нейтрино [2]. Нейтрино следует рассматривать как квант пространственного излучения.

Тезис о существовании пространственных волн позволяет выйти на более глубокое понимание взаимосвязи живых организмов с окружающей средой. В частности, существование пространственных волн позволяет объяснить ряд экспериментальных фактов, связанных с откликом живых систем на процессы, происходящие на Солнце.

За несколько суток до повышения солнечной активности в атмосфере Солнца наблюдаются определенные изменения. Синхронно с изменениями в солнечной короне на Земле происходят изменения биоэлектрической активности точек акупунктуры [3]. В период регистрации этих изменений солнечной вспышки еще не произошло, и геомагнитное поле остается спокойным. Таким образом, существует некий информационный сигнал, отличный от электромагнитного сигнала, воспринимаемый биосферой Земли. Запуск механизма в недрах Солнца, вызывающего повышение солнечной активности, и информация об этом, улавливаемая живыми организмами Земли, происходят практически одновременно. Можно предположить, что именно пространственное излучение обеспечивает живые организмы Земли опережающей информацией о процессах, происходящих на Солнце.

Для регистрации пространственных волн необходима специальная аппаратура. Существующие приборы не могут быть непосредственно использованы для измерения пространственных волн, являющихся пока не исследованным видом материального излучения. В докладе представлены теоретические данные, характеризующие свойства пространственного излучения.

По нашему мнению, исследование и практическое освоение пространственного излучения приведет к созданию принципиально новых технологий.

1. Астафуров В.И., Добрецов С.Л. / Науч. сессия-конференция секции ЯФ ОФН РАН «Физика фундаментальных взаимодействий» (Москва, ИТЭФ им. А.И. Алиханова, 2009). – URL: <http://matras.itep.ru/npd2k09/2/cetbol/16.ppt>
2. Астафуров В.И. / ФЭН-НАУКА. 2012. № 4. С. 8-10.
3. Гомеостатика живых, технических, социальных и экологических систем. – Новосибирск: «Наука», Сиб. отд-е, 1990. С. 142-162.

**ЭЛЕКТРОПРОВОДИМОСТЬ КОМПЛЕКСНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ИОНОВ ЖЕЛЕЗА С СИНТЕТИЧЕСКИМ И ПРИРОДНЫМ МЕЛАНИНАМИ****The electrical conductivity of the complex compounds of iron ions with synthetic and natural melanins*****Багиров Р.М., Алиев Р.Э., Багирова О.Ш., Турабова Г.А.****Бакинский Государственный Университет, AZ1148, Баку, ул. З.Халилова 23  
тел. (+994)50-624-58-64, e-mail: rafiqbagirov@list.ru*

Меланины – темноокрашенные пигменты полимерной природы широко распространены в животном, растительном и микробном мире. Ранее нами были исследованы комплексообразования ионов железа с синтетическими L-ДОФА-меланином и меланинами животного, растительного и микробного происхождения [1]. В настоящей работе обсуждаются результаты экспериментальных исследований по электропроводимости комплексных соединений ионов железа с синтетическим L-ДОФА-меланином и меланинами выделенными из кожуры бобов *Vicia faba*.

Предварительные опыты показали, что прессованные в виде таблетки и высушенные в эксикаторе над CaCl образцы не проявляют заметную электропроводимость. Поэтому измерения зависимости электропроводимости от обратного значения температур проводились во влажных образцах. Пастаобразные образцы были упакованы в специальную кювету из фторопласта цилиндрической формы с внутренним диаметром 8 мм и длиной активной части ~14 мм. С целью предотвращения изменения степени гидратации при измерениях, кюветы тщательно герметизировались. Измерения проводились в интервале температур 383 К – 473 К.

Сравнительный анализ полученных нами результатов хорошо согласуются с известным в литературе данными по электропроводимости органических полупроводников [2] и могут быть описаны уравнением:

$$\ln \sigma = \ln \sigma_0 - \frac{\varepsilon_T}{2kT}$$

Исходя из этой формулы и полученных нами данных по электропроводимости определены энергия активации ( $\varepsilon_T$ ) исследованных образцов. Для комплексов ионов железа с L-ДОФА-меланином получена  $\varepsilon_T = 0,92 \text{ эВ}$ , а для комплексов ионов железа с растительным меланином  $\varepsilon_T = 0,98 \text{ эВ}$ . Точность таких оценок может быть не очень велика, но они хорошо согласуются со значением энергией активации некоторых органических полупроводников, известных в литературе, например, энергия активации хлорофилла, известного органического полупроводника,  $\varepsilon_T = 1,33 \text{ эВ}$  [2]. Таким образом, полученные нами результаты дают основания предполагать, что комплексы ионов железа с синтетическим и природным меланинами обладают электропроводимостью подобную полупроводникам.

1. Багиров Р.М., Багирова О.Ш., Турабова Г.А. // Труды VIII конференции «Современные проблемы физики», Баку, 2014, с.107-110.
2. Дулов А.А., Слинкин А.А. Органические полупроводники. Полимеры с сопряженными связями.// М.: Наука, 2010, 127 с.

## **АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА КРОВИ ЧЕЛОВЕКА В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ КЛИМАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ**

### **Antioxidant defense system in human blood in the extreme climatic conditions**

***Байжуманов А.А.1, Юсипович А.И.1, Кудряшова Н.Ю.1, Осяева М.К. 2, Родненков О.В. 2, Максимов Г.В.1***

1 – Биологический факультет МГУ, 119234, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12

2 – ФГБУ Российский кардиологический научно-производственный комплекс Минздрава РФ, Москва, 121552, Москва, ул. 3-я Черепковская, д. 15а

Тел.: +7(495)393-35-03; факс: +7(495)939-35-03; e-mail: [adilbayzhumanov@biophys.msu.ru](mailto:adilbayzhumanov@biophys.msu.ru)

В последние годы все чаще наблюдаются климатические аномалии, связанные с изменениями климата. При воздействии экстремальных факторов на живые существа происходит неспецифическая стимуляция защитных систем организма через усиление окислительных процессов и образование активных форм кислорода (АФК), которые в свою очередь инициируют активацию антиоксидантных систем. Дисбаланс между количеством образующихся про- и антиоксидантов клетки приводит к избыточному образованию АФК и риску формирования так называемого «окислительного стресса», являющегося причиной развития многих патологических процессов. Цель настоящей работы заключалась в изучении влияния стресса, связанного с пребыванием людей в условиях аномально жаркого московского лета 2010 года. В изолированном комплексе, в котором созданы все условия для жизни, шестеро здоровых добровольцев мужского пола в возрасте от 22 до 45 лет находились при температуре, колебавшейся от 26 до 31 градуса ночью, и от 30 до 38 градусов — днем. Концентрация угарного газа во время эксперимента составляла от 5 до 30 миллиграммов на кубический метр. Изучение исследуемых параметров проводили в крови и плазме крови, полученной из венозной крови. Исследование показателей антиоксидантного статуса крови включало определение общей супероксиддисмутазной и каталазной активностей гемолизата крови, количество небелковых тиолов крови, а также количества церулоплазмينا, ТБК-активных продуктов и общей антиоксидантной активности плазмы в плазме крови.

Нами было обнаружено, что длительное пребывание людей в стрессовых условиях, вызванных экстремальными климатическими условиями, приводит к снижению антиоксидантного статуса организма, что подтверждается нашими данными о снижении уровня небелковых тиолов крови, общей антиоксидантной активности плазмы, падением уровня церулоплазмينا и снижением супероксиддисмутазной активности, как в последние дни эксперимента, так и в первую неделю после возвращения людей к привычным условиям. Несмотря на то, что часть изменений носит обратимый характер, знание их развития и направленности является необходимым для возможной целенаправленной коррекции происходящих отклонений и минимизации их отрицательного влияния на организм.

**БИОФИЗИКА РЕАГИРОВАНИЯ НА ЭКСТРА ФАКТОРЫ. ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ****Extra factors response: problems and outlook****Беспалова С.В.**

Донецкий национальный университет, 83001, г. Донецк, ул. Университетская, 24  
e-mail: [bespalova.svetlana@gmail.com](mailto:bespalova.svetlana@gmail.com)

В Донбассе создана научная школа «Биофизика реагирования на экстремальные факторы». Научными направлениями являются исследования механизмов воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды (электромагнитные поля, вибрации, шумы, скачки давления, химические загрязнения и т.п.) на живые организмы.

В основе реагирования живой системы на экстремальные факторы можно выделить водородные связи. Внимание к водородным связям возникло с момента зарождения молекулярной биофизики и в настоящее время перевело давний биологический интерес на более качественный и количественный уровень.

Рассматриваются фундаментальные вопросы биофизики: физические принципы различных форм биологической подвижности, в том числе, работы молекулярных моторов; механизмы преобразования и передачи энергии в биомакромолекулярных системах с водородными связями и др., особенности проявления в сложной экологической среде [1].

Вместе с тем, развиваются прикладные направления, в частности, в области экологической и медицинской биофизики.

Например, разработана технология комплексной биоиндикации окружающей среды, благодаря которой дана оценка экологического состояния Донецкого региона. Обоснованы критерии оценки степени загрязнения окружающей среды и трансформации природных экосистем [2]. Разрабатывается система автоматизированного биомониторинга водных объектов с использованием флуориметрии хлорофилла фитопланктона [3].

Проводятся исследования влияния внешних факторов (физико-химических и климатических) на механические и акустические свойства древесно-кустарниковых растений с целью разработки методов по содержанию и уходу за деревьями в городских зеленых насаждениях для повышения их устойчивости.

Совместно с Донецким физико-техническим институтом и Институтом неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака с целью повышения эффективности трансплантации разрабатывается технология нацеленной доставки стволовых клеток, маркированных магнитными наночастицами, под действием высокоградиентного магнитного поля.

1. Bespalova S. V., Baryakhtar V. G. Physical principles of biological motion: role of hydrogen bonds // *Physics reviews*. – 2010. – Vol. 24, part 1. – 270 p.
2. Беспалова С. В. и др. Концептуальные подходы к нормированию в системе экологического биомониторинга // *Проблемы экологии и охраны природы техногенного региона*. – 2013. -№1. –С. 8-15.
3. С. В. Беспалова и др. Основы технологии автоматизированного биомониторинга водных ресурсов с использованием флуориметрии хлорофилла фитопланктона// *Вестник Донецкого университета. Серия А. Естественные науки*. — 2012. — Вип. 2. — С. 157—166.

## ОБОНЯНИЕ И ХЕМОТАКСИС

### Olfaction and chemotaxis

***Бигдай Е.В., Самойлов В.О.***

Институт физиологии имени И.П. Павлова РАН, 199034, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д.6  
e-mail: cell@infran.ru

Обонятельные клетки принадлежат к клеткам жгутикового типа. Апикальный полюс увенчан обонятельными жгутиками (ОЖ). Тонкие выросты плазматической мембраны клеток (диаметром 0,2 – 0,3 мкм и длиной до 150 мкм). Посредством прижизненной телевизионной микроскопии высокого разрешения удалось обнаружить двигательную активность обонятельных жгутиков у лягушек, крыс, кроликов и человека. Она оказалась сходной с их подвижностью у земноводных: движения жгутиков у всех исследуемых нами животных неупорядочены, когда в среде нет одорантов. Очевидно, такие движения повышают вероятность встречи молекул пахучего раздражителя с рецептором в цилиарной мембране. По результатам наших исследований с применением колхицина рыскающие движения жгутиков вне действия стимула обусловлены функционированием тубулин-динеиновой системы, сосредоточенной в проксимальном отделе ОЖ. Именно там динеин взаимодействует с тубулином, и генерируется механическая энергия для двигательной активности этих органелл [1, 2, 3]. Локомоторную функцию ОЖ выполняют благодаря входу  $Ca^{2+}$  из внеклеточной среды [3]. Опыты с использованием рутениевого красного, блокирующего  $Ca^{2+}$ -каналы семейства TRP, и гадолиния, блокирующего механочувствительные ионные каналы, позволили заключить, что кальций входит в цилиарный цитозоль через механочувствительные кальциевые каналы семейства TRP [4]. Очевидно, дистальный отдел ОЖ, в котором отсутствует полноценный опорно-двигательный аппарат, движется пассивно – наподобие хлыста в руке погонщика. Таким образом, ОЖ вне действия стимула реагируют на собственные изгибы, происходящие под действием механических усилий. Вместе с тем в наших исследованиях показано, что как только происходит взаимодействие одоранта с обонятельным рецептором, локализованным в мембране дистального отдела жгутика, характер его движения изменяется. Оно становится упорядоченным и, подобно движению при хемотаксисе, совершается по направлению к источнику одоранта в градиенте его концентрации. По нашим данным, упорядоченное движение ОЖ обеспечивается не тубулин-динеиновой, а актин-миозиновой системой подвижности. Посредством конфокальной микроскопии с использованием флуоресцентного зонда на F-актин (родаминфаллоидин) было установлено, что взаимодействие одоранта с рецептором инициирует полимеризацию G-актина с образованием F-актина, который, по-видимому, за счет взаимодействия с цилиарным миозином, создает его упорядоченное движение в направлении одоранта. [5]. Таким образом, в одном обонятельном жгутике сочетаются свойства амёбовидных и реснитчатых клеток. В двигательном акте у них участвуют две молекулярные системы подвижности. Динеин-тубулиновая система создает неупорядоченные движения в режиме рыскания. При появлении в среде пахучих веществ в ОЖ, подобно хемотаксису в других типах клеток, инициируется реорганизация цитоскелета: формируется актин-миозиновая система, обеспечивающая упорядоченное движение ОЖ в направлении источника одоранта.

1. Панов С.А., Бигдай Е.В. и др. Вестник военно-медицинской академии, 2013. № 3 (43). С 130-134.
2. Самойлов В.О., Бигдай Е.В. и др. Биофизика, 2013. Т.58. С.269-275.
3. Бигдай Е.В., Самойлов В.О. и др. Биофизика. 2008. Т.53. С. 997-1000.
4. Бигдай Е.В., Самойлов В.О. и др. Цитология. 2012. Т.54. № 9. С.666-667.
5. Wolfrum U., Liu X. et al. Cell motil. and cytoskeleton 1998. V.40. P.261-271

**ОБОБЩЕННЫЙ ФИЗИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ МАГНИТОРЕЦЕПЦИИ****Generalized physical mechanism of magnetoreception****Бинги В.Н.**

Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 38  
Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, 119991, Воробьевы горы, 1-12  
Тел.: +7(499)135-01-58; e-mail: vnbin@mail.ru

Краткоизложены история и состояние теоретических исследований в магнитобиологии — науке, изучающей действие полей порядка геомагнитного поля и менее с частотами до ста герц на организмы. Магнитная навигация животных, эпидемиологические междисциплинарные лабораторные исследования, исследования корреляций геомагнитной возмущенности и состояния здоровья людей — все эти области формируют эмпирическую базу магнитобиологии.

Теоретические механизмы магниторецепции все еще не ясны [1]. Данное обстоятельство составляет проблему нетепловых биологических эффектов магнитного поля [2]. В этой общей проблеме можно выделить несколько частных вопросов: парадоксально малая величина поля, вызывающего реакцию, неопределенность первичной мишени магнитных полей в тканях организма, заметная нелинейность эффектов и специфически сниженная их воспроизводимость в разных лабораториях.

Обсуждаются теоретические подходы к решению проблемы нетепловых биологических эффектов ЭМ полей. Показано, что механизмы, наиболее правдоподобные с точки зрения физики, учитывают: присутствие магнитных наночастиц в организмах, магниточувствительные биорадикальные реакции, вращательные состояния макромолекул и состояния жидкой воды пока неизвестной природы. Имеется, однако, единая основа молекулярных механизмов — это динамика магнитного момента в магнитном поле. Этот вопрос рассмотрен подробно. Приведено доказательство тому факту, что именно динамика углового и связанного с ним магнитного момента является единственным плодотворным теоретическим подходом к объяснению магниторецепции.

Представлен обобщенный физический механизм магниторецепции, который решает существенную часть проблемы нетепловых эффектов, связанную с первичной рецепцией. Механизм изложен в виде «теоремы» о спектрально-амплитудных свойствах первичной рецепции. Доказательство утверждений проводится на основе постулата существования нетепловых эффектов, законов физики и единственного общего и логически оправданного предположения. Рассмотрены свойства возникающей математической модели механизма и перспективы приемлемого решения проблемы нетепловых эффектов.

1. Binhi V.N. Theoretical concepts in magnetobiology // *Electro- and Magnetobiology*, 2001, V. 20, N. 1, P. 43-58.
2. Бинги В.Н., Миляев В.А., Чернавский Д.С., Рубин А.Б. Парадокс магнитобиологии: анализ и перспективы решения // *Биофизика*, 2006, Т. 51, № 3, Стр. 553-559.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОБЛУЧЁННОЙ ПЫЛЬЦЫ ДИКИХ ВИДОВ РОДА ВЕТАВСЕЛЕКЦИИ САХАРНОЙ СВЁКЛЫ

### Using irradiated pollen of *Betagenus* wild species in sugar beet breeding

**Богомолов М.А., Федулова Т.П.**

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свёклы и сахара имени А.Л. Мазлумова», 396030 Россия, Рамонь, Воронежской области  
e-mail: bogomolov47@bk.ru

Огромные перспективы для селекционного процесса имеет использование экспериментального радиационного мутагенеза, позволяющего не только управлять ростом и развитием растений для повышения их продуктивности, но значительно быстрее, чем в природных условиях создавать разнообразные генотипы, которые могут быть источником ценных рекомбинантов с новыми качественными признаками. Эффективным приёмом, значительно увеличивающим разнообразие потомства, является использование облучённой пыльцы.

При проведении нами опылений диплоидных МС-растений сахарной свёклы пыльцой диких видов свёклы *B. corolliflora* Z. (4 n) и *B. trigyna* W. et K. (6 n), облучённой высокими дозами  $\gamma$ -радиации (1500 – 3500 Гр), были получены гамма-линии с апомиктическим способом семенной репродукции. Считается, что облучённая радиацией пыльца блокирует нормальное оплодотворение и стимулирует яйцеклетку к апомиктическому размножению [1]. Особой селекционной ценностью характеризуются стерильные линии:  $\gamma$ -МС-2113-АР,  $\gamma$ -МС-70-АР и  $\gamma$ -МС-94-АР и самофертильная линия  $\gamma$ -РФ-70 АР, которые в течение десяти поколений формируют жизнеспособное потомство в условиях строгой изоляции, сохраняя при этом высокую продуктивность.

Для проведения идентификации полученных гамма-линий был проведен молекулярно-генетический RAPD-анализ с использованием праймеров (PawS 5, S 6, S 11, S 16 и S 17) фланкирующих концевые повторы ретротранспозонов семейства R 173 [2].

При анализе ПЦР-спектров созданных инбредных гамма-линий наилучшие результаты были получены при амплификации с праймерами PawS5, PawS6 и с парами этих праймеров, а также с парой праймеров PawS16 + PawS17. Удалось обнаружить как сходство, так и различия между исследованными формами по продуктам ПЦР. Выявлено, что апомиктические гамма-линии характеризовались большей генетической выравненностью – количество амплифицированных ПЦР-продуктов варьировало от 2 до 4-х, тогда как у инбредных линий, созданных традиционными методами, их количество достигало 6-ти. Это связано, по-видимому, с тем, что в процессе создания  $\gamma$ -линий были отобраны формы, гомозиготные по семи изоферментным локусам. Созданная линия  $\gamma$ -МС-2113 отличается от остальных номеров присутствием фрагмента с молекулярной массой 1000 п. н. Данный ампликон отсутствует в геномной ДНК сростноплодных опылителей – №№ 14840 и 15465.

На основе этой линии был создан высокопродуктивный гибрид Витязь, который по данным Рамонского ГСУ превысил стандарт РМС-46 в среднем за 3 года по урожайности корнеплодов на 10,7%, сахаристости на 2,0% и сбору сахара на 11,5%.

1. Сёмин В.С. Применение облученной ионизирующими излучениями пыльцы в селекции винограда / В.С. Сёмин // Цитология и генетика: – 1988. – Т. 22, № 2. – С. 73-76.
2. Rogovsky P.M. Genom / P.M. Rogovsky, K.W. Shepherd. – 1992. – V. 35. – № 4. – P. 621 – 626.



**ДИНИТРОЗИЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ЖЕЛЕЗА С ПЕРСУЛЬФИДНЫМИ ЛИГАНДАМИ КАК СОЕДИНЕНИЯ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЕ ВЗАИМОСВЯЗЬ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МОНООКСИДА АЗОТА И СЕРОВОРОДА**

**Dinitrosyl iron complexes with persulfide ligands as a compounds ensuring intercorrelation between biological actions of nitrogen monoxide and hydrogen sulfide**

***Ванин А.Ф., Микоян В.Д., Кубрина Л.Н., Бородулин Р.Р., Бурбаев Д.Ш.***

Институт химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН, 119991, Москва, ул. Косыгина, 4.

В последнее время установлено, что в живых системах наряду с такими газомедиаторами биологических процессов, как кислород и монооксиды азота (NO) и углерода (CO), высокую биологическую активность может проявлять сероводород (H<sub>2</sub>S). Последнее, в частности, лежит в основе целебного действия мацесты – знаменитой термальной воды, используемой на курортах г. Сочи. Установлено, что биологическое действие H<sub>2</sub>S близко к аналогичному действию NO. Более того, H<sub>2</sub>S усиливает биологическую активность последнего.

Среди соединений, возникающих в клетках и тканях в присутствии H<sub>2</sub>S, особая роль как биологически активным производным H<sub>2</sub>S, отводится персульфидам (R-S-S<sup>-</sup>). Они, как и тиолы (RS<sup>-</sup>), могут образовывать S-нитрозоаддукты (соответственно, S-нитрозотиолы и S-нитрозоперсульфиды), а также, как и тиолы, включаться в качестве лигандов, соответственно, в динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) с персульфидными и тиол-содержащими лигандами. Поскольку последние могут выступать в качестве «рабочей формы» одного из универсальных регуляторов метаболических процессов – NO, есть основание полагать, что взаимосвязь биологического действия NO и H<sub>2</sub>S может осуществляться через включение NO и персульфидов, образующихся при участии H<sub>2</sub>S, в ДНКЖ с персульфидными лигандами.

В докладе будут приведены результаты наших исследований, касающихся способов синтеза ДНКЖ с персульфидными лигандами как низкомолекулярных, так и связанных с белками, и их физико-химических характеристик. Низкомолекулярная форма этих комплексов характеризуется сигналом ЭПР (при его регистрации при 77K) со значениями g- фактора -  $g_{\perp} = 2,04$ ,  $g_{\parallel} = 2,02$ ,  $g_{cp.} = 2,03$ . При комнатной температуре регистрации этого сигнала, очевидно, из-за усреднения анизотропии g- фактора он превращается в узкий (с полушириной 0,3 мТ) сигнал ЭПР с центром при  $g = 2,03$ . Белковая форма ДНКЖ с персульфидными лигандами характеризуется анизотропным сигналом ЭПР с  $g_{\perp} = 2,04$ ,  $g_{\parallel} = 2,02$ ,  $g_{cp.} = 2,03$ , форма которого не меняется при повышении температуры его регистрации от 77K до комнатной температуры. Включение изотопа <sup>57</sup>Fe в эти комплексы приводит в соответствии с моноядерной природой МНКЖ к появлению дублетной сверхтонкой структуры (СТС), обусловленной взаимодействием неспаренного электрона с ядром <sup>57</sup>Fe. СТС от ядер азота нитрозильных лигандов в спектре ЭПР этих комплексов не обнаруживалось, что могло быть обусловлено компенсацией этой СТС разнозарядовыми значениями компонент тензора СТС, возникающей в результате спиновой поляризации соответствующих электронных орбиталей. При контакте белок-связанных ДНКЖ с персульфидными лигандами с цистеином или апротонными растворителями эти комплексы превращались в ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами белка.

Предполагается, что при соответствующей проверке биологического действия ДНКЖ с персульфидными лигандами, эти комплексы могут составить основу для создания на их основе медицинских препаратов, оказывающих в качестве доноров NO и персульфидов, различное клиническое действие.

## ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ОРАНЖЕВО-КРАСНОГО СВЕТА ОТ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

### Protective effects of orange-red light against ultraviolet radiation

**Гапеев А.Б.1,2, Юршенас Д.А.2, Манохин А.А.1, Храмов Р.Н.3**

1 – ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, 142290, Московская обл., г. Пущино

2 – ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт, 142290, г. Пущино

3 – ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290, г. Пущино

Тел.: +7(4967)73-94-12; факс: +7(4967)33-05-09; e-mail: a\_b\_g@mail.ru

Негативные последствия при облучении биологических систем солнечным светом обусловлены в основном действием ультрафиолетового (УФ) излучения. Для защиты от повреждающего действия УФ-излучения, реализуя инновационную стратегию "полезное солнце" [1], разрабатываются специальные светозащитные экраны, преобразующие УФ-компоненту солнечного излучения в биостимулирующий оранжево-красный свет [2], в отличие от общепринятой стратегии "безопасное солнце", при которой УФ-компонента поглощается либо экранируется. Цель работы состояла в оценке возможности защиты клеточной ДНК от повреждений УФ-излучением при действии оранжево-красного света и выяснении механизмов защитных эффектов. Лейкоциты периферической крови мышей самцов линии Kv:SHK облучали непосредственно в составе препаратов-слайдов из 0.5%-й легкоплавкой агарозы. Для облучения использовали лампу ДРШ250-3 со светофильтрами УФС5, УФС6, ЖС20, интерференционный (313 нм) и поликарбонатный, не пропускающий УФ-излучение. Для получения в световом потоке дополнительной оранжево-красной компоненты применялся люминесцирующий экран, содержащий фотолюминофор, с возбуждением в УФ и фиолетовой области и максимумом люминесценции 625 нм. Уровень повреждений ДНК в лейкоцитах крови оценивали методом "комета-тест" [2]. Обнаружено, что при воздействии суммарным излучением от лампы ДРШ250-3 в дозе около 6 Дж/см<sup>2</sup> уровень повреждений ДНК в лейкоцитах составил 18.5±0.8%. При облучении клеток с использованием поликарбонатного фильтра повреждений ДНК обнаружено не было (0.24±0.08%). Облучение клеток с использованием светофильтров УФС5, УФС6, 313 нм и УФС5+ЖС20 при эквивалентной дозе излучения индуцировало повреждения ДНК в лейкоцитах около 19.1±1.7%, 1.3±0.2%, 19.4±1.2% и 22.7±1.8% соответственно. Таким образом, установлено, что основные повреждения ДНК под действием света от лампы ДРШ250-3 обусловлены действием УФ-В (280-320 нм). Использование специальных экранов (с активным люминофором – люминесцирующий и с инактивированным люминофором – только поглощающий) показало, что при активном люминофоре наблюдается защитный эффект, уровень повреждений ДНК снижается в среднем на 30% по сравнению с инактивированным люминофором. Ранее было обнаружено, что под действием оранжево-красного света в водных растворах продуцируются АФК в наномолярных концентрациях, которые могут быть медиаторами защитного эффекта [2]. В наших экспериментах предварительная инкубация клеток в присутствии экзогенной H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в концентрациях 300-500 нМ приводила к снижению уровня повреждений ДНК, индуцируемых УФ-В, в среднем на 25-30%. Вероятно, что индукция адаптивного ответа низкими концентрациями АФК, образующимися под действием оранжево-красного света, может быть одним из механизмов защитного действия в стратегии «полезное солнце».

*Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Правительства Московской области (проект № 14-44-03672-р\_центр\_а).*

1. Khramov R.N., Bratkova L.R et al. // Holick M.F. and Jung E.G. (eds) Proceedings of a Symposium "Biological Effects of Light 1995". Atlanta, USA, 1995. Walter de Gruyter, Berlin New York, 1996, 192-194.
2. Гапеев А.Б., Фахранурова Л.И., Паскевич С.И. и др. Технологии живых систем, 2012, т. 9, с. 16-25.

**ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ РАДИОЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ ИМПУЛЬСНО-МОДУЛИРОВАННОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ КРАЙНЕ ВЫСОКИХ ЧАСТОТ****Study of the mechanisms of radioprotective action of pulse-modulated extremely high-frequency electromagnetic radiation****Гапеев А.Б.1,3, Лукьянова Н.А.1,3, Гудков С.В.2,3**

1 – ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, 142290, Московская обл., г. Пущино

2 – ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290, г. Пущино

3 – ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт, 142290, Пущино

Тел.: +7(4967)73-94-12; факс: +7(4967)33-05-09; e-mail: a\_b\_g@mail.ru

В современной радиобиологии вопрос о роли неионизирующих электромагнитных излучений (ЭМИ) в изменении неспецифической резистентности и реализации радиобиологических эффектов исследован недостаточно. Предполагается, что неионизирующие ЭМИ и низкие концентрации активных форм кислорода могут изменять резистентность клеток к воздействию ионизирующего излучения и модифицировать вызванные им повреждения ДНК в клетках. С целью проверки этого предположения исследовали комбинированное действие ЭМИ крайне высоких частот (ЭМИ КВЧ) с различными параметрами и рентгеновского излучения на индукцию повреждений ДНК в лейкоцитах периферической крови мышей линии Kv:SHK. Периферическую кровь собирали в пробирки с антикоагулянтом, разводили в 10 раз и готовили из полученной суспензии препараты-слайды с жизнеспособными лейкоцитами, иммобилизованными в 0.5%-ю легкоплавкую агарозу. Клетки в составе агарозных слайдов облучали ЭМИ КВЧ в течение 20 мин при различных параметрах излучения до или после облучения рентгеновским излучением в дозе 4 Гр. Повреждения ДНК анализировали с помощью экспресс метода молекулярной генотоксикологии "комета-теста". Обнаружено, что облучение лейкоцитов крови мыши импульсно-модулированным ЭМИ КВЧ (42.2 ГГц, 0.1 мВт/см<sup>2</sup>, экспозиция 20 мин) с частотами модуляции 0.1, 1, 16, 32 и 50 Гц перед воздействием рентгеновским излучением в дозе 4 Гр снижало уровень повреждений ДНК в клетках в среднем на 25%. Непрерывное или амплитудно-модулированное ЭМИ КВЧ с теми же частотами модуляции было неэффективно. При действии импульсно-модулированного ЭМИ КВЧ через 5 мин после облучения клеток рентгеновским излучением величина радиозащитного эффекта снижалась в среднем до 10-15%. Таким образом, показано, что импульсно-модулированное ЭМИ КВЧ обладает как защитным, так и терапевтическим действием. Обнаружено, что радиозащитное действие ЭМИ КВЧ зависит от несущей частоты и от интенсивности излучения. Эффект имеет характерную S-образную зависимость от интенсивности излучения, полувеличина эффекта наблюдается при интенсивности около 50 мкВт/см<sup>2</sup>. Установлено, что величина радиозащитного эффекта ЭМИ КВЧ не зависит от дозы рентгеновского излучения в диапазоне доз 1-8 Гр. Полученные результаты показывают, что величина радиозащитного эффекта ЭМИ КВЧ зависит от несущей частоты, частоты и типа модуляции, интенсивности, уровня повреждений ДНК и последовательности воздействий. Методом усиленной хемилюминесценции установлено, что импульсно-модулированное ЭМИ КВЧ вызывает в физиологическом растворе продукцию перекиси водорода в наномолярных концентрациях. Концентрация образующейся перекиси водорода зависит от интенсивности ЭМИ КВЧ, длительности экспозиции, несущей и модулирующей частот. Эти результаты дают основания полагать, что механизмы радиозащитных эффектов ЭМИ КВЧ связаны с индукцией адаптивного ответа низкими концентрациями активных форм кислорода, образующимися под действием импульсно-модулированного излучения.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНСТАНТЫ КРИОСКОПИИ ДЛЯ НЕЙРАМИНИДАЗЫ ВИРУСА ГРИППА

### Constant definition cryoscope for neuraminidase of influenza virus

***Гребёнкина Н.С., Контаров Н.А., Юминова Н.В., Зверев В.В.***

ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, 105064, Москва, Малый Казенный пер., д. 5а

Тел.: +7 (495) 674-01-99; nataliagrebyo@mail.ru

Известно, что функционирование многих белков и ферментов зависит от степени гидратации их поверхностей. О влиянии степени гидратации на функциональную активность антигенных белков вируса гриппа на сегодняшний день ничего неизвестно. В наших исследованиях в качестве модели поверхностного антигенного вирусного белка была выбрана нейраминидаза вируса гриппа. С использованием метода криоскопии была получена константа криоскопии для нейраминидазы вируса гриппа, равная  $K = 0,51 \text{ К*моль/кг}$ . Полученное значение схоже со многими известными белками, для которых были определены константы криоскопии. Также выявлена зависимость активности нейраминидазы от константы криоскопии. С ростом константы криоскопии происходит увеличение активности фермента с выходом на плато. Данный результат можно использовать с целью определения активности нейраминидазы при получении различных противогриппозных вакцинных препаратов, а также контролировать качество нативных препаратов нейраминидазы при хранении.

**РОЛЬ БИОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ АНИОНОВ В ПРОЦЕССАХ АДАПТАЦИИ  
К ОКИСЛИТЕЛЬНОМУ СТРЕССУ****The role of biologically relevant anions in the process of adaptation to oxidative stress**

**Гудков С.В.1,2,3,4, Иванов В.Е.1, Карп О.Е.1, Асташев М.Е.1,3,5, Попова Н.Р.1, Усачева А.М.1, Галочкина Е.А.1,4, Шелковская О.В.1,3, Куликов Д.А.1,6, Черников А.В.1, Брусков В.И.1,2**

1 – Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290, Пущино

2 – Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 38

3 – Пущинский государственный естественно-научный институт, 142290, Пущино

4 – Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород,

5 – Институт биофизики клетки РАН, 142290, Пущино Московской области, ул. Институтская, 3

6 – МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, 129110, Москва, ул. Щепкина, 61/2

Тел.: +7(4967) 73-94-97; факс: +7(4967)33-05-53; e-mail: S\_makariy@rambler.ru

Работа посвящена исследованию роли биологически значимых анионов в процессах адаптации к окислительному стрессу, а так же изучению физико-химических механизмов его развития и терминации [1-4]. После предварительных тестов, исследовались хлорид-, бикарбонат-, гидрофосфат-, дигидрофосфат-, нитрит-, нитрат-, цитрат-, ацетат-, сукцинат-анионы. Показано воздействие таких биологически значимых анионов на генерацию под действием тепла, электромагнитного излучения крайне высоких частот, лазерного и рентгеновского излучений, таких активных форм кислорода, как перекись водорода и гидроксильные радикалы. Установлено, что наименьшие эффективные концентрации большинства отобранных анионов лежат в диапазоне 10-100 мкМ. В процессе доклада будут рассмотрены возможные физико-химические механизмы влияния биологически значимых анионов на процессы образования АФК под действием физических факторов. Установлено влияние биологически значимых анионов на образование окислительных повреждений белков и ДНК под действием физических факторов. Исследованы возможности влияния биологически значимых анионов на скорость образования активных форм кислорода под действием долгоживущих радикалов белка. Показано, что ряд анионов способны существенным образом снижать количество пострадиационных нарушений ДНК в красном костном мозге мышей. Сульфат и карбонат анионы являются слабыми радиопротекторами. Кроме того, показано участие данных анионов в формировании адаптивного ответа на действие ионизирующей радиации. Так же, в докладе будут обсуждаться результаты применения созданных нами искусственных минеральных вод в профилактике радиационных поражений. В результате выполнения работы авторский коллектив получил три довольно таки интересных следствия. Оказалось, что специфические анионные эффекты так называемой серии Хофмейстера, в наном мире принципиально отличаются от классических [5]. Первичная обработка имплантов из нитинола сульфат анионами приводит к увеличению митотических индексов и более быстрому обрастанию [6]. Так же проведено исследование фазовых состояний водных солевых растворов вблизи поверхности полимерных мембран из нафтона. Такие мембраны применяют в низкотемпературных водородных элементах, результаты данной работы позволили уменьшить нагрузку АФК-индуцированных повреждений мембран [7].

*Работа поддержана грантом РФФИ №13-04-00730-а* Работа поддержана грантом

1. Гудков С.В. и др. // Биофизика, 2014, Т. 59, вып. 5, с. 862–870
2. Bruskov V.I. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2014. Vol. 443. P. 957-961.
3. Garmash S.A. et al. // J. Environ. Radioact. 2014. Vol. 129. P. 170.
4. Gapeyev A.B., Lukyanova N.A., Gudkov S.V. // Cent. Eur. J. Biol. 2014, Vol. 9, P. 915-921.
5. Насакина Е.О. и др. // ДАН. 2015. Т. 461, № 1, с. 49–52.
6. Бобылёв А.Г. и др. // Биофизика. 2015. Т. 60, вып. 1, с. 38–43

## **О ВОЗМОЖНОЙ СВЯЗИ МЕЖДУ ФИЗИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ ВОДЫ, ВАРИАЦИЯМИ МАГНИТНОГО ПОЛЯ ЗЕМЛИ И БИОРИТМАМИ**

### **About a possible correlation between the physical properties of water, variations in the magnetic field of the Earth and biorhythms**

**Дроздов А.В**

Институт аналитического приборостроения РАН, 198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31-33, лит. А

*e-mail: av@biophys.ru*

Согласно двухструктурным моделям, вода имеет локальные различия структуры с постоянной динамикой взаимных переходов. Предполагается, что именно динамика этих взаимных переходов в воде отвечает за многие биологические явления, в том числе за биоритмы. Ранее в работе [1] при исследовании физико-химических свойств воды было выявлено, что изменения физических характеристик воды подчиняются определенным закономерностям. Во всех экспериментах, независимо от используемого метода молекулярно-структурного анализа (ИК-спектроскопия, спектроскопия комбинационного рассеяния, СВЧ-радиометрия, ЯМР в магнитном поле Земли и др.), наблюдались близкие по значению и хорошо воспроизводимые периоды колебаний измеряемых величин. Значения этих периодов составляют: 1–3; 5–9; 10–13; 14–18; 20–28; 30–39; 41–55 и ~ 60 мин. Иными словами, процессы взаимных переходов между локальными структурными неоднородностями в воде – упорядочены. Для того чтобы в молекулярной системе наблюдался колебательный суммарный эффект внутри- и межмолекулярных преобразований, необходима синхронизация квантовых переходов между различными состояниями молекул. Прежде всего, необходимо добиться, чтобы внутримолекулярные превращения совершались во всех молекулах среды (или большей ее части) одновременно, синфазно. Квантовые переходы в молекулах должны быть в достаточно высокой степени когерентны. С другой стороны, для проявления эффекта периодичности нужен резонанс между состояниями, отвечающими основным уровням энергии, что в реальных условиях маловероятно, поскольку все уровни системы находятся в возбужденном состоянии. Однако эффект периодичности может наблюдаться и при резонансе возбужденных уровней, но для этого необходимо постоянное внешнее воздействие. С нашей точки зрения, на важную роль воды в передаче сигналов физической природы биологическим объектам указывают полученные нами результаты синхронного изменения физических свойств воды, биологической активности целостного организма и вариаций магнитного поля Земли.

В эволюционном плане именно космофизическая ритмика может выступать как ведущий синхронизирующий фактор биологических процессов. К настоящему времени известны периоды солнечных пульсаций в минутном диапазоне: ~12 мин, ~17 мин, ~27 мин, ~32 мин, ~45 мин, ~57 мин.

Таким образом, можно предположить, что космофизические факторы (влияющие на магнитное поле Земли) могут быть причиной синхронизации работы клеток любого биологического организма. Действие магнитного поля, проникающего непосредственно на уровень каждой клетки, может быть направлено на любой из магнитных моментов, присутствующих в биологической системе (спин электрона, ядерный магнитный момент и т.п.). Эти магнитные моменты становятся своего рода «антеннами» внутри биологических объектов, которые могут воспринимать управляющее воздействие от внешних электромагнитных полей.

1. Дроздов А.В., Нагорская Т.П. / Биофизика, 2014, Т.59 (6) С.1195 [www.biophys.ru/archive/h2o-00034.pdf](http://www.biophys.ru/archive/h2o-00034.pdf)

**ВЛИЯНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА МОРСКИЕ МАКРОВОДОРОСЛИ****Influence of phenolic compounds on the macrophytic marine algae****В.Е.Ерохин, А.П.Гордиенко**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт морских биологических исследований им. А.О.Ковалевского РАН (ФГБУН ИМБИ РАН), 299011, Севастополь, пр. Нахимова, 2

Тел.: +7(978)023-31-41; e-mail: veerokhin@gmail.com

Наиболее существенные повреждения при загрязнениях морской экосистемы испытывают фотосинтетические продуценты органического вещества и начальные звенья трофической цепи. Исходя из этого, целью работы являлось изучение динамики изменения основных характеристик жизнедеятельности водорослей при экспериментальной интоксикации фенолами в диапазоне физиологически значимых величин. Приоритетные задачи исследования состояли в поиске механизмов для повышения адаптационного потенциала и определение границ устойчивости к повреждающим факторам. Исследовали более 10 видов макроводорослей из различных таксономических групп. Для диагностики физиологического состояния макрофитов использовали стандартные биохимические, спектрофотометрические и спектрофлуориметрические методы.

Показано, что характер изменений физиолого-биохимических показателей массовых видов макрофитов, в условиях экспериментального повреждения фенолами, довольно многообразен и зависит от целого ряда факторов. Наиболее подвержены изменениям показатели функционирования энергопроизводящего аппарата (содержание АТФ и пероксидазы, содержание и соотношение пигментов, активность АТФ-азы, интенсивность люминесценции окисленных флавопротеинов и восстановленных пиридиннуклеотидов и др.). Об адаптационных резервах энергопроизводящего аппарата макрофитов судили по величине  $\xi$ , отражающей соотношение люминесценции окисленных пиридиннуклеотидов и восстановленных флавиннуклеотидов. Содержание белка практически не изменялось, поэтому эти величины использовали, наряду с сухой массой макрофитов, для расчета относительных значений. Установлено, что в исследованном диапазоне концентраций фенолов происходят нарушения физиологического ритма работы пигментной системы макрофитов. По величинам отклонения содержания пигментов в талломах макрофитов при интоксикации фенолами по отношению к контролю были определены величины токсического эффекта. Построена последовательность расположения макрофитов в зависимости от содержания пигментов, которая оказалась близка к наблюдаемому в природе ярусному характеру распределения макрофитов на литорали. Отмечено, что величина токсического эффекта определяется как циркадным суточным ритмом фотосинтетической активности макрофитов, так и колебательным характером ответа пигментной системы. Основную роль в формировании отклика на повреждение играют концентрация и доза токсиканта, адаптационные способности макрофитов и гомеостаз пигментной системы.

Установлено, что интоксикация водорослей сопровождается адаптивной перестройкой метаболизма. Проведено исследование экспериментальных данных на эмпирической математической модели, содержащей дифференцирующее и колебательное звенья. Получено реализующее модель дифференциальное уравнение и по экспериментальным данным определены его параметры, что позволяет описывать главные гармоника колебаний изменения концентрации хлорофилла "а" в водорослях по отношению к контролю во времени при интоксикации различными концентрациями фенола.

## ВОЗДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ФЕРМЕНТОВ

### Effect of nanoparticles on enzymes functioning

**Есимбекова Е.Н.1,2, Хрунина М. А.2, Деева А.А.2, Асанова А.А.3**

1 – Институт биофизики СО РАН, 660036, Красноярск, Академгородок 50/50;

2 – Сибирский федеральный университет, 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79;

3 – Красноярский ГАУ, 660130, г. Красноярск, ул. Стасовой, 44 д

*e-mail: nastasia.asanova@gmail.com*

В условиях ожидаемого распространения наночастиц и их воздействия на людей через окружающую среду и пищу, оценка безопасности наноматериалов имеет наивысший приоритет. В настоящее время исследования безопасности наноматериалов проводят главным образом на организменном уровне организации живого, в то время как первоначальное воздействие осуществляется в результате их контакта с различными биомолекулами.

Цель исследования: оценить эффекты, оказываемые наночастицами оксидов металлов на ферментные системы-биомаркеры, представленные трипсином и биолюминесцентной биферментной системой светящихся бактерий.

Был проведен анализ ингибирующего воздействия на ферменты наночастиц  $TiO_2$  и  $SiO_2$  разного размера. В работе использовали лиофилизированный препарат ферментов, содержащий люциферазу (L) из рекомбинантного штамма *Escherichia coli*, NADH:FMN-оксидоредуктазу (R) из *Vibrio fischeri* и трипсин поджелудочной железы свиней. О влиянии наночастиц на биферментную систему L+R судили по изменению максимальной интенсивности свечения в присутствии исследуемого вещества по сравнению с контрольным раствором (дистиллированная вода). Измерение активности трипсина проводили биолюминесцентным методом по константе спада свечения [1]. При исследовании воздействия наночастиц на биферментную систему L+R, показатели  $EC_{50}$  составили 2,2 и 0,46 мМ для наночастиц  $SiO_2$  размерами 10-15 нм и 100-120 нм соответственно и 0,12 мМ для наночастиц  $TiO_2$ . Значительно меньший ингибирующий эффект анализируемые наночастицы оказали на активность трипсина: для наночастиц  $SiO_2$  показатель  $EC_{50}$  определить не удалось, значения  $EC_{20}$  для наночастиц  $SiO_2$  размера 10-15 нм и 100-120 нм составляют 0,7 и 0,46 мМ соответственно, для наночастиц  $TiO_2$  показатели  $EC_{50}$  и  $EC_{20}$  составляют 0,14 и 0,1 мМ соответственно.

Таким образом, наночастицы  $TiO_2$  оказывают более сильное ингибирующее воздействие на биферментную систему и трипсин по сравнению с наночастицами  $SiO_2$ , токсический эффект наночастиц  $SiO_2$  усиливается при увеличении их размера. значения параметров  $EC_{20}$  и  $EC_{50}$  существенно ниже по сравнению с результатами других биологических тестов [2], что указывает на более высокую чувствительность молекулярного уровня организации живого к воздействию наночастиц по сравнению с организменным уровнем.

*Работа выполнена при финансовой поддержке КГАУ «Красноярский краевой фонд поддержки научной и научно-технической деятельности» по проекту "Эколого-биохимические методы оценки токсичности техногенных наноматериалов".*

1. Njus, D.; Baldwin, T.O.; Hastings, J.W. Anal. Biochem., 1974, 61, 280–287.

2. Baun A., Hartmann N.B., Grieger K., Kusk K.O. // Ecotoxicology, 2008. N. 7. P. 245-252.



**НЕКОТОРЫЕ ПОДХОДЫ К АКТИВИЗАЦИИ МЕХАНИЗМОВ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ АНАЛОГИ КАТЕГОРИЙ СИНЕРГЕТИКИ**

**Some approaches to enhance the mechanisms of antitumor resistance and the functional analogs to categories of synergetics**

***Жукова Г.В.1, Шихлярова А.И.1, Солдатов А.В.2, Костровицкий Ю.В.3, Зернов В.А.4, Руденко М.Ю.4, Петросян В.И.5, Бартенева Т.А.1, Гудцова Т.Н.1, Брагина М.И.1, Мащенко Н.М.1, Положенцев О.Е.2., Златник Е.Ю.1, Ширнина Е.А.1, Новикова И.А.1, Куркина Т.А.1***

1 – Ростовский научно-исследовательский онкологический институт Ростов-на-Дону

2 – Южный федеральный университет, НОЦ "Наноразмерная структура вещества, Ростов

3 – Ростовский НИИ радиосвязи, 344038, Ростов-на-Дону, ул. Нансена, 130

4 – Российский новый университет, 105005, Москва, ул. Радио, 22

5 – НПО "Телемак", 410040, Саратов, пр. 50 лет Октября, 101, корп.16

Тел., факс +7(863)250-67-96; e-mail: *galya\_57@mail.ru*

Рассматриваются методологические подходы к оптимизации воздействий с помощью низкоинтенсивных ЭМИ различных частотных диапазонов, а также наночастиц магнетита, на состояние механизмов противоопухолевой резистентности у лабораторных крыс и мышей (более 1000 животных) с перевивными опухолями различных гистологических типов (саркома 45, лимфосаркома Плисса, меланома В16). Формирование воздействий в соответствии с принципами активационной терапии позволяет получить выраженный эффект, вплоть до полной регрессии опухолей, без применения средств противоопухолевой терапии. Активационная терапия как лечебная технология базируется на теории общих неспецифических адаптационных реакций организма (АР), разработанной на основе открытия Г. Селье АР стресс (1936), а также открытия антистрессорных АР Гаркави Л.Х., Квакиной Е.Б., Уколовой М.А. (дипломы на открытие №153,1975 и №367, 2008). Теория АР основана на представлениях о существовании периодически организованной системы качественно отличных интегральных реакций, развитие которых определяется количественными значениями биотропных параметров воздействия. Указанная система представляет собой гомеостатический механизм, управление которым позволяет повышать неспецифическую противоопухолевую резистентность организма. Принципы такого управления включают минимизацию интенсивности воздействия, локализацию воздействия на центральные регуляторные структуры, изменение экспозиции воздействия в течение курса в соответствии с гематологическими показателями или специальными режимами, сочетание центрального и местного воздействия с локализацией на зону патологического процесса или проекции внутренних органов, применение эффективной поличастотной модуляции сигнала, сочетание действия различных физических факторов, а также ЭМИ и биологически активных веществ. Новое направление исследований связано с комплексным применением слабых поличастотных магнитных воздействий и наночастиц магнетита, вводимых перитуморально. Показана аналогия между критериями и представлениями теории АР и понятиями и категориями синергетики (псевдохаотическая динамика, ди- и гиперсинхронозы, параметры порядка, режимы с обострением). Рассматриваются особенности вариабельности исследованных показателей при эффективных и неэффективных воздействиях как отражение динамики нелинейных процессов. Анализируются случаи смены параметра порядка при развитии состояний активационной и тренировочной ареактивности у крыс с регрессией саркомы 45 при комплексных воздействиях с использованием ЭМИ миллиметрового диапазона. Обсуждается вопрос о возможном соответствии режимам с обострением динамики процессов в иммунной системе при регрессии опухолей крупных размеров под влиянием модулированных ЭМИ миллиметрового диапазона или наночастиц магнетита.

*Работа поддержана проектом РНФ 14-35-00051.*

**АКТИВАЦИЯ ЕСТЕСТВЕННОЙ ЗАЩИТНОЙ РЕАКЦИИ В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ МЫШЕЙ, ОБЛУЧЕННЫХ НИЗКОИНТЕНСИВНЫМ НЕ-НЕ ЛАЗЕРНЫМ И РЕНТГЕНОВСКИМ ИЗЛУЧЕНИЯМИ IN VIVO**

**Activation of natural defense reaction in different organs of mice exposed to He-Ne laser and X-rays in vivo**

**Заичкина С.И.1, Дюкина А.Р.1, Розанова О.М.1, Романченко С.П.1, Сирота Н.П. 1, узнецова Е.А. 1, Симонова Н.Б.1, Сорокина С.С.1, Закржевская Д.Т.1, Юсупов В.И.2, Баграташвили В.Н.2**

1 – Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290, Пущино, ул. Институтская, 3

2 – Институт проблем лазерных и информационных технологий РАН, 142190, Троицк, ул. Пионерская, 2

Тел.: +7(4967)73-93-49; факс: +7(4967)33-05-53; e-mail: Szaichkina@yandex.ru

В настоящее время в России и во всем мире интенсивно развивается лазерная медицина, основанная на использовании низкоинтенсивных лазерных и светодиодных излучений. Результаты этих исследований неоднозначны, поскольку используемые параметры излучений не всегда являются оптимальными. Ранее при изучении влияния низкоинтенсивного красного и ближнего инфракрасного излучений от светодиодных матриц, He-Ne лазера и рентгеновского излучения (РИ) на активацию резерва естественной защиты мышей *in vivo* с помощью теста «адаптивный ответ» (АО) нами было показано, что при всех излучениях он выявлялся. В связи с этим целью настоящей работы было исследование защитной реакции организма в зависимости от величины поглощенной дозы He-Ne лазерного и рентгеновского излучений в костном мозге, лимфоидных органах и крови мышей *in vivo* по критериям цитогенетического повреждения, относительной массы тимуса и селезенки, уровню повреждения ДНК и продукции АФК. Двухмесячных самцов мышей линии SHK облучали адаптирующими дозами He-Ne лазера (633 нм, 0.16 мВт/см<sup>2</sup>, 0.7 мВт) в область носа в течение 1, 5, 30, 100, 120 и 300 с, что соответствует поглощенным дозам 0.4, 2, 12, 40, 48, 120 мДж или РИ (0.1 Гр/мин, 200 кВ, 8 мА) в дозах 0.05, 0.1, 0.5 Гр (2, 4, 20 мДж соответственно), а затем облучены выявляющей дозой 1.5 Гр РИ. Животные контрольной группы были облучены только в дозе 1.5 Гр. Через 28 ч после облучения выявляющей дозой мышей выводили из эксперимента методом декапитации и готовили препараты костного мозга для подсчета полихроматофильных эритроцитов (ПХЭ) с микроядрами (МЯ) и крови для определения повреждений ДНК с помощью «комета-теста», а также определяли относительную массу лимфоидных органов. На экспериментальную точку использовали 5 мышей и анализировали 10000 ПХЭ. Одновременно измеряли уровень продукции АФК в цельной крови методом люминол-зависимой хемилюминесценции с помощью 12-канального прибора CHEMILUM-12. Для оценки статистической достоверности различий между группами использовали t-критерий Стьюдента.

В результате проведенных экспериментов показано, что при обработке мышей низкоинтенсивным He-Ne лазерным и рентгеновским излучениями в клетках костного мозга и цельной крови наблюдается индукция АО, которая зависит от величины поглощенной дозы и коррелирует с изменением уровня продукции АФК. Таким образом, при воздействии низкоинтенсивными неионизирующим и ионизирующим излучениями на мышей *in vivo* наблюдается активация естественной защиты организма в одинаковом диапазоне поглощенных доз, что позволяет предположить о схожем механизме его индукции.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ № 14-02-00808 и РНФ №14-25-00055.*

**ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ АМОРФНОГО КРЕМНЕЗЁМА НА СОРБЦИЮ МИКРООРГАНИЗМОВ И ПЕСТИЦИДОВ****Influence of amorphous silica structure on sorption of microorganisms and pesticides****Земнухова Л.А.1, Харченко У.В.1, Бабушкина Т.А.2, Арефьева О.Д.3**

1 – Институт химии ДВО РАН, 690068, Владивосток, проспект 100-летия Владивостока, 159

2 – Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 28; 3-Дальневосточный федеральный университет, 690950, Владивосток, ул. Суханова, 8

e-mail: laz@ich.dvo.ru

Актуальной задачей современной промышленности является вовлечение в переработку возобновляемого растительного сырья, в том числе огромных объемов отходов сельскохозяйственных культур однолетних растений. Основные достоинства такого сырья – его ежегодная воспроизводимость, невысокая стоимость и практически постоянный химический состав для одного вида растений. Известно, что отходы производства риса (солома, шелуха или лузга) представляют собой перспективный источник получения кремнийсодержащих продуктов, которые могут быть использованы для сорбции различных органических соединений и тяжелых металлов [1, 2]. В настоящей работе исследованы аморфные кремнийсодержащие образцы (диоксид кремния и алюмосиликаты натрия), полученные термическим способом и осаждением из отходов производства риса (соломы и шелухи), в качестве сорбентов из водных растворов пестицида 2,4-Д и тестовых культур условно патогенных штаммов микроорганизмов (*Escherichia coli*, *Staphilococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Bacillus subtilis*) и ассоциации пресноводных бактерий. Результаты исследования обсуждены в сопоставлении с физико-химическими параметрами сорбентов – их составом, величиной удельной поверхности, размером пор и значением дзета потенциала.

Сравнение адсорбционных свойств образцов биогенного происхождения проводили относительно коммерческих препаратов, полученных из минерального сырья. Анализ физико-химических свойств исследуемых образцов показал, что все они относятся к мезопористым сорбентам: диаметр пор колеблется в области 3.9 – 20.1 нм. При этом значения удельной поверхности кремнийсодержащих образцов значительно отличаются между собой и зависят как от сырья (солома или шелуха), так и от схемы получения продукта. В ходе исследований были выявлены образцы с величиной удельной поверхности от 30 до 479 м<sup>2</sup>/г. Установлено, что наибольшую сорбционную ёмкость по отношению к изученным бактериям проявляют образцы аморфного диоксида кремния, выделенные из шелухи риса как термическим способом, так и методом осаждения из щелочных гидролизатов сырья, а также образец алюмосиликата натрия. Изучаемые образцы сорбировали 98% клеток *S. aureus*, 95% клеток *C. albicans*, 70-95% *P. aeruginosa*, 40-60% *B. subtilis* и до 80% клеток из пресноводной ассоциации. Полученные данные свидетельствуют о том, что кремнийсодержащие продукты, выделенные из отходов производства риса, являются эффективными сорбентами микроорганизмов и остаточных количеств пестицида 2,4-Д.

Исследование выполнено при поддержке ДВФУ, проект № 14-08-03-33\_и.

1. Земнухова Л.А. и др. / Неорганические материалы, 2014. Т. 50. С. 23-24.
2. Холомейдик А.Н., Земнухова Л.А. / Экология и промышленность России (ЭЖИП), 2011, ноябрь. С. 34-35.

## ФТОРИДНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ СУРЬМЫ(III) И ИХ ДЕЙСТВИЕ НА НЕКОТОРЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ

### Antimony(III) fluoride compounds and their effect to some biological objects

**Земнухова Л.А.1, Ковалёва Е.А.1, Харченко У.В.1, Кузнецов С.И.2**

1-Институт химии ДВО РАН, 690068, Владивосток, проспект 100-летия Владивостока, 159

2 – Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 28

e-mail: laz@ich.dvo.ru

Интерес к химии координационных соединений связан с пересечением в этой области задач разных наук – химии, биохимии, физики и биофизики. В частности, внимание исследователей в конце прошлого века привлекли комплексные органические соединения сурьмы(III) в качестве перспективных объектов для медицины в связи с обнаружением у некоторых из них противоопухолевых свойств. Представляет интерес и большое семейство комплексных фторидов сурьмы(III), среди которых обнаружены вещества с ценными для практики электрофизическими и оптическими свойствами, перспективными для создания новых материалов с пьезо- и сегнетоэлектрическими параметрами, высокой ионной проводимостью [1]. Однако их биологические свойства мало изучены.

Цель работы – выявить степень воздействия фторсодержащих соединений сурьмы(III) на биологические организмы разных уровней и провести корреляции между их составом, строением и экотоксикологическими свойствами.

Исследованы следующие соединения:  $Sb_2O_3$ ,  $SbF_3$ , MF (M = Na, K, Rb, Cs,  $NH_4$ , Tl, катионы некоторых аминокислот алифатического ряда) и комплексные фтороантимонаты(III), полученные на их основе, состава  $MSb_4F_{13}$ ,  $MSb_3F_{10}$ ,  $MSb_2F_7$ ,  $M_3Sb_4F_{15}$ ,  $MSbF_4$  и  $M_2SbF_5$ . Для характеристики координационных соединений использовались методы химического, рентгенофазового и рентгеноструктурного анализа, а также ИК-, ЯКР  $^{121,123}Sb$ - и ЯМР  $^{19}F$ ,  $^1H$ - спектроскопии. Определена устойчивость фторидных комплексов сурьмы(III) с катионами щелочных металлов и аминокислот в водном растворе к процессу гидролиза. Показано также, что в зависимости от внешнесферного катиона электрофизические свойства изоструктурных при комнатной температуре фтороантимонатов(III) изменяются от температуры.

Проведен скрининг биологического действия указанных выше соединений на морской бактериоценоз, морскую водоросль *Ulva fenestrata*, морские обрастатели и опухолевые клетки линии K562. Выявлены вещества, тормозящие и стимулирующие процессы жизнедеятельности разных биологических объектов. Установлено, что экотоксикологические свойства фторидных комплексных соединений сурьмы(III) зависят от состава вещества, а в ряду однотипных комплексов – от природы катиона. Предложен ряд веществ для использования их в качестве противоопухолевых препаратов. Анализ взаимосвязи состава, строения и биологического действия фтороантимонатов(III) показал, что степень влияния одного и того же по составу вещества разная в зависимости от биологического объекта. Активность соединений при одной и той же концентрации на конкретный тест-объект определяется как составом вещества, так и его строением.

1. Zemnukhova L.A., Udovenko A.A., Makarenko N.V., et al. / J.Fluor.Chem., 2013. V. 156. P. 298-302.

**ОЦЕНКА ВКЛАДОВ СИМПЛАСТНОГО И ТРАНСМЕМБРАННОГО ПЕРЕНОСА ВОДЫ В КОРНЯХ РАСТЕНИЙ ПРИ СТРЕССОВЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ МЕТОДОМ ЯМР-ДИФФУЗОМЕТРИИ****Estimation of contribution of symplast and transmembrane water transfer in plant roots under stress conditions by NMR method of diffusion measurement*****Ионенко И.Ф., Сибгатуллин Т.А.***

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, 420111, ул. Лобачевского, 2/31, Казань, Россия  
e-mail: ionenko@kibb.knc.ru

Механизмы, лежащие в основе устойчивости растений к различным абиотическим факторам среды, являются предметом многочисленных исследований. Особое место отводится механизмам регуляции процессов поглощения и транспорта воды, обеспечивающим сохранение жизнеспособности и продуктивности растений при резком изменении внешних условий. При этом первостепенное значение в преодолении стрессовых условий имеет регуляция водопоглотительной функции корней. Современная модель радиального транспорта воды в корне предполагает наличие трех разных путей – апопластного, симпластного и трансмембранного, вклад которых может существенно меняться при изменении внешних условий. Молекулярные, физиологические и биофизические исследования продемонстрировали, что в модуляции гидравлической проводимости корня преимущественную роль играют аквапорины – трансмембранные водопроводящие каналы.

В данной работе для сравнения эффектов водного и солевого стрессов в рамках изменения водопроницаемости межклеточных путей переноса, исследовалось влияние разных осмотиков (ПЭГ-6000, NaCl, -0.4 МПа) на корни интактных проростков кукурузы и пшеницы во временном интервале от 0 до 5 часов. Об изменениях водопроницаемости судили из измерений эффективного коэффициента диффузии воды  $D_{ef}$  методом ЯМР-диффузометрии в сочетании с ингибиторным анализом (выявление роли аквапоринов) и парамагнитным допингом (контрастирование водопереноса по симпласту). Исследована динамика суммарной водопроницаемости корней при непосредственном действии на корни осмотиков, а также их последствие, и оценен вклад разных транспортных путей для воды (симпласт, аквапорины, липидная фаза мембран) в изменение проводимости корней у транспирирующих растений и у растений с отсеченной надземной частью. Обнаружены различия в суммарном переносе воды при действии осмотиков различной природы, но одинаковой осмотической силы. Общей (неспецифической) составляющей ответа на разные осмотики было усиление трансмембранного водопереноса, обусловленного повышением активности аквапоринов. Изменения в симпластном переносе носили более специфический характер: его вклад мало изменялся при ПЭГ-индуцированном водном стрессе, а при действии NaCl – уменьшался. Выявлены различия в динамике водопроницаемости клеток корней у разных культур в условиях осмотического стресса, которые были связаны как с исходной величиной водопроницаемости клеток, так и со способностью к переключению радиального потока воды в корне («из клетки в клетку», апопласт). Полученные данные могут служить критерием при определении стратегии ответа на водный дефицит и засухоустойчивости растений.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 13-04-01203*

## **ВЛИЯНИЕ НИТРОГЛИЦЕРИНА НА СПЕКТРАЛЬНЫЕ И КИСЛОРОДСВЯЗЫВАЮЩИЕ СВОЙСТВА ВНУТРИЭРИТРОЦИТАРНОГО ГЕМОГЛОБИНА ЧЕЛОВЕКА**

### **The influence of nitroglycerin on spectral and oxygen binding properties of intracellular human hemoglobin**

***Калаева Е.А., Артюхов В.Г., Путинцева О.В., Полюбезьева А.И.***

Воронежский государственный университет, 394006, г. Воронеж, Университетская пл., 1.

*e-mail: office@main.vsu.ru*

Одним из побочных эффектов, возникающих при передозировке нитроглицерина, является метгемоглобинемия [1]. Выяснение механизмов нитрит-индуцированного окисления гемоглобина остается одним из актуальных направлений исследования физиологического и токсического действия препаратов-доноров NO.

Нативные образцы HbO<sub>2</sub> в составе эритроцитов характеризовались величиной давления полунасыщения P<sub>50</sub> = 25,18±0,51 мм рт. ст. и константой Хилла n=2,22±0,12. Содержание оксигенированного гемоглобина при парциальном давлении кислорода 40 мм рт. ст. составило 80,63±0,77 %, при 100 мм рт. ст. — 95,29±0,46 %, артериально-венозная разность содержания HbO<sub>2</sub> была равна 14,73±0,62 %.

При внесении нитроглицерина в концентрациях 5 нг/мл и 5 мкг/мл в эритроцитарную суспензию наблюдали уменьшение P<sub>50</sub> при концентрации модификатора 5 нг/мл до 21,1±0,74 мм рт. ст., при 5 мкг/мл – до 20,3±1,21 мм рт. ст.; константа Хилла снизилась до 2,07±0,06 (5 нг/мл) и 1,77±0,09 (5 мкг/мл). Таким образом, нитроглицерин индуцировал возрастание сродства внутриэритроцитарного гемоглобина к кислороду и ослабление кооперативного взаимодействия субъединиц внутри молекул белка. Данное явление, вероятно, связано с накоплением окисленного гемоглобина в клетке.

После 20-минутной инкубации эритроцитарной суспензии с нитроглицерином (5 нг/мл и 5 мкг/мл) статистически значимых изменений спектральных характеристик выявлено не было. Увеличение времени инкубации до 3 часов вызывало сдвиг полосы Сорэ до 416 нм и сглаживание максимума поглощения при 275 нм. 24-часовая инкубация приводила к исчезновению полос поглощения при 350, 542 и 577 нм, а пик при 275 нм был выражен слабо, максимум полосы Сорэ сдвинулся в область коротких длин волн до 406-408 нм, что свидетельствует о накоплении метформы гемоглобина в эритроцитах.

Воздействие нитроглицерина на клеточную суспензию в течение 20 минут и 3 часов не оказывало выраженного негативного влияния на физиологические свойства эритроцитов, однако при более длительном взаимодействии клеток крови с модификатором происходил их частичный гемолиз и выход гемоглобина во внеклеточное пространство.

Таким образом, нитроглицерин индуцировал изменение кислородсвязывающих свойств внутриэритроцитарного гемоглобина, а при длительном воздействии (24 часа) — окисление гембелка и лизис клеток. Поэтому мониторинг структурно-функционального состояния эритроцитов пациентов, длительное время регулярно принимающих нитроглицерин, необходимо для выявления и исключения негативного воздействия лекарственного препарата на снабжение кислородом организма в условиях сердечно-сосудистой патологии.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ДЕЙСТВИЯ ФЛАВОНОИДОВ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И АНТИГЕННЫЕ СВОЙСТВА ГЛИКОПОЛИМЕРОВ ПОВЕРХНОСТИ AZOSPIRILLUM BRASILENSE****Investigation of flavonoid action on physicochemical and antigenic properties of *Azospirillum brasilense* surface glycopolymers**

***М.В. Каневский 1,2, А.А. Петрунина 2, Бурьгин Г.Л.1, Гулий О.И.1, Ю.П. Федоненко 1, С.А. Коннова 2***

1 – Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

2 – Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского

Тел.: +7 (8452) 97-04-44; факс: +7 (8452) 97-03-83; e-mail: matvejkanev@mail.ru

В настоящее время актуальным является вопрос изучения механизма растительно-микробного симбиоза. На примере бобово-ризобияльного симбиоза показано, что флавоноиды – вторичные метаболиты растений фенольной природы – опосредуют специфичность пары, и под их влиянием происходят изменения физико-химических свойств поверхности бактериальной клетки, необходимые для успешного формирования клубеньков [1]. Однако роль флавоноидов в ассоциативном симбиозе практически не изучена. Известно, что diaзотрофные ризобактерии рода *Azospirillum* вступают в ассоциации с широким кругом растений, характеризующихся разнообразием состава и количества флавоноидов в экссудатах.

Целью данного исследования являлось изучение действия разных концентраций флавоноидов (на примере широко распространённых кверцетина и рутина) на физико-химические и антигенные свойства гликополимеров поверхности бактерий *A. brasilense* Sp7, Sp245 и SR55. Основываясь на литературных данных о содержании флавоноидов в почве [2], для исследования нами был выбран диапазон концентраций кверцетина и рутина: 31,25 мкМ – 2 мМ. Методом электрооптического анализа клеточных суспензий было показано, что культивирование азоспирилл в присутствии флавоноидов приводило к изменению величины электрооптического эффекта (ЭОЭ), свидетельствующее об изменении заряда поверхности клетки. Однако концентрационно-зависимого изменения ЭОЭ не наблюдалось. Установлено, что под действием кверцетина в концентрации до 500 мкМ происходило увеличение относительной гидрофобности поверхности бактериальных клеток на 35-40%. Культивирование бактерий в присутствии более высоких концентраций флавоноида приводило к возрастанию показателя на 60-80%. Выращивание бактерий в присутствии рутина не приводило к изменению данного показателя. Методом ДСН-ПААГ электрофореза было показано, что выращивание бактерий в присутствии флавоноидов приводило к изменению макромолекулярной организации липополисахарида (ЛПС) – основного гликополимера внешней мембраны бактерий. В ходе эксперимента наблюдалось специфическое изменение соотношения разных по длине О-цепи фракций ЛПС в ответ на воздействие кверцетина и рутина в исследуемых концентрациях. Методом ИФА было выявлено изменение уровня сродства антител к ЛПС гомологичных штаммов, выращенных в присутствии флавоноидов. Это может быть обусловлено более высокой представленностью антигенам антигенных детерминант, изменением структуры повторяющегося звена О-цепи в составе ЛПС или изменением макромолекулярной организации ЛПС. Учитывая вышесказанное, можно предположить, что флавоноиды, содержащиеся в экссудатах корней, путем специфического изменения макромолекулярной организации и состава ЛПС бактерий могут влиять на эффективность реализации начальных стадий взаимодействия микроорганизма с корнем растения-ассоцианта.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (проект 14-04-01658).

1. Broughton W.J. et al., / Journal of Bacteriology, 2006. V. 88. P. 3654-3663.
2. Shahidi F., Nazck M. / CRC Press, 2006. 565 p.

## БИОФИЗИЧЕСКОЕ И БИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ КОСМИЧЕСКИХ СЛАБЫХ ИЗЛУЧЕНИЙ, МЕХАНИЗМЫ ЕГО УСИЛЕНИЯ

### Biophysical and biological action of weak cosmic irradiations, mechanisms of its intensification

*Кожокару А.Ф.1, Юров С.С.1, Дмитриевский И.М.2*

1-ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, ул. Институтская, 3,  
2-Национальный исследовательский ядерный университет (МИФИ), М., Каширское шоссе, 32  
*aurelium@inbox.ru*

Приводится краткий обзор действия на микроорганизмы, растительные и животные биологические объекты слабых радиационных факторов низкой нетепловой интенсивности – поляризованного света, реликтового излучения (РИ), вторичного биогенного излучения (ВБИ), природного радиационного фона (ПРФ), СВЧ ЭМИ,  $\gamma$ -излучения, к которым наблюдается сверхчувствительность этих объектов. Д.С.Чернавским выяснено, что в усилительных механизмах влияния сигналов низкой интенсивности не хватает коэффициента усиления, равного, по крайней мере,  $10^4$ . Такой коэффициент мы обнаружили экспериментально при воздействии слабого светового излучения (СИ) в случае повышенной остроты зрения у космонавтов. Предложен магнито-резонансный механизм при действии ЯМР и ЭПР для объяснения усиления этого воздействия при поляризации отражаемого от земной атмосферы СИ и для описания слабых взаимодействий в ядерной физике [1]. РИ – сверхслабое космическое изотропное фотонное излучение СВЧ ЭМИ, излучаемое плазмой после начала образования атомов H, He, а сейчас – черным телом. РИ обнаруживается как шумовое микроволновое радиоизлучение, близкое по длине волны  $\lambda=0,05-50$  см к инфракрасному (ИК). Энергия фотонов РИ в 3 тыс. раз меньше, чем видимого света, на Земле она максимальна при  $\lambda=7,35$  см. РИ имеет неполяризованную составляющую, постоянную по величине, и в  $10^4$  раз более эффективную-поляризованную. Поляризация компоненты может происходить за счет ее магнито-резонансного поглощения планетами, звездами, определяющего ее величину. Мы полагаем, что энергия поляризованной компоненты РИ может поглощаться электронами атомов путем ЯМР и ЭПР, атомы начинают излучать первичное поляризованное излучение, при его накоплении в живых клетках образуется поляризованное ВБИ, поддерживающее жизнь биоты и мембранный потенциал клетки. На семенах томатов, подвергнутых 6-летнему космическому полету, нами показано «оживляющее» действие ВБИ культуры дрожжей *Sporobolomyces* за счет их  $\gamma$ -облучения низкими дозами  $10^2-5 \cdot 10^8$  сГр, сравнимыми с ПРФ: стимулировалось деление клеток и всхожесть семян увеличивалась почти на 50%, выявлялись условно-летальные мутации [2]. РИ и другие космические излучения, а также атомное излучение радионуклидов, действующие на Земле, проявляются как ПРФ с ППЭ  $1$  мкВт/см<sup>2</sup>. Нами было показано, что ПРФ в норме и при увеличении его интенсивности на 1-2 порядка способствовал возрастанию выживаемости и снижению мутаций старых летальных клеток *E.coli*, дрожжей. Нами и другими авторами при действии ПРФ показаны также стимуляция роста и развития различных биологических объектов, появление ВБИ, образующего в организме ЭМ поле. Выявлено положительное влияние на живые организмы СВЧ ЭМИ с параметрами РИ при увеличении ППЭ. Показано радиозащитное и противоопухолевое действие сверхслабого ( $5 \pm 1,5$  мкВт/см<sup>2</sup>) СВЧ ЭМИ (2-27 ГГц) при летальном  $\gamma$ -облучении лабораторных животных за счет изменения гидратных оболочек биомолекул, физико-химических свойств воды и мембран, ионного транспорта и регуляции ДНК, стимуляции энергетики клетки и иммунной системы [3]. Показано антигипоксическое, репарационное, противовоспалительное действие СВЧ ЭМИ 4,1-4,3 ГГц, 100 мкВт/см<sup>2</sup> в клинике. А.М.Кузиным была высказана гипотеза о том, что малые дозы различных видов излучений не ионизируют, а возбуждают биомолекулы. Их стимулирующее действие на метаболизм живых организмов может быть обусловлено ЭМИ в ИК, видимом или УФ свете, излучаемым возбужденными электронами. РИ и СИ являются мощными факторами зарождения, адаптации и эволюции жизни на Земле.

1. Дмитриевский И.М. и др. Совр. пробл. науки и образ. 2008. № 5. С. 7-17.
2. Юров С.С. и др. Там же, с. 24-30.
3. A. F. Cojocar et al. Biophysics. 2005. V.50. Suppl. 1. P. 116-123, 141-156.



**СОНОДИНАМИЧЕСКОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ КЛЕТОК: ВОЗМОЖНЫЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ****Sonodynamic cell damage: putative physicochemical mechanisms**

***Колосов М.С., Арефьев Р.А., Кучма Е.А., Яценко В.К.***

Южный федеральный университет, 344006, Ростов-на-Дону, ул. Б. Садовая 105/42

Тел.: 8(863)218-40-00, e-mail: msk@sfedu.ru

Сонодинамический эффект – повышение цитотоксичности некоторых веществ под действием низкоинтенсивного ультразвука. В большинстве работ сонодинамическое повреждение клеток наблюдали при использовании в качестве сенсibiliзирующих агентов фотосенсибилизаторы – вещества, повышающие чувствительность к свету, и опосредующие фотодинамическое повреждение клеток, известное как фтодинамический эффект. Физико-химические механизмы фтодинамического эффекта подробно изучены, а сам эффект вследствие избирательности накопления фотосенсибилизаторов в злокачественных новообразованиях с успехом используется для терапии опухолей некоторых локализаций. Недостатком фотодинамической терапии (ФДТ) является плохая проницаемость биологических тканей для света, необходимого для активации фотосенсибилизатора. Сонодинамическая терапия могла бы компенсировать этот недостаток за счет более глубокой проницаемости ультразвука. Однако физико-химические механизмы сонодинамического эффекта не ясны. Есть данные об участии в сонодинамическом повреждении клеток активных форм кислорода (АФК), в частности пероксида водорода. При этом конкретные пути образования АФК под действием ультразвука (УЗ) в присутствии сенсibiliзаторов остаются невыясненными. В настоящей работе мы изучили образование пероксида водорода, а также цитотоксический эффект при совместном действии ультразвука и одного из фотосенсибилизаторов, используемых в клинической практике ФДТ – Фотосенса (НИОПИК, Москва), который представляет собой смесь алюмофталоцианинов разной степени сульфирования. Образование перекиси водорода оценивали по стандартной методике, измеряя оптическую плотность раствора диаммонийной соли 2,2'-азино-бис(3-этил-2,3-дигидробензтиазолин-6-сульфоновой кислоты) (ABTS) с пероксидазой хрена, который приобретает окраску в присутствии  $H_2O_2$ . Озвучивание этого раствора непрерывным УЗ (2,64 МГц, 3 Вт/см<sup>2</sup>) в присутствии Фотосенса ( $10^{-7}$ - $10^{-5}$  М) в течение 5 или 10 минут не приводило к спектрофотометрически регистрируемым изменениям его окраски. При этом детектируемое увеличение оптической плотности раствора происходило при внесении субмикромольных концентраций  $H_2O_2$ . Цитотоксичность совместного действия Фотосенса и УЗ исследовали на модельном объекте – изолированном механорецепторе речного рака, состоящем из рецепторного нейрона и окружающих глиальных клеток. Ультразвук ни сам по себе, ни в сочетании с Фотосенсом ( $10^{-7}$ - $10^{-5}$  М) не оказывал влияния на импульсную активность нейрона при озвучивании препарата длительностью до 2 часов. Также, мы не наблюдали сонодинамического влияния Фотосенса на выживаемость глиальных клеток, которую оценивали путем двойного флуорохромирования живых и мертвых клеток с помощью Hoechst и иодида пропидия, соответственно. По-видимому, для наблюдения выраженного эффекта сонодинамического повреждения клеток необходим более тщательный подбор условий воздействия. В частности подбор частоты и мощности ультразвука, а также соносенсибилизующего вещества. Некоторые литературные данные указывают на то, что высокой сонодинамической эффективностью должны обладать вещества, молекулы которых способны образовывать комплексы. Последние могут служить зародышами кавитационных пузырьков, образующихся в среде под действием УЗ. Ранее было показано, что цитотоксический эффект способны вызывать осцилляции, а также схлопывания кавитационных пузырьков, которые сопровождалась образованием активных форм кислорода.

## ЯДЕРНЫЙ СПИНОВЫЙ КАТАЛИЗ В БИМОЛЕКУЛЯРНЫХ НАНОРЕАКТОРАХ: МАГНИТНЫЙ ИЗОТОП МАГНИЯ УСКОРЯЕТ РЕАКЦИЮ ГИДРОЛИЗА АТФ МИОЗИНОМ

**Nuclear spin catalysis in biomolecular nanoreactors: magnetic isotope of magnesium accelerates the reaction of ATP hydrolysis catalyzed by myosin**

***Кольтовер В.К. 1, Лабынцева Р.Д. 2, Карандашев В.К. 3, Костерин С.А. 2***

1 – Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка, Московская область, Россия

2 – Институт биохимии им. А.В. Палладина НАН Украины, Киев, Украина

3 – Институт проблем технологии микроэлектроники и особо чистых материалов РАН, Черноголовка, Московская область, Россия

*e-mail: koltover@icp.ac.ru; e-mail: kinet@biochem.kiev.ua*

Из трех стабильных изотопов магния,  $^{24}\text{Mg}$ ,  $^{25}\text{Mg}$  и  $^{26}\text{Mg}$  (природное соотношение ~79, 10 и 11%),  $^{25}\text{Mg}$  является магнитным изотопом (имеет ядерный спин  $I = 5/2$ ) и, соответственно, создает магнитное поле, тогда как  $^{24}\text{Mg}$  и  $^{26}\text{Mg}$  не имеют ядерного спина ( $I=0$ ) и не создают магнитного поля. В экспериментах с клетками, обогащенными различными изотопами магния, были обнаружены магнитно-изотопные эффекты (МИЭ) изотопа  $^{25}\text{Mg}$  (ядерный спиновый катализ) [1]. В настоящем сообщении представлены результаты экспериментов по влиянию различных изотопов магния на АТФ-азную активность субфрагмента-1 миозина [2]. Эксперименты выполнялись с препаратами фермента, выделенными в разное время из матки трех разных животных (свиней). С каждым из трех препаратов фермента были выполнены по три-четыре эксперимента по измерению АТФ-азной активности с каждым из изотопов. В каждой экспериментальной серии наблюдался один и тот же статистически-достоверный эффект, а именно: с магнитным изотопом,  $^{25}\text{Mg}$ , скорость ферментативного гидролиза АТФ была в 2 – 2.5 раза выше, чем с немагнитным изотопом,  $^{24}\text{Mg}$  или  $^{26}\text{Mg}$ . Эффект наблюдался при физиологической концентрации хлорида магния (5 мМ). Анализ элементного состава образцов (методами атомной эмиссионной спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения) показал, что причиной обнаруженных различий не могли служить примеси каких-либо посторонних элементов. При использовании немагнитных изотопов  $^{24}\text{Mg}$  и  $^{26}\text{Mg}$  существенных различий в активности фермента не обнаружено. Кроме того, эффект магнитного изотопа не наблюдался в отсутствие фермента – при спонтанном гидролизе АТФ в водном растворе. Таким образом, получен впервые магнитный изотопный эффект в ферментативном гидролизе АТФ миозином. Из химической физики известно, что МИЭ однозначно свидетельствует о том, что суммарная реакция лимитируется такой стадией, для прохождения которой необходимо изменить суммарный электронный спин системы, и что эта лимитирующая стадия ускоряется магнитным полем ядерного спина магнитного изотопа [3]. Известно также, что за счет энергии АТФ в миозине возникает конформационно-напряженное состояние, по сути – деформация макромолекулы, благодаря чему химическая энергия гидролиза АТФ используется для совершения механической работы. Однако энергии, выделяющейся при гидролизе АТФ (~0.54 эВ), недостаточно для перехода в возбужденное синглетное состояние ( $S = 0$ ), тогда как переход в низколежащее триплетное состояние (суммарный электронный спин  $S = 1$ ) из основного состояния запрещен законом сохранения спина. Можно предположить, что магнитное поле ядерного спина  $^{25}\text{Mg}$  снимает спиновый запрет и, таким образом, ускоряет работу фермента.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект № 14-04-00593а.*

1. Кольтовер В.К. / Биофизика. 2013. Т. 58. С. 257-263.

2. Koltover V.K., Labyntseva R.D. et al. / Reports Nat. Acad. Sci. Ukraine. 2014. № 1. P. 163-170.

3. Зельдович Я.Б., Бучаченко А.Л., Франкевич Е.Л. / Успехи физ. наук. 1988. Т. 155. С. 3-45.

**ОСОБЕННОСТИ ОТВЕТНЫХ РЕАКЦИЙ ПАРАМЕТРОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ НА ХРОНИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ МАЛЫХ ДОЗ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ У ЖИВОТНЫХ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ****Peculiarities of responses parameters of peroxidation of lipids to chronic impact of small doses of ionizing radiation in animals of natural populations*****Кудяшева А.Г., Загорская Н.Г.***

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, тел.:8(8212)43-04-78, e-mail: kud@ib.komisc.ru

Определение клеточных механизмов регуляции у мышевидных грызунов к повышенному уровню радиоактивного загрязнения среды имеет большое значение с точки зрения развития адаптивных реакций в разные периоды численности популяции. Целью работы явилось — определение корреляционных взаимосвязей между параметрами состава фосфолипидов (ФЛ), физико-химическими характеристиками липидов и морфофизиологическими показателями печени полевок-экономок (*Microtus oeconomus Pall.*), отловленных в разные фазы численности, обитавших на фоновых и опытных участках с повышенным содержанием радионуклидов (радиевый, урано-радиевый) в районе бывшего радиевого производства (Республика Коми). Результаты показали возрастание внутривнутрипопуляционной изменчивости исследуемых параметров у полевок на радиевом участке, как в фазе пика, так и спада численности зверьков. Уровень значимости корреляций зависит от пола, участка обитания и фазы численности полевок. Достоверные нарушения корреляционных взаимосвязей отмечены в фазу спада численности животных. Показано наличие прямой корреляции между содержанием лизоформ ФЛ (ЛФХ) и индексом печени полевок (самки), отловленных в фазу пика численности на контрольном участке, отсутствие аналогичной корреляции в печени зверьков с радиевого участка и изменение знака корреляции у полевок урано-радиевого участка. В фазе спада численности прямая корреляционная зависимость между данными показателями обнаружена на всех участках. У зверьков контрольного участка в фазе пика численности отмечено наличие обратной значимой корреляции между индексом печени и долей ФЛ в составе общих липидов, у полевок радиевого стационара взаимосвязь практически исчезает и слабо выражена у зверьков урано-радиевого участка. В год спада численности знак зависимости сохраняется на радиевом участке, при этом у полевок контрольного участка имеет место прямая корреляция. Найдена высокая обратная корреляция между ФХ—ЛФХ. Рост коэффициента корреляции происходит по мере загрязненности участка одновременно с ростом коэффициента линейной регрессии, что указывает на активное образование лизоформ фосфолипидов из ФХ, особенно обнаруженное на спаде численности. Взаимосвязь между параметрами, характеризующими структурное состояние мембранной системы органа и окисляемость его ФЛ, более выражена на радиевом участке, как при низкой, так и при высокой плотности популяций полевок. Длительное обитание полевок на участках, загрязненных тяжелыми естественными радионуклидами, приводит к изменению масштаба взаимосвязей между индексом печени и содержанием фосфолипидов в составе общих липидов и/или долей лизоформ фосфолипидов, способностью липидов к окислению и отношением основных фракций фосфолипидов, свидетельствуя об отсутствии линейной зависимости изменения исследованных параметров от уровня загрязненности участка обитания полевок радионуклидами, фазы численности животных, вызывая при этом дисбаланс биохимических функций в печени.

Финансовая поддержка программы Президиума РАН (проект №0414-2015-0024).

## ИЗОТОПНЫЕ ЭФФЕКТЫ D<sub>2</sub>O. РЕШАЕМЫЕ ЗАДАЧИ И НЕРЕШЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ

### Isotopic effects of D<sub>2</sub>O. Accomplished tasks and non solved problems

**Лобышев В.И.**

Физический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы 1, стр. 2

*e-mail: lobyshev@yandex.ru*

На основании анализа литературных данных и результатов собственных исследований обсуждаются информативность используемых методов изотопного замещения растворителя, характерные ошибки при их использовании и нерешенные проблемы, вскрытые этими методами. До сих пор до 30% работ проводят при условии  $rH=rD$ , где  $rD$  рассчитывается путем прибавления 0,4 к показаниям pH-метра в растворах тяжелой воды. Это условие соответствует проведению экспериментов при разном значении pH растворов, что может быть очень существенным в интерпретации изотопных эффектов. Водородные связи с участием атома дейтерия более прочные по сравнению с обычной водородной связью, что делает возможным оценку количества прочно связанной воды с биополимерами при денатурационных переходах. Более детальную информацию дают исследования в воде с переменным изотопным составом [1]. По характеру нелинейности можно судить о количестве протонов, принимающих участие в ферментативных реакциях. Этот метод получивший название в англоязычной литературе – метод «инвентаризации протонов» [2], практически не используется отечественными исследователями. Применение этого метода к исследованию фотоцикла бактериородопсина позволило выявить различие механизмов переноса протона при возникновении и исчезновении M и O промежуточных продуктов медленных стадий фотоцикла [3]. Аналогичный подход к термоденатурации белков указывает на необходимость учета связанной воды, а величина изотопного эффекта в энтальпии перехода пропорциональна количеству прочно связанной воды. В растворах тяжелой воды всегда наблюдается увеличение термостабильности биополимеров, при этом увеличивается и оптимальная температура обитания дрожофил [4]. При уменьшении температуры до 10<sup>0</sup>С характер изотопных эффектов резко меняется, что свидетельствует об изменении механизмов гидролиза АТФ мембраносодержащими белками и фотоцикла бактериородопсина. При небольшом увеличении концентрации дейтерия в воде при комнатной температуре наблюдается аномально высокая активация гидролитической активности мембранного препарата Na,K- и Ca-АТФаз, в отличие от миозиновой АТФазы. Было установлено, что неожиданно большие изотопные эффекты в модельных системах и живых объектах можно получать как при увеличении, так и уменьшении содержания дейтерия в воде относительно его нормального содержания [5]. Все эти феномены, как и длительная адаптация клеток к тяжелой воде еще ждут адекватного объяснения.

1. Лобышев В.И., Калиниченко Л.П. Изотопные эффекты D<sub>2</sub>O в биологических системах. Наука, М., 1978.
2. Schowen K., Schowen R. Solvent Isotopic Effects on Enzyme Systems. / Methods in Enzymology. 1982, V.87, P.551.
3. Lobyshev V.I., Li Qingguo, Cheng Jiji. / J. Fudan Univ. /Natural Sci./,1990, V.29, N3, p.327-334.
4. Alexandrov V.Ya., Ponomarenko V.V., Ivanova G.O. / J. Therm. Biol., 1985, P.205-207.
5. Киркина А. А., Лобышев В. И., и др. / Биофизика, 2014, Т.59, №2, 399-407.

**АНАЛИЗ ГАЗОВОГО ПОТОКА, ГЕНЕРИРУЕМОГО АППАРАТОМ ДЛЯ СИНГЛЕТНО-КИСЛОРОДНОЙ ТЕРАПИИ****Analysis of gas flow, generating with device for singlet oxygen therapy*****Мартусевич А.А.1, Веснин Р.Л.2, Мартусевич А.К.1, Алалыкин А.А.2***

1 – ФГБУ «ПФМИЦ» Минздрава России, 603155, Нижний Новгород, Верхне-Волжская наб., 18/1

2 – ФГБОУ ВПО «ВГУ», 610000, Киров, ул. Московская, д. 36

*e-mail: cryst-mart@yandex.ru*

В настоящее время установлено, что активные формы кислорода (АФК) обладают высоким саногенетическим потенциалом при различной патологии человека и животных. В то же время важно подчеркнуть, что основной объем данных касается озона. Возможности использования в лечебных целях других АФК, в частности синглетного кислорода, раскрыты минимально. Следует отметить, что ассортимент технических средств для их генерации крайне узок и представлен лишь аппаратом «Airnergy» (Германия) и созданной на Украине установкой. При этом, несмотря на наличие данных о клинической эффективности подобной технологии, состав газовых смесей, как и исследование молекулярно-клеточных механизмов действия указанной АФК, отсутствуют. На этом основании целью работы явилось комплексное изучение продуктов, создаваемых генератором «Airnergy Professional plus». На 1 этапе работы выполнена оценка состава газового потока от аппарата «Airnergy Professional plus» с помощью методов газовой хроматографии и газовой масс-спектрометрии. Анализ производили при двух мощностях генератора (режимы «50%» и «100%»). Газовую хроматографию потока, получаемого от исследуемого аппарата, проводили на хроматографе «GC-2010» (режим «Split»). Исследования газового потока осуществляли на газовом хроматомасс-спектрометре GCMS-QP2010 Plus («Шимадзу», Япония). На 2 этапе оценивали физико-химические параметры (рН, окислительно-восстановительного потенциала, содержания растворенного кислорода) дистиллированной воды (ДВ) и физиологического раствора (ФР) до и сразу по окончании их барботирования газовым потоком. В качестве контроля, с которым сопоставляли действие изучаемого потока, использовали чистый молекулярный кислород и озono-кислородную смесь. Уровень рН и окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) растворов определяли портативным рН-метром «HI-8314» (Румыния). Температурный градиент и содержание растворенного кислорода оценивали с применением оксигенометра «Oxygenmeter ATT-3010» (Тайвань). Кислородно-озоновую смесь генерировали на озонаторе «Медозонс ВМ» (Россия), создавая концентрации озона 500, 5000 и 10000 мкг/л. Продолжительность обработки жидкости во всех случаях составляла 10 минут. Статистическую обработку результатов производили с использованием программы Statistica 6.1 for Windows.

*Результаты.* Анализ газового потока, получаемого от аппарата «Airnergy», позволил подтвердить наличие модификации воздушного потока генератором и образование промежуточных и некоторых конечных продуктов радикальных реакций, инициированных синтезом синглетного кислорода, уже в самом потоке. Проведенные модельные эксперименты на абиогенных жидкостях на основании анализа ряда физико-химических показателей (рН, окислительно-восстановительный потенциал, содержание растворенного кислорода) указали на неидентичность действия на данные среды озono- и синглетно-кислородной газовых смесей, что косвенно свидетельствует о существенных различиях их компонентного состава и окислительного потенциала.

## ВЛИЯНИЕ СВОБОДНОГО И ДЕПОНИРОВАННОГО ОКСИДА АЗОТА НА КРИСТАЛЛОГЕННЫЕ СВОЙСТВА СЫВОРОТКИ КРОВИ IN VITRO

### Influence of free and bound nitric oxide on crystallogenic properties of blood serum in vitro

***Мартусевич А.К.1,2, Ковалева Л.К.1, Давыдюк А.В.2***

1 – ФГБУ «ФМИЦ» Минздрава России, 603155, Нижний Новгород, Верхне-Волжская наб., 18/1

2 – ФГБОУ ВПО «НГСХА», 603097, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 97

*e-mail: cryst-mart@yandex.ru*

Известно, что оксид азота (NO) оказывает многогранное действие на биологические системы [1]. При этом одним из комплексных индикаторов физико-химического и компонентного состава биологической жидкости служат ее кристаллогенные свойства [2]. В то же время сведения о характере влияния биорадикалов на них единичны [3]. В связи с этим, *целью работы* служила оценка влияния оксида азота на кристаллогенные свойства сыворотки крови человека. *Материал и методы исследования.* Материалом исследования служили образцы крови 15 практически здоровых людей- доноров. Изучен характер реакции цельной консервированной крови на воздействие свободного и депонированного оксида азота. Для проведения эксперимента кровь разделяли на 8 порций (интактную, на которую не оказывали воздействий, и 7 опытных, подвергшихся обработке). Объем каждой порции составлял 5 мл. Производили прямой барботаж шести опытных образцов крови газообразным оксидом азота, генерированным аппаратом «Плазон» при стандартной мощности (концентрация NO – 800 ppm) и десятикратно разведенным потоком от данного прибора (80 ppm), а также экспериментальным аппаратом для синтеза оксида азота, созданным в РФЯЦ (концентрации оксида азота – 20, 50, 75 и 100 ppm). Время барботирования – 3 мин., экспозиция после воздействия – 5 мин. В седьмой опытный образец крови добавляли 0,1 мл. свежеполученного водного раствора ДНКЖ (концентрация соединения, определенная спектрофотометрически по известным экстинкциям при длинах волны 310 и 360 нм., – 3 ммоль/л). Синтез ДНКЖ производили по методике А.Ф. Ванина с соавт. (2005). Экспозиция после введения соединения также составляла 5 мин. Полученную сыворотку 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 [3]. Высушенные микропрепараты оценивали морфологически и визуаметрически. Статистическую обработку результатов производили с использованием программы Statistica 6.1 for Windows. *Результаты.* Установлено, что результат влияния монооксида азота на кристаллогенные свойства сыворотки крови непосредственно определяется концентрацией NO и его формой (свободной или депонированной), а также наличием примесей активных форм кислорода. При этом наиболее выраженный стимулирующий эффект выявлен для депонированной формы оксида азота – динитрозильных комплексов железа с глутатионовыми лигандами. Низкие концентрации монооксида азота оказывают модулирующее действие на кристаллогенные свойства сыворотки крови человека, причем наиболее оптимальным стимулирующим эффектом обладает газовый поток с концентрацией оксида азота 20 ppm. Напротив, высокие концентрации NO (800 ppm) способствуют ингибированию кристаллогенной активности биосреды, многократно повышая степень деструкции структурных элементов и приводя к формированию дополнительной фазы в краевой зоне микропрепарата.

1. Костюк В.А., Потапович А.И. Биорадикалы и биоантиоксиданты. Минск: БГУ, 2004.

2. Мартусевич А.К., Мартусевич А.А., Соловьева А.Г., Перетягин С.П. / Биофизика. 2014. 59. 369-372.

3. Мартусевич А.К., Перетягин С.П. / Биофизика. 2013. Т. 58. Вып. 6. С. 1038-1042.

**РОЛЬ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КЛЕТОЧНЫХ СТЕНОККОРНЯ В МИНЕРАЛЬНОМ ПИТАНИИ И ВОДНОМ РЕЖИМЕ РАСТЕНИЙ****The role of root cell wall physicochemical properties in mineral nutrition and water relations of plants****Мейчик Н.Р.**

Биологический факультет МГУ, 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д.1, стр.12  
Тел.: +7 (495) 939-27-76; факс: +7 (495) 939-43-09; e-mail: meychik@mail.ru

Клеточная стенка (КС) корня, являющаяся частью апопласта – сложноорганизованная и многофункциональная система. Этот компартмент первым контактирует с наружным раствором и модифицирует его состав за счет реакций обмена между ионогенными группами полимерного матрикса и ионами среды, тем самым регулируя поступление веществ в корни растений. Эффективность такой модификации определяется физико-химическими свойствами стенки, которые находятся под контролем клетки: клеточные стенки являются не только чрезвычайно сложными, но и динамичными системами, состав и организация которых могут изменяться в процессе онтогенеза и под действием внешних факторов. Оценка физико-химических характеристик КС корня с использованием методов химии полимеров позволила выявить существенные механизмы, контролирующие поглощающую способность корней как в нормальных, так и экстремальных условиях минерального питания, получить информацию о том, как модифицируются свойства апопласта в разных условиях питания, какова роль физико-химических свойств этого компартмента в минеральном питании и водном режиме растений в разных условиях окружающей среды. КС – природный ионообменник, является твердой мембраной, а происходящие в ней процессы набухания, взаимодействие с водой, определяют ее осмотическое давление. Выявлено, что изменение в набухании, которое определяется физико-химическими свойствами КС, в ответ на варьирование внешних или внутренних условий, представляет собой элемент механизма регулирования объемного тока воды по корню. Установлено, что ионообменные свойства КС отличаются не только у растений разных систематических групп, но изменяются также в разных тканях одного растения. Принято считать, что сосуды проводящих элементов, обеспечивающие дальний транспорт воды и ионов по ксилеме, служат для переноса массового транспирационного тока. Наши результаты расширяют эти представления, демонстрируя взаимодействие катионов раствора и ионогенных групп КС сосудов, характер которых зависит от условий минерального питания. Показано, что КС сосудов ксилемы представляют собой компартмент, одна из физиологических функций которого заключается в поддержании ионного гомеостаза в клетках растущих органов при изменении условий питания. Оценка ионообменных свойств полимерного матрикса КС разных по солеустойчивости растений позволила установить, что ионообменные реакции в КС являются важным специфическим звеном в развитии реакций устойчивости растений на действие засоления. Выявлена роль внеклеточного механизма защиты клеток корня от токсического воздействия  $Ni^{2+}$  и  $Cu^{2+}$  у растений *Triticum aestivum* L. и *Vignaradiata* (L.). Результаты дают основание полагать, что у этих растений в некоторых диапазонах концентраций  $Me^{2+}$  депонирование  $Ni^{2+}$  и  $Cu^{2+}$  в клеточные стенки, физико-химические свойства которых определяют эффективность связывания металлов, является основным механизмом защиты клеток от воздействия избыточных концентраций этих токсичных ионов.

## **ДЕЙСТВИЕ СЛАБЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ НА ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЮ КРОВИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ**

### **Action of weak magnetic fields on the chemiluminescence in mammalian blood**

**Новиков В.В., Яблокова Е.В., Фесенко Е.Е.**

Учреждение Российской академии наук Институт биофизики клетки РАН,  
142290, Пущино Московской области, ул. Институтская, 3  
Тел.: +7(495)625-59-84; факс: +7(4967)33-05-09; e-mail: [docmag@mail.ru](mailto:docmag@mail.ru)

Проведено исследование, направленное на экспериментальный анализ возможности генерации свободных радикалов кровью млекопитающих при действии комбинированных магнитных полей (МП) с крайне слабой переменной низкочастотной компонентой [1]. Для определения радикалов и других АФК в крови млекопитающих в работе использован метод хемилюминесценции (ХЛ), основанный на регистрации ХЛ в присутствии химических активаторов.

Показано, что воздействие комбинированными постоянным МП (42 мкТл) и коллинеарным ему очень слабым переменным низкочастотным МП (1 Гц, 600 нТл; 4,4 Гц, 100 нТл; 16,5 Гц, 160 нТл) на гепаринизированную и разбавленную фосфатным буфером венозную кровь человека и крысы при физиологических температурах, вызывает резкое 2-4 кратное усиление ее хемилюминесценции, после добавки люминола. Влияние комбинированных МП проявляется при уменьшении амплитуды переменной компоненты поля вплоть до 100 нТл. Предварительная добавка к образцам крови ловушек свободных радикалов – МСI-186 (эдаравон) или блокаторов НАДФН-оксидазы (апоцинин) в экспериментах нивелировало этот эффект действие слабого МП, что явно указывает на вовлеченность свободнорадикальных процессов в механизм его реализации.

Полученные данные помогут выяснить причины активации источников радикалов при действии слабых МП и последствия их действия на мишени, и будут использованы для анализа механизма биологического действия слабого МП и определения его экологической значимости. Это способствует определенному прогрессу в исследованиях эффектов и механизмов действия слабых и крайне слабых постоянных и переменных МП с параметрами, соответствующими диапазону естественных (геомагнитных) и искусственных (техногенных) МП – нано - и микротесловые интенсивности и низкие частоты (единицы, десятки и сотни Гц).

*Работа поддержана грантом № 14-44-03676 р\_центр\_а РФФИ и Правительства Московской области.*

1. Новиков В.В., Яблокова Е.В., Фесенко Е.Е. / Биофизика, 2015. Т.60. №3. С.530-533.



**УПРАВЛЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИМ СОСТАВОМ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ В НЕПРЕРЫВНОМ РЕЖИМЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ****The control biochemical composition of microalgae in the continuous cultivation****Новикова Т.М..1, Тренкеншу Р.П.2**

1 – ФГБУН Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН, 299011, Севастополь, пр. Нахимова, 2;

2 – ФГАОУ ВО Севастопольский государственный университет, 299053, Севастополь, ул. Университетская, 33

Тел.: +7(8692) 55-07-95; e-mail: [nowTanj@yandex.ru](mailto:nowTanj@yandex.ru)

Многочисленными экспериментальными исследованиями показано, что в накопительной культуре микроводорослей всегда можно выделить линейный участок (линейная фаза роста). Такой рост связан с постоянством скорости продукции биомассы. При переходе в квазинепрерывный режим выращивания скорость роста остается на прежнем уровне. Показано также, что в зависимости от плотности культуры значительно изменяется содержание пигментов и белков в биомассе. В тоже время, самым изменяющимся фактором являются световые условия, в которых находятся клетки микроводорослей. Наиболее вероятным представляется, что изменяющиеся световые условия по-разному воздействуют на скорости синтеза тех или иных биохимических составляющих клеток, приводя в итоге к постоянству скорости роста. Однако для верификации модельных уравнений трансформации биохимических соединений необходимо постоянство условий культивирования, что можно обеспечить так называемым режимом «рейтстата», в котором скорости синтеза остаются постоянными. Термин рейтстат предложен в качестве замены термину спидостат [1] одним из авторов цитируемой работы Ю.Л. Гуревичем (в личной беседе). В этой работе впервые предположили управлять культурой микроводорослей с импульсным разведением питательной средой до необходимой плотности таким образом, чтобы продуктивность была постоянной. Для объяснения постоянства скорости роста нами предложена математическая модель, которая описывает скорости синтеза основных биохимических составляющих клеток микроводорослей: белков, углеводов и липидов. В основу модели положено представление о двух основных составляющих клеток, структурных и резервных компонентов. Такое разделение является общепринятым. При этом резервные (запасные) составляющие являются промежуточными соединениями, которые могут быть использованы для синтеза структурных компонентов. Кроме того белковые соединения в модели не разделены и предполагается, что ферменты участвующие в реакциях синтеза пропорциональны количеству белка в клетке. Формализация таких представлений позволила получить динамическую модель зависимости скоростей синтеза белков, углеводов и липидов от параметров внешней среды [2].

В предлагаемой работе приведены результаты экспериментального и математического моделирования биохимических процессов, приводящих к линейному росту плотности культуры микроводорослей, определение границы этих плотностей и изменения общего биохимического состава микроводорослей. Таким образом, разработана теория рейтстата, позволяющая выбрать такую плотность культуры, чтобы получать биомассу с заданным биохимическим составом клеток. Приводятся также упрощенные модели для практического управления биосинтезом микроводорослей.

1. Гуревич Ю.Л., Ковров Б.Г. Доклады АН СССР, 1967, т. 174, № 1, с. 213.

2. Тренкеншу Р.П., Новикова Т.М. // Морской экологический журнал. – 2014. – Т. 13, no. 4. – С. 71-78.

## МАГНИТНОЕ ПОЛЕ – ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКТОР В ЖИЗНИ РАСТЕНИЙ

### Magnetic field – ecological factor in plant life

**Новицкая Г.В. Новицкий Ю.И.**

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, 12776, Москва, ул. Ботаническая, 35

Тел.:(499) 977-83-33; e-mail: yinov@ippras.ru

Изучали влияние слабого постоянного магнитного поля (ПМП) напряженностью 400 А/м на состав и содержание липидов в листьях взрослых растений и семенах магнитоориентационных типов (МОТ) редиса северо-южного (СЮ) и западно-восточного (ЗВ), у которых плоскость ориентации корневых борозд на корнеплоде проходит вдоль или поперек магнитного меридиана, а также в листьях салата (*Lactuca sativa* L.) сорта Каменная головка и лука (*Allium cepa* L.) сорта Арзамасский. Растения редиса выращивали в оранжерее весной в условиях, приближенных к естественным, лук и салат в камере ИФР в контролируемых условиях света, влажности и температуры. ПМП создавали кольцами Гельмгольца, питаемыми постоянным током. Контрольные растения также росли в кольцах Гельмгольца, но ток через них не пропускали, напряженность поля в контроле составляла 31 А/м и вектор ее был направлен под углом 73° к горизонту.

Содержание липидов – полярных (ПЛ) и нейтральных (НЛ) определяли с помощью метода ТСХ. Среди ПЛ обнаружены гликолипиды (ГЛ) и фосфолипиды (ФЛ). Среди гликолипидов идентифицированы моногалактозилдиацилглицерины (МГДГ), дигалактозилдиацилглицерины (ДГДГ), сульфохиновозилдиацилглицерины (СХДГ). ФЛ были представлены фосфатидилхолинами (ФХ), фосфатидилэтаноламинами (ФЭ), фосфатидилглицеринами (ФГ), фосфатидилинозитами (ФИ), дифосфатидилглицеринами (ДФГ), а также фосфатидилсеринами (ФС) и фосфатидной кислотой (ФК).

Слабое ПМП изменяло содержание липидов мембран хлоропластов (МГДГ, ДГДГ, СХДГ и ФГ), митохондрий (ФХ и ФЭ) и цитоплазматической (ФИ) у всех трех культур.

Наибольшее влияние ПМП оказало на содержание главного липида мембран хлоропластов – МГДГ, входящего в состав реакционного центра фотосистемы II. Слабое ПМП увеличивало содержание липидов мембран хлоропластов, митохондрий и цитоплазматической в листьях лука, но уменьшало в листьях салата. В листьях редиса ПМП уменьшало или увеличивало содержание липидов мембран хлоропластов, митохондрий и цитоплазматической в зависимости от сезона или принадлежности особи к одному из основных МОТ – СЮ или ЗВ. У ЗВ МОТ содержание липидов мембран увеличивается под действием поля. На долю СЮ МОТ приходится более 60% от общего числа растений в популяции. Поэтому уменьшение содержания липидов мембран растительной клетки происходит именно у СЮ МОТ, который является преобладающим. Слабое ПМП увеличивало отношение фосфолипиды/стеринаы (ФЛ/СТ) – косвенный показатель увеличения жидкостности липидного бислоя мембран у всех трех культур. Повышение жидкостности липидного бислоя мембран под действием ПМП увеличивает выносливость этих растений к действию неблагоприятных факторов внешней среды. Изменение под влиянием ПМП содержания липидов мембран хлоропластов, митохондрий и цитоплазматической у растений редиса, салата и лука позволяет сделать вывод, что данная закономерность, по-видимому, относится ко всем растениям в целом. На основании приведенных данных следует заключить, что слабое постоянное магнитное поле является для растений экологически значимым фактором.

**ДЕЙСТВИЕ НЕПРЕРЫВНОГО И МОДУЛИРОВАННОГО УЛЬТРАЗВУКА НА КЛЕТКИ КРОВИ ЖИВОТНЫХ IN VITRO****The in vitro-effects of continuous and modulated ultrasound in animal blood cells****Олешкевич А.А.**

ФГБОУ ВПО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени Скрябина К.И., 109472, Москва, ул. Скрябина, 23  
Тел. +7(495)377-72-66; e-mail: kompsotita@gmail.com

В результате изучения особенностей взаимодействия непрерывного ультразвука (УЗ) 880 кГц на биосистему установлено, что интенсивность 0,05 Вт/см<sup>2</sup> (5–30с) не влияет на лейкограмму и жизнеспособность клеток крови здоровых животных. При увеличении экспозиции отмечался возрастающий цитоцидный эффект в первую очередь у больных и старых или ослабленных животных. Динамика изменений лейкограммы и цитоморфологии может являться диагностическим критерием при выявлении ранних стадий или латентных заболеваний.

Исследование особенностей действия модулированного УЗ позволило выявить диапазон интенсивностей, необратимо изменяющих проницаемость ЦПМ тромбоцитов животных (лошадь, собака, кошка), не нарушая её целостности и не влияя отрицательно на структуру и окраску клеток крови: 2,64 МГц, бегущая волна, импульсный режим I<sub>SATA</sub> 0,05–0,7 Вт/см<sup>2</sup>, 15с. Это даст возможность разработать метод дифференциальной окраски всех форменных элементов одновременно одним стандартным набором красителей.

Выявлены следующие цитоморфологические эффекты действия модулированного УЗ (несущая частота 880 кГц, модуляция 10–1000 Гц).

1. Эритроциты. Изменение формы: вытягивание клеток с постепенным образованием утолщений на противоположных концах ("гантели") и последующим наложением двух клеток крест-накрест, анизоцитоз. Формирование симметричных групп вокруг клетки и цепочек эритроцитов без признаков разрушения или цитолиза, тогда как лейкоциты уже модифицированы. Возможно появление теней клеток. Видовые особенности диапазона и спектров активных частот: *собака* — 0,2–0,7 Вт/см<sup>2</sup> 10–20 Гц, 30–50с; *лошадь* — 0,05–0,2 Вт/см<sup>2</sup> 200 Гц 45–50с; 0,05 Вт/см<sup>2</sup> 100 Гц 60с и 10000 Гц 30с; 0,05 Вт/см<sup>2</sup> 500 Гц 45с (тени клеток); 0,05 Вт/см<sup>2</sup> 90 Гц 45–50с; 0,4 Вт/см<sup>2</sup> 10 Гц 30–45с; 0,4 Вт/см<sup>2</sup> 800 Гц 45–50с; 0,7 Вт/см<sup>2</sup> 100 Гц 45с; *кошка* — 0,4–0,7 Вт/см<sup>2</sup> 800 Гц 30–45с; 0,7 Вт/см<sup>2</sup> 10 Гц 30–45с.

2. Лейкоциты. Изменение лейкограмм при равноэнергетическом воздействии зависело от вида (размер клеток!). С определённой долей осторожности можно отметить следующие общие особенности. Лейкоциты реагируют значительно раньше эритроцитов, спустя 15–20с от начала озвучивания активными частотами. Действие на гранулоциты, ведущее к изменению ЦПМ, а затем клетки в целом, начинается раньше, чем на агранулоциты. В малых лимфоцитах дегенеративные изменения начинались значительно позже — через 60–90 с. При времени облучения выше 30 с из-за резкого изменения морфологии и деформации клеток затруднено их распознавание, при этом из числа типичных клеток 10% с разрушенной ЦПМ. В зависимости от экспозиции у всех видов животных происходят одинаковые эффекты: лейкопения, цитолиз, деструкция и агрегация клеток, вспенивание цитоплазмы гранулоцитов, разрыв ЦПМ и взрыв ядер (общий диапазон: 0,2–0,4 Вт/см<sup>2</sup>, 10–100 Гц), их деформация, вплоть до нарушения границ (например, *собака* — 0,05 Вт/см<sup>2</sup> 800 Гц от 15с).

## ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОГРАММНОГО ПАКЕТА «HARFA» ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЛИЯНИЯ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ

### Technical abilities of the software «HarFA» package for the physical factors' effect determination in biological objects

**Олешкевич А.А.1, Носовский А.М.2, Пашовкин Т.Н.3**

1 – ФГБОУ ВПО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени Скрябина К.И., 109472, Москва, ул. Скрябина, 23

2 – ФГБУН РФ Институт медико - биологических проблем РАН, 123007, Москва, Хорошевское шоссе 76 а

3 – ФГБУН Институт биофизики клетки РАН; 142290, Пущино, Московская область, ул. Институтская, 3

Тел. +7(495)377-72-66; e-mail: kompsotita@gmail.com

Программный пакет "HarFA" применяли для определения диаметра и количества микроорганизмов по анализу изображений их колоний [1]. Авторами исследована возможность проведения объективной цитоморфологической оценки состояния клеток крови в целом без выявления характерных особенностей каждой клетки в отдельности после физического воздействия. В качестве объективной компоненты анализа использовали числовые значения фрактальной размерности, полученные в ходе автоматического распознавания в заданном режиме. Фрактальную размерность биологических объектов (количественно характеризующую поведение биологической системы) определяли с помощью пакета «HarFA», особенность которого – способность самостоятельно преобразовывать цветное изображение в чёрно-белое, что является важным фактором для получения достоверных результатов фрактального анализа. В процессе исследования проводили предварительную рентгено, термическую (-20°C.+30°C), ультразвуковую (непрерывный, модуляция) или сочетанную обработку образцов крови различных видов животных (кошка, собака, лошадь) *in vitro* с последующим приготовлением мазков и их окраской дифференциальными красителями. Полученные препараты фотографировали со средним разрешением от 72 до 300 пикселей/дюйм, анализировали полученные образы в программе с построением уравнений регрессии, выбором: шага разбиения в диапазоне от 0,1 до 0,001, цветовых комбинаций  $BW$ ,  $B+BW$ ,  $W+BW$ , анализом изменения фрактальной размерности, амплитуды фрактального спектра и вида гистограмм. Вариабельность числового значения фрактальной размерности позволяет сделать вывод о наличии/ отсутствии воздействия фактора на организм в целом и дифференцированно на отдельные клетки. Анализ уравнений регрессии и соответствующих графиков говорит о фрактальной структуре исследуемых биологических объектов. А сравнив сдвиг гистограмм и изменение фрактальной размерности, можно сделать вывод об отсутствии самоподобия исследуемых объектов до и после УЗ обработки, и как следствие, говорить об обнаружении воздействия фактора на клетки. Сопоставление изменения показателей фрактального анализа клеток крови после воздействия рентгена, температуры, акустического или сочетанного подтверждает точность, объективность и информативность разрабатываемой методики. Степень изменения состояния ткани, регистрируемого данной программой, напрямую зависела от увеличения дозы воздействия. Положительные результаты позволяют диагностировать состояние ткани после физио-, радио-, лучевой или рентгенотерапии, прогнозировать течение репаративного процесса, контролировать и корректировать в процессе лечения или обследования дозу воздействия в каждом отдельном случае, изменяя и подбирая её индивидуально. Таким образом, можно сделать предположение, что программный пакет «HarFA» позволит объективно выявлять изменения в клеточной структуре биологических объектов на разных этапах заболевания и при различных воздействующих факторах.

1. M. Vesela et al. / HarFA – Harmonic and Fractal Image Analysis, 2002, p. 21 – 22.

**МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК MDBK И ИНТЕНСИВНОСТИ СВЕЧЕНИЯ A.°FISCHERI ПОСЛЕ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ****Mathematical models of MDBK cell culture proliferative activity and of A.°Fischeri bacterial luminescence intensity after ultrasonic exposure*****Олешкевич А.А.1, Пашовкин Т.Н.2***

1 – ФГБОУ ВПО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени Скрыбина К.И., 109472, Москва, ул. Скрыбина, 23

2 – ФГБУН Институт биофизики клетки РАН; 142290, Пущино, Московская область, ул. Институтская, 3

Тел. +7(495)377-72-66; e-mail: kompsotita@gmail.com

Морские люминесцирующие бактерии используются в качестве биосенсоров, т.к. благодаря люциферазе и различным типам чувствительных структур, объективно и быстро реагируют на воздействие факторов разной природы. Нами изучено влияние ультразвука (УЗ) на ростовые и эмиссионные характеристики культуры *Alivibro fischeri*-6, определены параметры супрессии и стимуляции (880 кГц, 3 мин,  $I_{\text{SATA}}$  0,4 Вт/см<sup>2</sup>, режим непрерывный, стоячая волна) роста и биохемилюминесценции. Процесс был оценен методами дисперсионного анализа с построением математических моделей в программе CurveExpert 1.4. С учётом значений коэффициентов и функций для конкретного эксперимента или рассчитанных по показателям каждого эксперимента были найдены математические модели, описывающие изменение интенсивности свечения бактерий в опытах и контроле: *Reciprocal Quadratic*  $y=1/(a+bx+cx^2)$  и *Rational Function*  $y=(a+bx)/(1+cx+dx^2)$ . Последняя признана наиболее адекватной, как имеющая минимальное значение дисперсии  $S=0,3$  и максимальную корреляцию  $r=0,995$ . В контроле  $a=0,023$ ;  $b=0,078$ ;  $c=-0,041$ ;  $d=0,002$ . После УЗ  $a=-0,38$ ;  $b=0,004$ ;  $c=-0,116$ ;  $d=0,004$ .

Также был найден режим УЗ стимуляции пролиферативной активности перевиваемой культуры клеток почки телёнка MDBK (880 кГц, непрерывный режим, стоячая волна) и построены математические модели для 5-, 10- и 30-секундного озвучивания,  $I_{\text{SATA}}$  0,02; 0,03 и 0,05 Вт/см<sup>2</sup>, т.к. данная экспозиция вызывала максимальный клеточный ответ. Зависимость пролиферативной активности от УЗ интенсивности после 5с воздействия была определена: *Bleasdale Model*  $y=(a+bx)^{-1/c}$ ; *Quadratic function*  $y=a+bx+cx^2$ ; *Vapor Pressure Model*  $y=e^{a+b/x+\ln(x)}$ ; *Harris Model*  $y=1/(a+bx^c)$ ; *Modified Hoerl Model*  $y=ab^{1/x}x^c$ ; *Reciprocal Quadratic*  $y=1/(a+bx+cx^2)$  и *logarithm model*  $y=a+b\ln(x)$ . Те же функции, но с другими коэффициентами описывали результат 10- и 30с- обработки. Методом множественной регрессии был найден математический закон, описывающий пролиферативную активность культуры клеток в зависимости от интенсивности действующего УЗ, – *Modified Hoerl Model*, со значением  $S=0,0001$  и максимальной корреляцией  $r=0,999$ . Для 5с экспозиции коэффициенты уравнения равны:  $a=9,13$ ,  $b=9,60$ ,  $c=-9,82$ . Для 10 секунд  $a=1,16$ ,  $b=9,62$ ,  $c=-9,38$ ; для 30 секунд коэффициенты уравнения равны:  $a=6,88$ ,  $b=9,84$ ,  $c=-1,20$ . Из графиков видно, что изменение пролиферативного индекса подчиняется одному закону при трёх различных экспозициях. Рост MDBK происходит по экспоненте.

Таким образом, получены уравнения с расчётными коэффициентами, адекватно отражающие отклик микроорганизмов и культуры MDBK на УЗ воздействие. Необходимо отметить, что определены несколько моделей, одновременно описывающих пролиферацию и бактерий и клеток животного происхождения после стимулирующего действия УЗ. Поиск закономерности в конкретных числовых значениях коэффициентов — предмет дальнейших исследований.

## ФАКТОРЫ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ, СНИЖАЮЩИЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН

### Factors of different nature, reduces damage to cell membranes

***Пирутин С.К., Дружко А.Б.***

1- Московский Государственный университет им. М. В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра биофизики, 119899, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 24, Россия

2-ИТЭБ РАН, 142290, Пущино, Московская область, ул. Институтская, 3, Россия

Тел.: +7(905)730-24-21; e-mail: [pirutin@yandex.ru](mailto:pirutin@yandex.ru)

На сегодняшний момент известно, что клеточная мембрана является одной из основных мишеней различного типа патогенных воздействий естественного и антропогенного характера. В связи с этим значительный интерес представляет поиск факторов различной природы способных уменьшать повреждение мембран при такого рода воздействиях. Значительную часть известных повреждающих воздействий составляет электромагнитные излучения различных диапазонов. Важная роль отводится изучению повреждающего воздействия УФ излучения, вызванного процессом перекисного окисления липидов (ПОЛ), который инициируется этим излучением.

Считается, что при действии какого-либо модифицирующего фактора клеточная мембрана может повреждаться излучением в меньшей степени, если данный фактор либо изменяет структуру мембраны таким образом, что она становится более устойчивой к действию процесса ПОЛ, либо (и) активирует антиоксидантные системы клетки. т.е. повышает эндогенный фон резистентности клеток.

В качестве патогенного излучения, выбрано УФ излучение средневолнового диапазона. В работе рассмотрено защитное действие на мембраны таких факторов как, дальний красный сват, ионы  $H^+$  и  $Ca^{2+}$ , а так же ноотропный пептидный препарат семакс. Объектом исследования служили перитонеальные макрофаги мышей. Работа проведена с использованием микрофлуориметрического метода анализа одиночных клеток с помощью флуоресцентных зондов.

Обнаружено, что при одновременном действии дальнего красного света и патогенного излучения мембраны макрофагов повреждаются тем меньше, чем больше содержание красного в действующем излучении. Снижение внутри и внеклеточного pH приводит к более стабильному состоянию клеточные мембраны и как следствие к уменьшению повреждения их патогенным излучением. В работе также обнаружено, что снижение концентрации  $Ca^{2+}$  в среде инкубации клеток уменьшает повреждение мембран последних по сравнению с таковым в стандартной среде инкубации. Изучено стабилизирующее действие на мембраны макрофагов ноотропного пептидного препарата семакса. Работа обсуждается с целью изучения общих механизмов защиты клеточных мембран и самих биологических объектов от различных излучений и патогенных факторов различной природы.

1. Пирутин С. К., Туровецкий В. Б., Кудряшов Ю. Б., Рубин А. Б. // Радиационная биология. Радиозэкология. 2002, т. 42, № 2, с. 151 – 154.

2. Пирутин С.К., Туровецкий В.Б., Одгаева О.В., Каменский А.А. // Вестн. Моск. ун-та. Сер.16, 2007; №3, с.3-5.

3. S. K. Pirutin, V. B. Turovetskii, and Yu. B. Kudryashov // Biophysics, 2010, Vol. 55, No. 1, pp. 148–150.

4. Пирутин С. К., Туровецкий В. Б., Кудряшов Ю. Б. // Радиационная биология. Радиозэкология. 2011. Т. 51. №4. с. 419-424.

**ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ МЕТОДЫ В ИЗУЧЕНИИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ИОНОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ (МЕДИ, СВИНЦА И КАДМИЯ) С БЫЧЬИМ СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ****Luminescent methods for study of heavy metals ions (copper, lead and cadmium) interaction with bovine serum albumin****Плотникова О. А., Мельников А. Г., Коваленко А.В., Мельников Г. В.**

Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А., 410054 Саратов, ул. Политехническая, 77

Тел.: +7(962)617-31-03; e-mail: djachuko@mail.ru

Альбумины составляют более половины массы белков плазмы крови. Важным свойством сывороточных альбуминов является связывание и транспортирование различных лигандов: гормонов, лекарств, жирных кислот, в том числе и ионов металлов [1]. Связываться с белком могут не только физиологически необходимые для организма металлы, но также и токсичные тяжелые металлы [2]. В связи с этим актуальным для современной медицины и биотехнологии является исследование взаимодействия и связывания тяжелых металлов с белковыми макромолекулами.

Целью данной работы было исследование взаимодействия тяжелых металлов: Cu (II), Pb (II) и Cd(II), с бычьим сывороточным альбумином (БСА) по данным тушения собственной флуоресценции белка.

При введении в раствор БСА тяжелых металлов, в концентрациях менее  $10^{-4}$  М, наблюдалось общее снижение интенсивности флуоресценции триптофанилов БСА без значительных изменений положения максимумов в спектре флуоресценции триптофанилов. Данный результат свидетельствует об отсутствии изменений в микроокружении флуорофоров и, как следствие, в общей глобулярной структуре белка.

Анализ спектров поглощения БСА выявил изменения в спектрах поглощения белка при добавлении в раствор тяжелых металлов. В связи с этим, было сделано предположение об образовании нефлуоресцирующих комплексов в основном состоянии ионов металлов с молекулой белка, следовательно, о возможном статическом тушении возбужденных состояний флуорофоров белка БСА – триптофанилов, что согласуется с литературными данными [3].

Получены зависимости Штерна-Фольмера тушения флуоресценции триптофанилов БСА для выбранных тяжелых металлов. Прямолинейная зависимость указывает на одинаковую доступность триптофанилов БСА для образования нефлуоресцирующих комплексов с выбранными ионами тяжелых металлов. В предположении статического варианта тушения были сделаны количественные оценки взаимодействия БСА с тяжелыми металлами. Определены характеристики связывания ионов тяжелых металлов с белком, значения которых уменьшались при переходе от меди к свинцу и кадмию. Предположено, что более значительное тушение флуоресценции триптофанилов БСА ионами меди, объясняется эффективным образованием комплексов белок-ион меди.

Полученные результаты могут найти применение при создании люминесцентных биосенсоров для определения солей тяжелых металлов в биосистемах.

*Государственное задание № 4.1299.2014/К Минобрнауки России, грант РФФИ мол\_a №12-02-31196*

1. Bal W., Sokotowska M., Kurowska E., and Faller P. /Biochim. Biophys. Acta. 2013. V. 1830. 5444–5455.
2. Сергеева И. А., Ширшин Е. А., Жданова Н. Г., Гибизова В. В., Петрова Г. П., Кургузенков С. А, Фадеев В.В./Опт. и спектр.2013. Т. 115. № 2. С. 201-206.
3. Liu Y., Chen M., Jiang L., and Song L. /Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2014. V. 21. № 11. P. 6994–7005.

## **ВЛИЯНИЕ КРАСНОГО СВЕТА И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО ПЕПТИДА НА ОСТЕОГЕННУЮ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА IN VITRO**

**Influence of light and biologically active peptide on osteogenic differentiation of marrow-derived mesenchymal stem cells in vitro**

**Решетников Д.А.1,2, Рыццов Г.К.1,2, Чернов А.С.1**

1—Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290, Пущино, ул. Институтская, 3

2 – Пущинский государственный естественно-научный институт, 142290, Пущино, пр. Науки, 3  
Тел.: +7(4967)739148; факс: +7(4967) 33-05-53; e-mail: c.h.e.r.n.o.v@rambler.ru

Согласно ВОЗ, остеопороз (заболевание костно-мышечной системы (КМС)) занимает 4 место после сердечно-сосудистых, онкологических заболеваний и сахарного диабета. Медицинские препараты не всегда эффективны и могут вызывать побочные эффекты. В клеточной терапии все чаще применяют мезенхимальные стволовые клетки (МСК) костного мозга для лечения различных заболеваний, в том числе и КМС. Благодаря низкой иммуногенности и иммуномодулирующей активности, МСК потенциально могут выступать в роли активных индукторов репаративных процессов. Однако с возрастом количество, жизнеспособность и дифференцировочный потенциал собственных МСК сильно снижается. Поэтому важным является поиск физико-химических факторов, которые позволят повысить жизнеспособность и дифференцировочный потенциал собственных МСК, что в свою очередь отразится на регенеративном потенциале организма и использовать аутологичные стволовые клетки не зависимо от возраста пациента. Цель работы – исследовать совместное действие красного света ( $\lambda=633\text{нм}$ ) от светодиодной матрицы и синтетического пептида циклопентарфина (фрагмента тяжелой цепи иммуноглобулина G) на жизнеспособность, метаболическую активность и остеогенную дифференцировку МСК, полученных от мышей разных возрастных групп. МСК выделяли из костного мозга бедренной кости 10- и 25-недельных мышей линии NMRI. Клетки культивировали в среде  $\alpha$ -MEM с 10% FBS при 37°C в 5% CO<sub>2</sub>. Критериями отбора МСК были: а) адгезия к пластику и фибробластоподобная морфология, б) экспрессия CD44, GATA3 и отсутствие экспрессии CD34, в) дифференцироваться в остеобласты в индукционной среде. Жизнеспособность клеток оценивали с помощью флуоресцентного набора Live/Dead Kit. Метаболическую активность оценивали с помощью МТТ-теста. Оценку остеогенной дифференцировки проводили окрашиванием кальциевых депозитов ализарином красным. Облучение МСК красным светом проводили однократно в течение 15 мин в начале культивирования, параллельно вносили 0,1 мкМ циклопентарфина. Контрольные клетки были интактными. Было установлено, что полученные клетки относятся к МСК (повышенная адгезия к пластику, фибробластоподобная форма, экспрессия CD44, GATA3, формирование кальциевых депозитов). Количество жизнеспособных клеток, выделенных из 10-недельных мышей, было в 1,8 раза больше, и они обладали повышенной пролиферативной активностью, по сравнению с клетками, от 25-недельных животных. Красный свет и циклопентарфин повышали метаболическую активность в обеих возрастных группах МСК. Кроме того, сочетанное действие света и пептида повышало пролиферативную активность МСК, полученных от 25-нед. животных, приближая значения к контрольным МСК, выделенных из молодых мышей. Таким образом, сочетанное действие красного света и циклопентарфина способно увеличивать жизнеспособность и повышать метаболическую активность МСК мышей вне зависимости от возраста. Дальнейшее исследование механизмов действия позволят понять основы остеогенной дифференцировки МСК и применить в регенеративной медицине.

Поддержка совета по грантам *Президента Российской Федерации* (СП-885.2015.4.).



**ДЕЙСТВИЕ СЛАБОГО ВЕРТИКАЛЬНОГО ПЕРЕМЕННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ *ARABIDOPSIS THALIANA*****Effect of vertical alternate magnetic field on growth and development of *Arabidopsis thaliana***

***Сердюков Ю.А., Разнотовская К.А.***

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, 12776, Москва, ул. Ботаническая, 35

Тел.:(499) 977-83-33; e-mail: ezhykron@gmail.com

Изучали действие слабого вертикального переменного магнитного поля (ПеМП) с индукцией 200 мкТл и частотой 50 Гц на скорость появления очередных листьев, прохождение стадий онтогенеза и количество образовавшихся стручков у растений *Arabidopsis thaliana* выращенных при разной длине фотопериода (8 и 16 часов).

У растений арабидопсиса выращенного на длинном дне уже через сутки после переноса в камеру фитотрона у подавляющей части контрольных растений появились помимо семядольных и очередные листья, тогда как у опытных растений были особи только с семядольными листьями и с зачатками очередных. К третьим суткам это отставание несколько уменьшилось и сохранялось почти без изменений до начала стрелкования. Следует отметить, что у опытных растений присутствовала группа, значительно отстававшая в росте.

Заметный негативный эффект на ход онтогенеза растений, выращенных на длинном дне, ПеМП оказывало лишь при начале формирования стрелок и начале цветения и плодоношения, сдвигая начало этих процессов на 1-2 дня. В ходе дальнейшего развития различия между контролем и опытом исчезали.

При более коротком дне эффект действия ПеМП проявлялся значительно сильнее. К концу опыта около трети растений находившихся в ПеМП так и не перешли к стадии стрелкования, тогда как в контроле почти все перешли к плодоношению. Еще одним отличием в действии поля в зависимости от длины фотопериода, является то, что при коротком дне не изменялась скорость прохождения фаз онтогенеза, лишь сдвигалось по времени их наступление. При длинном фотопериоде, помимо такого сдвига, еще более значительного, происходило замедление смены одной фазы другой.

Аналогичная картина наблюдалась и при выращивании растений на 8-часовом световом дне. Однако, отставание было более значительным. Плодоношение начиналось на 8 дней позже, а среднее количество стручков на растении под действием ПеМП оказывалось меньшим, чем в контроле. При этом минимальные количества стручков на растении в контроле и опыте оказались примерно равными, тогда как максимальные отличались в два и более раза.

В целом, угнетающий эффект ПеМП был более выражен у растений развивавшихся на коротком фотопериоде. На данный момент сложно сказать связано ли это с более длительной экспозицией магнитным полем медленно развивающихся растений в условиях короткого дня или с физиологическими отличиями возникающими при фотопериоде разной длины.

При длительном воздействии, в течение всего онтогенеза, ПеМП тормозило образование очередных листьев и прохождение стадий онтогенеза у растений арабидопсиса (стрелкование, цветение, плодоношение) и изменяло урожайность. Показанная дифференциация в реакции отдельных групп растений на ПеМП, на фоне других факторов окружающей среды, может играть решающую роль в их выживании и стабильности популяции.

## **РЕГУЛЯЦИЯ ВОДНОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ МЕМБРАН КЛЕТОК РАСТЕНИЯ В ОТВЕТ НА ИЗМЕНЕНИЯ ДАВЛЕНИЯ В СОСУДАХ КСИЛЕМЫ**

### **Regulation of membrane water permeability of plant cells under changes of pressure in xylem vessels**

***Сибгатуллин Т.А., Баташева С.Н., Суслов М.А.***

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, 420111, ул. Лобачевского, 2/31, Казань, Россия

*e-mail: timsdance@mail.ru*

В соответствии с теорией когезии-натяжения вода транспортируется от корней к листьям по ксилеме как непрерывный столб жидкости под действием отрицательного давления (натяжения). В таких условиях вода находится в жидкой фазе при давлении ниже, чем давление насыщенных паров воды, то есть в метастабильном состоянии. В таком состоянии увеличение отрицательности давления в проводящей системе (например, при засухе) может привести к кавитации. Сосуд заполняется парами воды. В дальнейшем, такой сосуд может заполняться воздухом в результате проникновения растворенных газов из окружающей сосуд жидкости. В результате возникает газовая эмболия, которая приводит к уменьшению интенсивности транспорта воды в растении.

Известно, что растения способны вновь заполнять водой сосуды, подвергшиеся эмболии, при отсутствии корневого давления и продолжая поддерживать значительное отрицательное давление в окружающих сосудах, не затронутых эмболией. Считается, что для этого сосуд, подвергшийся эмболии, должен быть гидравлически изолирован на время заполнения от остальной проводящей системы (модель локального заполнения). Но сам механизм локального заполнения на данный момент не выяснен и активно обсуждается в литературе. Предполагается, что ключевую роль в этом процессе могут играть клетки ксилемной паренхимы. В связи с этим представляет интерес исследовать изменение водной проницаемости мембран клеток ксилемной паренхимы в условиях, вызывающих газовую эмболию.

Исследования проводились на целых взрослых растениях томата, подсолнечника и сегментах стеблей растений. Скорость трансмембранного переноса воды в клетках стебля регистрировалась на основе ЯМР-релаксометрии. Интенсивность суммарного межклеточного радиального переноса воды регистрировалась на основе ЯМР-диффузометрии

При создании на верхнем торце стебля отрицательного давления наблюдается увеличение времен релаксации намагниченности протонов воды крупных клеток, что соответствует уменьшению проницаемости мембран клеток ксилемной паренхимы. При плавном повышении давления в сегменте стебля происходит уменьшение времен релаксации (соответственно, увеличение проницаемости мембран). При снятии внешнего давления (нулевая разность давлений на торцах сегмента стебля) время релаксации возвращается к своему исходному значению. Одновременно с этим по данным ЯМР-диффузометрии не было обнаружено существенного изменения суммарного радиального переноса воды в клетках стебля.

Обнаружено увеличение скорости трансмембранного переноса воды в клетках стебля при повышении давления в сосудах ксилемы. Таким образом, мембраны клеток ксилемной паренхимы могут контролировать и регулировать скорость заполнения эмболизированных сосудов в стебле растения.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 14-04-31606.*

**ВОЗДЕЙСТВИЕ РАЗНЫХ ДОЗ ОЗОНА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ЕГО ПРИМЕНЕНИИ НА ПРО- И АНТИОКСИДАНТНЫЕ СИСТЕМЫ КРОВИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ****The effects of different ozone doses during prolonged use on Pro- and antioxidant systems of blood in the experiment**

***Соловьева А.Г., Перетягин П.В.***

ФГБУ «ПФМИЦ», Россия, 603155, Нижний Новгород, Верхне-Волжская набережная, 18  
e-mail: sannag5@mail.ru

Применение озона для лечения и профилактики заболеваний основано на широком спектре терапевтического воздействия различных доз  $O_3$  на организм. Целью данной работы явилось изучение возможных токсических свойств различных концентраций озона на перекисное окисление липидов (ПОЛ) крови крыс при длительном его применении. **Материалы и методы.** Эксперименты проведены на 40 белых крысах линии Wistar. Животных разделили на 4 группы по 10 особей в каждой: 1 – контрольная (здоровые крысы), 2, 3, 4 – животные, которым ежедневно на протяжении 30 суток внутрибрюшинно вводили  $O_3$  в виде 1 мл озонированного физиологического раствора с разными дозами озона в нем - 0,6 мкг, 2,0 мкг и 8 мкг при насыщающих концентрациях озона в озон-кислородной смеси 3000 мкг/л, 10000 мкг/л, 40000 мкг/л соответственно. Спустя месяц животных вывели из эксперимента путем декапитации под наркозом (золетил+ксила). Озон получали с помощью медицинского аппарата озонотерапии «МЕДОЗОНС СИСТЕМ» из кислорода, выработанного концентратором кислорода. В крови исследовали параметры свободнорадикального окисления с помощью метода индуцированной биохемилюминесценции на биохемилюминометре БХЛ-06 (Н.Новгород), активность супероксиддисмутазы (СОД) [1], уровень малонового диальдегида (МДА) [2]. Статистический анализ результатов исследований выполнен с использованием программы Statistica 6. **Результаты.** Показано, что под влиянием используемых концентраций озона происходила активация общей антиоксидантной активности (АОА) плазмы крови: при действии озона в дозе 0,6 мкг АОА возросла на 79%, в дозе 2,0 мкг  $O_3$  – на 30%, в дозе 8,0 мкг – на 45% по сравнению со здоровыми крысами. Выявлено повышение активности СОД при действии озона в дозе 0,6 мкг на 34%, при 2,0 мкг – лишь на 5%, и снижение активности СОД при дозе озона 8,0 мкг на 45%. При этом установлено уменьшение количества МДА в плазме и эритроцитах под влиянием озонированного физиологического раствора. При использовании озона в дозе 0,6 мкг МДА в плазме уменьшился на 70%, в дозе 2,0 мкг  $O_3$  – на 70%, в дозе 8,0 мкг – на 22% по сравнению со здоровыми крысами. При использовании озона в дозе 0,6 мкг МДА в эритроцитах снизился на 70%, в дозе 2,0 мкг  $O_3$  – на 70%, в дозе 8,0 мкг – на 22% по сравнению со здоровыми крысами. **Заключение.** Таким образом, озон оказывает воздействие на перекисное окисление липидов. В ответ на введение озона происходит снижение уровня малонового диальдегида на фоне достоверного повышения супероксиддисмутазной активности эритроцитов. Повышается общая антиоксидантная активность плазмы. Следует отметить, что полученные данные при изучении баланса про- и антиоксидантных систем организма позволяют сделать заключение, что оптимальной метаболической дозой озона для крови является 0,6 мкг.

1. Сирота Т.В. / Вопросы медицинской химии, 1999. Т. 45, № 3. С.109-116.
2. Uchiyama M., Mihara M. / Analit.biochem., 1978, №86. P.271.

## ИЗУЧЕНИЕ СУБХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ ОЗОНА В РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ МЕТАБОЛИЗМ КРОВИ ЖИВОТНЫХ

### The study of the subchronic toxicity of ozone at different concentrations on energy metabolism of animal blood

***Соловьева А.Г., Перетягин П.В.***

ФГБУ «ПФМИЦ», Россия, 603155, Нижний Новгород, Верхне-Волжская набережная, 18

*e-mail: sannag5@mail.ru*

Целью данной работы явилось изучение возможных токсических свойств различных концентраций озона на концентрацию лактата и глюкозы в крови, а также активность лактатдегидрогеназы эритроцитов крыс при длительном применении  $O_3$ .

**Материалы и методы.** Эксперименты проведены на 40 белых крысах линии Wistar. Животных разделили на 4 группы по 10 особей в каждой: 1 – контрольная (здоровые крысы), 2, 3, 4 – животные, которым ежедневно на протяжении 30 суток внутрибрюшинно вводили  $O_3$  в виде 1 мл озонированного физиологического раствора с разными дозами озона в нем - 0,6 мкг, 2,0 мкг и 8 мкг при насыщающих концентрациях озона в озон-кислородной смеси 3000 мкг/л, 10000 мкг/л, 40000 мкг/л соответственно. Спустя месяц животных вывели из эксперимента путем декапитации под наркозом (золетил+ксила). Озон получали с помощью медицинского аппарата озонотерапии «МЕДОЗОНС СИСТЕМ» из кислорода, выработанного концентратором кислорода. В крови определяли концентрацию глюкозы и лактата на анализаторе SUPER GL ambulance (Германия), активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в прямой и обратной реакции с использованием в качестве субстратов лактата и пирувата [1], концентрацию белка [2]. Статистический анализ результатов исследований выполнен с использованием программы Statistica 6.0.

**Результаты.** Показано, что при действии озона в дозе 0,6 мкг активность ЛДГ в прямой реакции возросла на 66%, в дозе 2,0 мкг  $O_3$  – на 55%, в дозе 8,0 мкг – на 78% по сравнению со здоровыми животными. Увеличение активности прямой реакции ЛДГ характерно для аэробных условий метаболизма эритроцитов и способствует уменьшению лактата и накоплению пирувата. Активность ЛДГ в обратной реакции статистически значимо увеличилась при использовании озона в дозе 0,6 мкг на 58%, в дозе 2,0 мкг  $O_3$  – на 39%, в дозе 8,0 мкг – на 34% по сравнению с контрольными животными. Уровень лактата в эритроцитах статистически значимо снизился при дозе озона 0,6 мкг, при 2,0 мкг и 8,0 мкг  $O_3$  концентрация лактата возросла на 27% и 56% соответственно по сравнению со здоровыми животными. Уровень глюкозы в плазме при действии 0,6 мкг озона не отличался от уровня субстрата контрольных животных, при дозе 2,0 мкг  $O_3$  концентрация глюкозы в плазме возросла на 90%, в дозе 8,0 мкг – на 87% по сравнению с контрольными животными. При использовании озона в дозе 0,6 мкг уровень глюкозы в эритроцитах снизился на 45% по сравнению с контрольными животными. Озон в концентрациях 0,6 мкг влияет на углеводный обмен в виде усиления гликолиза, активизации утилизации глюкозы.  $O_3$  в дозах 2,0 и 8,0 мкг вызвал повышение уровня глюкозы в эритроцитах на 47% и 54% по сравнению с контролем.

**Заключение.** Таким образом, под влиянием озона в дозе 0,6 мкг отмечены положительные изменения в концентрации глюкозы и лактата в крови, а также активности лактатдегидрогеназы в эритроцитах животных.

1. Соловьева А.Г., Зимин Ю.В. / Современные технологии в медицине, 2012. №2. С. 116-118.
2. Dawson J.M., Heatlic P.L./ Anal. Biochem., 1984; 140 (2): P. 391-393.

**МОДУЛЯЦИЯ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МЫШЕЙ, ОБЛУЧЁННЫХ МАЛЫМИ ДОЗАМИ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ПЛОТНОИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ, АГЕНТАМИ РАЗЛИЧНОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ И ХИМИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ**

**The modulation of radiosensitivity of mice irradiated with low doses of high-LET radiation using the various physical and chemical agents**

***Сорокина С.С., Заичкина С.И., Розанова О.М., Романченко С.П., Смирнова Е.Н., Дюкина А.Р., Маевский Е.И., Гришина Е.В.***

Учреждение Российской Академии Наук Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290, Пущино, ул. Институтская, 3

Тел.: +7(4967)739-349; факс: +7(4967)33-05-53; e-mail: sv0723@yandex.ru

Целью настоящей работы являлось изучение действия агентов различной физической и химической природы: иммуномодуляторы (ИМ), сукцинат содержащая композиция (СДК), глутапирон, инфракрасный свет (ИКС) и X-лучи - на радиочувствительность костного мозга и тимуса и рост асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ) у мышей, облучённых малыми дозами плотно- и редкоионизирующих излучений.

В экспериментах использовали 2-месячных самцов мышей линии SHK. Животных облучали низкоинтенсивным плотноионизирующим излучением (НПИ) в дозах 3 и 22 сГр (1 сГр/сут) за верхней бетонной защитой ускорителя заряженных частиц с энергией 70 ГэВ (Протвино) и рентгеновским излучением на установке РУТ (1 Гр/мин; Пущино). Животных облучали инфракрасным светом (ИКС) от светодиодной матрицы (850 нм), модулированной частотой 101 Гц, (22 мВт/см<sup>2</sup>) в течение 10 мин. В работе исследовали иммуномодуляторы: дибазол, кальций хлористый, глутапирон. Радиочувствительность животных оценивали по уровню продукции активных форм кислорода (АФК) в цельной крови методом люминол-зависимой хемилюминесценции, цитогенетических повреждений - методом «микроядерный тест» в костном мозге, относительной массы тимуса и селезёнки, и скорости роста АКЭ.

При исследовании комбинированного действия облучения НПИ в дозах 3 и 22 сГр и модифицирующих агентов было обнаружено: 1) отсутствие влияния на уровень индуцированных цитогенетических повреждений в клетках костного мозга; 2) восстановление веса тимуса до контрольного значения при совместном действии ИКС и СДК как до, так и после облучения в дозе 22 сГр; 3) уровень продукции АФК при сочетанном действии агентов как до, так и после облучения был ниже, чем при облучении только в дозе 22 сГр НПИ, и не отличался от контрольного значения; 4) отсутствие радиационного адаптивного ответа в клетках костного мозга и тимуса мышей, облучённых НПИ как на фоне ИМ и ИКС, так и без них, однако, на фоне СДК адаптивный ответ появлялся только в клетках костного мозга; 5) снижение уровня продукции АФК при облучении мышей обеими дозами на фоне ИКС и СДК при дополнительном облучении в дозе 1.5 Гр; 6) зависимость динамики роста АКЭ от дозы НПИ и вариантов сочетания агентов.

Таким образом, впервые было показано защитное действие ИМ, ИКС и СДК, используемых как до, так и после облучения мышей в малых дозах НПИ, и зависимость этого эффекта от дозы и метода регистрации повреждений.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 14-04-32222 мол\_а.*

## **БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ: РОЛЬ КЛЕТОЧНОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ В АДАПТАЦИИ КЛЕТОК К ВОЗДЕЙСТВИЮ СВЕРХСЛАБЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ**

**Biological effects of magnetic fields: the role of cell plasticity in the adaptation of cells to extremely weak magnetic fields**

***Куранова М.Л. 1, Сурма С.В. 2, Стефанов В.Е.3 Щеголев Б.Ф. 2, Спивак И.М. 1,3***

1 – ФГБУН институт Цитологии РАН, Тихорецкий проспект 4, Санкт-Петербург, 194064

2 – ФГБУН институт Физиологии им. И.П.Павлова РАН, наб. Макарова 6, Санкт-Петербург

3 – Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб. д.7-9, Санкт-Петербург 199034

*Тел.: +7(812)297-03-26, E-mail: irina\_spivak@hotmail.com*

Необходимость исследования влияния сверхслабых магнитных полей (ССМП) на биологические объекты различной степени сложности, и в первую очередь, на человека, обусловлена большой проникающей способностью этих полей в биологические среды. В качестве моделей изучения воздействия таких полей на живые объекты выбраны клетки больных атаскией – телеангиэктозией (АТ) (синдром Луи-Бар). Для выяснения роли клеточной пластичности в адаптации организма к внешним воздействиям на клеточной модели клетки АТ предпринято исследование, позволившее определить, участвует ли АТМ-зависимый ответ на повреждение ДНК в реакции клеток на воздействие ССМП. Изучено состояние штаммов диплоидных фибробласты здорового донора и диплоидных фибробластов, полученных от больной АТ. Методом непрямо́й иммунофлуоресценции исследованы белки P53, 53BP1 и P21. Клетки здорового донора в условиях ССМП демонстрировали картину, подобную той, которая возникает при повреждении ДНК, то есть повышение количества белков P53 и P21, формирование фокусов 53BP1. В первичных фибробластах больных АТ никаких видимых изменений обнаружено не было. Метод комет на всех временных фазах опыта был использован для определения возможных двунитевых разрывов ДНК, поскольку реакция клеток здорового донора в ответ на применение ССМП развивалась также, как в ответ на радиационное повреждение. Полученные данные свидетельствуют о возможной роли АТМ-зависимого сигнального пути в ответе клетки на ССМП, что, вероятно, связано с гипоксией, возникающей в ней из-за прямого воздействия ССМП на ион-радикальный механизм реакции<sup>1</sup>, реализующийся при работе супероксиддисмутазы.

1. А.Л. Бучаченко /Успехи химии, 2014. Т.83 (1). С.1-12.

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОФИЗИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХЛОРОРГАНИЧЕСКИХ ПЕСТИЦИДОВ НА КУЛЬТУРЫ МОРСКИХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ****Use of the biophysical and biochemical methods for estimation of the organochlorine pesticides influence on the marine microalgae cultures****Сысоев А.А., Сысоева И.В.**

ФГБУН "Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН", 299011, Севастополь, Пр. Нахимова, 2

Тел.: +7(978)7239113; факс: (8692)55-78-13; e-mail: alexsysoev@yandex.ru

Значительное преимущество в исследовании цитологических изменений под влиянием токсикантов приобрел метод проточной цитофлюориметрии, позволяющий оперативно получить данные по численности, средним размерам клеток. Дополнительно к цитологическим анализам был применен биохимический метод оценки физиологического состояния организмов по внутриклеточному содержанию адениновых нуклеотидов и расчету аденилатного энергетического заряда Д. Аткинсона [1].

Поставлен эксперимент по влиянию различных концентраций хлорорганических пестицидов (ХОП) стандарта ХОП-5 на динамику численности, средних размеров клеток и физиологическое состояние в культурах морских планктонных водорослей: крупные – *Peridinium trochoideum* и *Prorocentrum micans*, мелкие – *Prorocentrum pusillum* и *Platymonas viridis*.

Культуры водорослей были выставлены на 6-дневную экспозицию в трех вариантах:

Контроль: стерилизованная морская вода с питательной средой F/2.

Вариант А: контроль + ХОП-5 с конечной концентрацией 0,025 мкг/мл.

Вариант В: контроль + ХОП-5 с конечной концентрацией 0,150 мкг/мл.

Из каждой экспонируемой емкости ежедневно отбирали пробы на анализ численности и размеров клеток, а также на содержание внутриклеточных адениновых нуклеотидов.

Анализы численности и размеров клеток проводили на проточном цитофлюориметре Cytomics FC 500, анализы содержания внутриклеточных адениновых нуклеотидов – по хемилюминесцентной методике на приборе ATP Luminometer – 1250.

В процессе экспозиции культур произошли следующие изменения. У крупных видов *Peridinium trochoideum* и *Prorocentrum micans* отмечена большая зависимость репродуктивной активности от содержания ХОП: в то время, как в контроле численность клеток, практически, удвоилась, в варианте А заметно снизилась, а в варианте В к концу экспозиции была близка к единичным значениям. У мелкого вида *Prorocentrum pusillum* влияние ХОП на численность клеток было более умеренным, чем у крупных, а у мелкой зеленой водоросли *Platymonas viridis* влияние ХОП на снижение численности отразилось только в варианте В, в умеренной степени. У крупных видов влияние ХОП обозначилось в укрупнении клеток, соответственно концентрациям поллютантов, в то время как в контроле наблюдалось постепенное снижение средних размеров клеток, вероятно связанное с усиленным клеточным делением. В культурах мелких форм водорослей влияние ХОП на размеры клеток было незначительным, прослеживалось постепенное снижение средних размеров.

Динамика аденилатного энергетического заряда, отражающего физиологическое состояние клеток, показала, что наибольшему негативному влиянию ХОП подверглись крупные виды исследуемых культур, соответственно вариантам среды.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОФИЗИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ВОЗДЕЙСТВИЯ СВИНЦА НА КУЛЬТУРУ МОРСКОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ *PROROCENTRUM PUSILLUM*

### Use of the biophysical methods for estimation of the Pb influence on the marine microalgae *Prorocentrum pusillum* culture

**Сысоева И.В.1, Безымянный В.А.2, Токарев Ю.Н.1, Сысоев А.А.1**

1 – ФГБУН «Институт морских биологических исследований имени А.О. Ковалевского РАН»  
299011, Севастополь, Пр. Нахимова, 2

2 – ГБНУ г. Севастополя «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского»  
Тел.: +7(978)7043086; факс: (8692)55-78-13; e-mail: y.tokarev@gmail.com

В связи с высоким уровнем антропогенной нагрузки на прибрежные акватории моря все большее значение приобретают экспресс-методы оценки состояния окружающей среды. Один из биофизических методов определения перекисного окисления липидов (ПОЛ) с применением термолюминесцентного (ТЛ) анализа – наиболее перспективен для широкого использования в этих целях. Благодаря высокой чувствительности к изменениям в процессах накопления продуктов ПОЛ, метод ТЛ является мощным инструментом измерения стрессового воздействия на исследуемый объект. Известно, что в нормальных условиях жизнедеятельности клетки постоянно присутствует определенный уровень ПОЛ. Однако, при интенсивной или длительной стресс-реакции в клетках происходит активация процесса свободно-радикального окисления и накопления продуктов ПОЛ.

В работе представлены материалы по проведению исследований по оценке воздействия ионов свинца на культуру микроводорослей *Prorocentrum pusillum*. Биофизический анализ численности, размеров клеток и содержания хлорофилла «а» проводили на проточном цитофлюориметре Cytomics FC 500 (Beckman Coulter, США). Термолюминесценцию культуры исследовали – на разработанном авторами компактном термолюминометре.

Культура *Prorocentrum pusillum* была выбрана с учетом ее резистентности к различным токсикантам. Культуры объемом 250 мл были выставлены на экспозицию при естественном солнечном освещении. Для эксперимента использовали три варианта содержания культуры: К - контроль (культура на среде Гольдберга); культура + P1 – общая концентрация свинца – 100 мкг·л<sup>-1</sup>; культура + 2P1 – общая концентрация свинца – 200 мкг·л<sup>-1</sup>. На третьи сутки экспозиции пробы, общим объемом 50 мл, отбирали для термолюминесцентного и цитофлюориметрического анализа. Согласно данным этих анализов, в контрольной пробе наблюдалось ординарное развитие микроводорослей: клетки имели один диапазон размеров и содержания хлорофилла.

Показано, что несмотря на отмеченный стимулирующий эффект слабых доз свинца, клетки *Prorocentrum pusillum* подвергаются стрессовому воздействию, что приводит к накоплению продуктов перекисного окисления липидов. Так, уже в пробе с содержанием свинца 100 мкг·л<sup>-1</sup> обозначился размерный кластер, имевший четкие границы, в котором численность клеток увеличена по сравнению с контрольным образцом. Размеры клеток также увеличены в сравнении с контролем, что свидетельствует о стимулирующем эффекте низких концентраций ионов свинца. В то же время наблюдались первичные признаки повреждения клеток – повышенное количество продуктов ПОЛ в пересчете на клетку. Использование термолюминесцентного метода в комплексе с цитофлюориметрией позволило получить корректную оценку физиологического состояния, развернутую характеристику воздействия повреждающих факторов среды на исследуемую культуру.



**ДЕЙСТВИЕ ИНФРАЗВУКА НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ МЕМБРАН И НА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ЖИВОТНЫХ**

**The action of infrasound on the permeability of the erythrocyte membrane and hematological parameters of animal blood**

**Тулеханов С.Т.1, Мохасеб М.А.-Х.2, Аблайханова Н.Т.1, Тусупбекова Г.А.1, Швецова Е.В.1, Кулбаева М.С.1**

1 – Казахский национальный университет имени аль-Фараби, 050040, Алматы, Казахстан, пр.аль-Фараби 71

2 – Каирский университет, Каир, Египет

Тел.: +7(727)377-36-06; +7(727)360-84-71; e-mail: Sultan.Tuleuhanov@kaznu.kz

Целью работы явилось изучение механизмов действия инфразвука на проницаемость эритроцитарных мембран и на гематологические показатели крови животных.

Объектами исследования были обоего пола массой 200-300 г. белые лабораторные крысы. Материалами служили: общий лейкоцитарный показатель, индекс сдвига, лейкоцитарная формула крови, лимфоциты, морфология лейкоцитов, мембраны эритроцитов. Источником инфразвука была установка «ИФС-1» производства «Батысмедтех» (г.Уральск, Казахстан) с частотой 17 Гц и с уровнем интенсивности давления 11 дБ. Оценку состояния крови делали по классическим методикам (Neraw K., Funderberg H.; Wontpoe V.V.; Vaseleva Z.Z.). Методом мочевинового гемолиза (Kolmakova V.N., Radchenko V.G.) определяли проницаемость эритроцитарных мембран (ПЭМ), выраженных в процентах гемолиза. Изучение особенностей действия инфразвука на организм животных позволило выявить, что на 3-й день наблюдения общий лейкоцитарный показатель вырос на 21625,0 кл/мкл, в последующие дни наблюдения шло постепенное повышение общего лейкоцитарного показателя, который на 60-й день составил 383000,0 кл/мкл (600 сек). Во все дни наблюдался значительный выброс миелоцитов в периферическую кровь, падение и увеличение количества сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов. На 12 день было резкое повышение моноцитарного и базофильного показателя. Контактное однократное инфразвуковое облучение животных в течение 600 сек приводило к приобретенному иммунодепрессивному синдрому. Достаточно длительное наблюдение (до 60 дней) показало, что действие инфразвука в слабых дозах проявляется в разрушении зрелых форм иммунных клеток в периферической крови, в подавлении активности пролиферативного пула в костном мозге и замедлении процесса дифференцировки в тимусе, селезенке и лимфатических узлах. Самыми чувствительными к действию инфразвука были лимфоциты, процентное содержание которых на 3-й день наблюдения возросло до 1,4, что составило от нормы 43,8 %. И спустя 60 дней после облучения изменения сохранились. Аналогичные изменения были установлены и при опосредованном и сочетанном воздействии инфразвука на организм. При исследовании действия инфразвука на проницаемость эритроцитарных мембран было выявлено влияние на клеточные структуры организма, изменение отдельных биофизических и метрических показателей эритроцитарных мембран в зависимости от концентрации NaCl (0,9%) и экспозиции воздействия, а также значительное повреждение структуры и функции мембран. Наиболее выраженное изменение проницаемости эритроцитарных мембран были установлены при воздействии инфразвука с экспозицией 3 сек., 180 сек, 1800 сек и 3600 сек. Высокая корреляционная зависимость между шириной на полувысоте кривой Гаусса и площадью под кривой Гаусса и  $H_{50}$  была установлена в группах животных, непосредственно и опосредованно облученных инфразвуком, а в группе животных, подвергнутых сочетанному воздействию инфразвуком, корреляционные связи не были обнаружены.

## АНТИРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МЕДА РАЗЛИЧНЫХ РЕГИОНОВ АЗЕРБАЙДЖАНА

### Antiradical activity of honey in different regions of Azerbaijan

Чырагова С. Р., Абдуллаев Х. Д., Агаларов Р. И., Алекперли С. А.

Бакинский Государственный Университет, 1148 Баку, ул.Захида Халилова23,

Тел.: +(994)12439-10-91; E-mail: chyragova71@mail.ru

Известно, что экологические условия жизни современного цивилизованного человека далеки от идеальных: загрязненный атмосферный воздух, токсические вещества в питьевой воде, насыщенная консервантами пища. Любой из этих факторов самым неблагоприятным образом сказывается на уровне естественных антиоксидантов в организме. И так как, человеческий организм относится к сложным биологическим системам, то для сохранения здоровья человека все в этой системе должно быть сбалансировано. Опыты показывают, что определенные вещества, находящиеся в организме, наряду с другими ферментными системами клетки и различными витаминами осуществляют защиту клетки от негативных влияний этих активных молекул и реакций. Ученые находятся в поиске природных соединений и продуктов питания, содержащих вещества, способствующие предупреждению этих патологических процессов. Мед - уникальный продукт, подаренный нам природой. Человек использует его на протяжении тысячелетий для питания и в лечебных целях. В настоящее время свойства меда хорошо изучены и широко используются для профилактики и лечения различных заболеваний. Ведь помимо вкуса и аромата, мед обладает великолепными антибактериальными [1-2], противовоспалительными [2-5], бактерицидными [6-8], свойствами. Лечебному эффекту меда способствует его богатый состав: мед содержит сахара, минеральные вещества, микроэлементы, витамины, ферменты, биологически активные вещества, пантотеновую и фолиевую кислоты, хлор, цинк, алюминий, бор, кремний, хром, литий, никель, свинец, олово, титан, так необходимые организму. Известно, что мед и медопродукты содержат в составе вторичных продуктов – композицию фенольных соединений и флавоноидов, которые действуют, как природные антиоксиданты, эффективны в снижении риска сердечно-сосудистых заболеваний, рака, катаракты, снижении иммунитета, различных воспалительных процессов и т.д. [9]. Анализ состава меда, в том числе на предмет содержания в них этих веществ - в целом известных как тушители свободно - радикальных состояний и антиокислители (AR и AO соответственно) широко проводятся в различных лабораториях мира [10]. Однако в Азербайджане таких исследований меда не проводилось. В этой связи в данной работе впервые дан анализ антирадикальной активности (АРА) меда, собранного из различных регионов Азербайджана. **Материалы и методы.** Объектом исследования являлись образцы меда из различных регионов Азербайджана. Для этой цели мы использовали мед, собранный из Ленкоранского, Закатальского, Белоканского, Исмаиллинского, Гедабекского и Самухского районов. Непосредственно перед анализом мы нагревали образцы до 370С, чтобы растворить кристаллы. Исследования проводили DPPH методом, который позволяет определить способность объекта тушить стабильный свободный радикал DPPH (2,2 дифенил-1-пикрилгидрозил,  $C_{28}H_{36}N_2O_6$ ) по схеме  $DPPH^+ + AH \rightarrow DPPH-H + A^{\cdot}$ . По мере восстановления DPPH происходит изменение его окраски от интенсивно - фиолетового до соломенно-желтого. Образцы меда растворяли в 1 мл дистиллированной воды. Затем добавляли раствор DPPH в метаноле. И в течении 20 минут измеряли кинетику изменения оптической плотности при 517 нм [11]. **Результаты и обсуждение.** Установлено что наиболее эффективным в качестве тушителя радикальных состояний DPPH является мед, собранный из горного региона Закатальского района (15 мг/мл). Достаточно высокую активность проявляют Белоканский лесной и Исмаиллинский меда (35мг/мл). Вместе с тем, весьма низкая АР активность наблюдается у образцов из равнинных областей Самухского и Ленкоранского районов. Исследуемые нами образцы меда по способности тушить стабильный свободный радикал DPPH можно расположить в следующей последовательности: Закатала(горный) > Белокан (лесной) > Исмаиллы > Белокан (горный) > Закатала (низменный) > Гедабек > Самух > Ленкорань. Показано отсутствие достоверной корреляции между цветностью меда и АРА. Согласно анализа величин  $IC_{50}$ , мед, происходящий из высокогорных районов обладал большей антирадикальной активностью. Предполагается, что высокогорная растительность способствует накоплению во вторичных продуктах меда – фенольных соединений и флавоноидов– основных компонентов, обеспечивающих высокую АРА образцов.

**МЕХАНИЗМЫ ФАЗОВОГО ПРЕВРАЩЕНИЯ ТИПА ЖИДКОСТЬ – ЖИДКОСТЬ ПРИ ПЕРЕХОДЕ КЛЕТКИ В СОСТОЯНИЕ АНАБИОЗА****MECHANISMS OF PHASE TRANSFORMATION TYPE LIQUID - LIQUID CELLS IN TRANSITION state of suspended animation**

Ходько А.Т., Лысак Ю.С.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, 61015, Харьков, ул. Переяславская 23

Тел. +38(057)373-30-07

В [1] было показано, что фазовые переходы типа жидкость – жидкость (ФПТЖ-Ж) являются первопричиной перехода биологических систем в состояние анабиоза при охлаждении, вследствие возникновения несмешивающихся между собой фаз и блокирования этим внутриклеточного транспорта веществ. Явление анабиоза было открыто в 1701 г. Левенгуком при наблюдении процессов дегидратации – регидратации тихоходок и коловраток. В системах полимер – растворитель, к которым относится цитоплазма, ФПТЖ-Ж может вызываться как изменением температуры, так и концентрации [2].

При микроскопии процесса охлаждения парами сжиженного азота среды культивирования с клетками семенников новорожденных поросят наблюдался ФПТЖ-Ж по механизму спинодального распада, не сопровождавшегося критической опалесценцией. При самопроизвольном высыхании данной системы при комнатной температуре под объективом микроскопа также наблюдалось появление модулированных структур, характерных для данного механизма фазового перехода.

Среда культивирования содержит в своем составе NaCl, некоторые аминокислоты, глюкозу и некоторое количество белка, неизбежно попадающего из цитоплазмы клеток, частично разрушающихся в процессе приготовления суспензии. Данный состав достаточно адекватно моделирует фазовое поведение цитоплазмы клеток при изменении параметров состояния.

При охлаждении по аналогичной методике листа высшего водного растения элодеи наблюдалось как образование морфоз характерных для спинодального механизма фазового превращения, так и следующая за ними критическая опалесценция, проявляющаяся в быстром потемнении клеток при наблюдении в проходящем свете. Такой процесс характерен для ФПТЖ-Ж протекающему по механизму нуклеации – роста зародышей.

Приведенные наблюдения указывают на единую природу фазовых превращений при охлаждении и высушивании криобиологических систем, приводящих к насыщению и последующему расслаиванию раствора на несмешивающиеся жидкие фазы и, соответственно, единство природы состояния крио- и ксероанабиоза.

Принципиальная обратимость фазовых переходов позволяет при возврате к параметрам состояния жизнедеятельности клетки в некоторых случаях возобновить ее.

1. Ходько А.Т., Лысак Ю.С. / Биофизика живой клетки. Т. 10, Октябрь 2014. С. 206 – 208.
2. Папков С.П. / Равновесие фаз в системе полимер – растворитель, – М.: Химия, 1981. – 272с.

## ЛАНТАНИДЫ И АПОПТОЗ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

### Lanthanides and of human erythrocytes apoptosis

***Шереметьев Ю.А., Rogozin M.M., Поповичева А.Н., Левин Г.Я.***

ФГБУ Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр, МЗ РФ, 603155,  
Нижний Новгород, Верхневолжская наб. 18/1

Тел.: +8 (831)436-21-80; Факс: +8(831)432-21-58; e-mail: ya.sher@rambler.ru

Изучено влияние  $\text{La}^{3+}$  и  $\text{Gd}^{3+}$  на апоптоз эритроцитов человека. Влияние лантанидов на эритроциты изучали в инкубационной среде не содержащей ионы кальция. Эритроциты инкубировали при  $37^{\circ}\text{C}$  в течение 24 ч с лантанидами в финальной концентрации 5 мкМ в среде содержащей 5 мМ глюкозы. Изучали экстернализацию фосфатидилсерина и образование в инкубационной среде микрочастиц, морфологию эритроцитов. Экстернализацию фосфатидилсерина определяли с помощью проточной цитофлуориметрии и аннексина V. Микрочастицы выделяли из супернатанта с помощью гадолиния. В осадке определяли общий белок и активность маркерного фермента микрочастиц ацетилхолинэстеразы. Морфологию эритроцитов, фиксированных глутаровым альдегидом, изучали световой микроскопией. Установлено, что лантаниды вызывают экстернализацию фосфатидилсерина и образование микрочастиц, содержащих большое количество гемоглобина. Микрочастицы имеют высокую ацетилхолинэстеразную активность. Изучение морфологической картины апоптозных эритроцитов показало, что наряду с эхиноцитами и стоматоцитами наблюдается большое количество микрочастиц и фрагментов мембран. Интересно отметить, что  $\text{La}^{3+}$  обладает более сильным влиянием на апоптоз эритроцитов, чем  $\text{Ga}^{3+}$ . Полученные результаты свидетельствуют о том, что лантан и гадолиний индуцируют выраженный апоптоз эритроцитов человека.

**КРУГЛОСУТОЧНОЕ ОСВЕЩЕНИЕ ВЫЗЫВАЕТ РОСТ ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТИ  
У ТЕПЛОЛЮБИВЫХ РАСТЕНИЙ****Continuous light enhances chilling tolerance in cold-sensitive plants****Шерудило Е.Г., Шибеева Т.Г., Тумов А.Ф.**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, 185910, Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11  
Тел.: +7(8142)76-27-06; факс: +7(8142)76-98-10; e-mail: sherudil@krc.karelia.ru

В условиях контролируемой среды изучали влияние круглосуточного освещения на холодоустойчивость растений перца (*Capsicum annuum*), томата (*Lycopersicon esculentum*) и баклажана (*Solanum melongena*). С этой целью растения выращивали при температуре 26°C в условиях 16 ч фотопериода (контроль) или круглосуточного освещения (интеграл суточной радиации – 12,96 моль м<sup>-2</sup>). В ходе опыта анализировали уровень холодоустойчивости листьев по ЛТ<sub>50</sub> (°C) [1] и содержание пролина.

Установлено, что выращивание растений перца, томата и баклажана при 24 ч фотопериоде и умеренной освещенности индуцирует у них повышение холодоустойчивости. На 14-е сутки прирост устойчивости клеток листа к 5-минутному промораживанию составил по отношению к контролю 0,5°C для баклажана и 0,8-0,9°C для томата и перца. С увеличением времени роста в условиях круглосуточного освещения у перца и томата устойчивость изменялась незначительно, оставаясь на достигнутом к этому моменту уровне, а у баклажана отмечено дальнейшее увеличение прироста холодоустойчивости, который к концу эксперимента достигал 1,4°C (на 26-е сутки). Важно отметить, что во всех случаях повышение холодоустойчивости растений сопровождалось увеличением содержания в листьях пролина.

Таким образом, установлено, что 24 ч фотопериод с относительно невысоким уровнем освещенности вызывает повышение холодоустойчивости растений томата, баклажана и перца при обычной (нормальной) температуре выращивания. При этом рост холодоустойчивости растений в этих условиях сопровождается накоплением в листьях пролина, что, по-видимому, можно рассматривать как свидетельство индукции под влиянием круглосуточного освещения неспецифических защитно-приспособительных реакций и включения механизмов так называемой кросс-адаптации, обеспечивающей в данном случае рост устойчивости растений к холоду. По-видимому, для индукции повышения устойчивости к действию неблагоприятных температур важна как интенсивность освещения [2, 3], так и интеграл суточной радиации, высокие значения которого могут быть достигнуты не только за счет увеличения интенсивности освещения, но и благодаря увеличению продолжительности светового дня в суточном цикле.

1. Дроздов С.Н. и др. / Физиология растений, 1980. Т. 27. С. 653-656.
2. Кислюк И.М. и др. / Физиология растений, 2013. Т. 60. С. 649-660.
3. Janda T. et al. / Journal of Plant Growth Regulation, 2013. Vol. 33(2). P. 460-469.

## **ПРИМЕНЕНИЕ МУЛЬТИЧАСТОТНОЙ ПОЛИМОДАЛЬНОЙ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОЙ ТЕРАПИИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ**

### **The use of multifrequency multimodal electromagnetic therapy in the complex treatment of cancer patients**

***А.И. Шихлярова, Е.П. Коробейникова, Т.П. Протасова***

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России,  
344038 г. Ростов на Дону, 14 линия, 63  
*e-mail: rnioi@list.ru*

С целью повышения эффективности лечения онкологических больных специфические методы терапии были дополнены вспомогательными технологиями электромагнитных воздействий. Ранее нами были разработаны алгоритмы сверхнизкочастотных электромагнитных полей (СНЧМП) с учётом частот, близких к ритмам мозга, в качестве пускового воздействия на регуляторные центры адаптационных состояний организма. Применяли малые по интенсивности, но информативные по значимости СНЧМП, адресованные к центральным механизмам регуляции в сочетании с электрическими полями аппарата «СКЭНАР», адресованными к различным периферическим органам и тканям, местно, с целью смягчения побочных эффектов специфической противоопухолевой терапии. Так, больным с генерализованным раком молочной железы 3-4 стадий одновременно с комплексной специфической противоопухолевой противорецидивной терапией применялась технология СНЧМП+СКЭНАР. Проведение 10-15 сеансов электромагнитной терапии способствовало значительному снижению болевого синдрома, повышению лейкоцитов до уровня нормы, снижению гастроинтестинальной токсичности, что наряду с положительной динамикой антистрессорных адаптационных реакций указывало на улучшение качества жизни. При комплексной терапии больных колоректальным раком 2-4 стадий до и после оперативного вмешательства был применён алгоритм полимодального воздействия, который помимо СНЧМП и СКЭНАР воздействий включал субстратное сопровождение – назначение малых доз янтарной кислоты для коррекции энергетического метаболизма. Исследованы были две группы: больные, прооперированные радикально, и больные с паллиативной операцией. В группе больных с паллиативной операцией и полимодальным воздействием средняя продолжительность жизни превысила в 2 раза продолжительность жизни больных, пролеченных традиционно, но составила не более полугода. Более выраженный положительный эффект был достигнут в группе радикально прооперированных больных: 100% больных пережили 2 летний срок. А в группе сравнения без полимодального воздействия только в 66.6% случаев. Анализ 5-летней выживаемости свидетельствовал о достоверном увеличении (в 2 раза) продолжительности жизни больных с полимодальным воздействием по сравнению с контролем. Как видно, применение СНЧМП+СКЭНАР технологии оказало положительное регулирующее влияние на адаптационные возможности организма, качество и продолжительность жизни, что свидетельствует о целесообразности и перспективности включения мультимодальных электромагнитных воздействий в выбранный алгоритм в состав комплексной терапии онкологических больных.

# **Фотобиология. Биофотоника**

## ФОТОИНДУЦИРОВАННАЯ ГЕНЕРАЦИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА ПРОИЗВОДНЫМИ И КОНЪЮГАТАМИ РЕТИНАЛЯ

Photoinduced generation of the reactive oxygen species by the derivative and the conjugates of the retinal

**Аболтин П.В. 1, Бугрова А.Е.1, Шевченко Т.Ф.1, Шумаев К.Б.2, Каламкаров Г.Р.1**

1 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук

2 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии им. А.Н. Баха Российской академии наук

Предполагается, что существует два независимых механизма фотоповреждения сетчатки глаза, обусловленные токсическим действием голубого и зеленого света. Наиболее вероятным фотосенсибилизатором, определяющим токсическое действие коротковолнового (голубого) света является полностью *транс*-ретинол, концентрация которого в зрительной клетке составляет 3 мМ. Однако в виде альдегида полностью *транс*-ретинол присутствует в сетчатке, как правило, в связанном с ретинол-переносщими белками состоянии, что может существенно снижать его токсическое действие. Для выяснения этого нами исследовался квантовый выход генерации активных форм кислорода полностью *транс*-ретинолом в липидных везикулах и в состоянии, связанном с альбумином или специфическим межфоторецепторным ретинол-переносщим белком.

Образование активных форм кислорода (АФК) при освещении полностью *транс*-ретинола регистрировали методом ЭПР. Количество АФК оценивали по сигналу ЭПР спин-аддукта DEPMPO (5-диэтоксифосфорил-5-метил-1-пирролин-N-оксида). Установлено, что сигнал ЭПР является суперпозицией аддуктов: 80% супероксид-анион радикала, 15% гидроскильного радикала и 5% радикала неизвестной природы. При эквимольной концентрации альбумина относительный квантовый выход генерации активных форм кислорода уменьшается в пять раз, а при четырехкратном избытке альбумина – в 30 раз. Предполагается, что в фоторецепторной клетке *транс*-ретинол и N-бис-ретинолиден-этаноламин являются источниками фотоповреждения, обусловленного активными формами кислорода. Поскольку в клетке *транс*-ретинол транспортируется межфоторецепторными ретинол-переносщими белками из семейства альбуминов, предполагается, что связывание с белком играет важную протекторную роль, предотвращая образование активных форм кислорода в фоторецепторной клетке



**МЕХАНИЗМЫ УФ-ИНДУЦИРОВАННОГО АПОПТОЗА ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА****Mechanisms of UV-induced apoptosis of human lymphocytes*****Артюхов В.Г.1, Наквасина М.А.1, Трубицына М.С. 2, Лидохова О.В. 2***

1 – Воронежский государственный университет, 394006, Воронеж, Университетская пл., 1

2 – Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, 394000, Воронеж, ул. Студенческая, 10

Тел.: +7(473)220-89-81; факс +7(473)220-83-08; e-mail: nakvasina\_ma@mail.ru

Исследованы показатели (индикаторы) апоптоза лимфоцитов периферической крови доноров, индуцированного воздействием УФ-света (240-390 нм) в дозах 151, 1510, 3020 Дж/м<sup>2</sup>.

Установлено, что УФ-свет во всех использованных дозах индуцирует фрагментацию ДНК после 20 ч инкубации модифицированных лимфоцитов. Показано, что воздействие УФ-излучения (1510 Дж/м<sup>2</sup>) на лимфоциты с их последующей инкубацией в течение 1 ч при 37 °С вызывает образование крупных скоплений (агрегатов) облученных клеток. Обнаружено повышение уровня экспрессии мембранных Fas-рецепторов смерти в течение 1-5 ч после воздействия УФ-света на лимфоциты по сравнению с таковым интактных клеток. Выявлено увеличение функциональной активности эффекторной каспазы-3 через 8 и 24 и 6 и 8 ч после УФ-облучения клеток соответственно в дозах 151 и 1510 Дж/м<sup>2</sup>. Повреждения ДНК (двунитевые разрывы) зарегистрированы сразу после УФ-облучения лимфоцитов в дозах 1510 и 3020 Дж/м<sup>2</sup> (кометы типа С1) и достигают максимума через 6 ч после УФ-модификации клеток (кометы типов С2 и С3). Через 6 ч после воздействия УФ-света в дозах 1510 и 3020 Дж/м<sup>2</sup> на лимфоциты наблюдалось повышение уровня p53 в исследуемых клетках. Обнаружено, что УФ-облучение лимфоцитов в дозе 1510 Дж/м<sup>2</sup> индуцирует повышение уровня универсального вторичного мессенджера – свободного кальция – в цитозоле по сравнению с таковым для интактных клеток, обусловленное выходом Са<sup>2+</sup> из внутриклеточных депо и повышением проницаемости плазматической мембраны для внеклеточного кальция вследствие интенсификации свободнорадикальных процессов. УФ-облучение (1510 Дж/м<sup>2</sup>) лимфоцитов в кальций-содержащей среде и их инкубация в течение 6 ч вызывали значительный рост количества клеток, находящихся на поздней стадии апоптоза или некроза (66,3 %) по сравнению с таковым для контрольных образцов (1,6 %). Количество ранних апоптотических лимфоцитов возрастало с 7,9 % до 17,8 %. В отсутствие экзогенного кальция через 6 ч после воздействия УФ-света на лимфоциты в образце преобладали клетки на ранней стадии апоптоза (57,7 %). Количество лимфоцитов на поздней стадии апоптоза или некроза составило 35,2 %. Выявлены изменения уровня флуоресценции «митохондриального» зонда родамина 123 в присутствии УФ-облученных лимфоцитов и величин функциональной активности маркерного фермента митохондрий – сукцинатдегидрогеназы. Сделано заключение о важной роли рецепторопосредованного (Fas-зависимого) каспазного, митохондриального и p53-зависимого путей в реализации апоптоза лимфоцитов, индуцированного воздействием УФ-света в дозах 151 и 1510 Дж/м<sup>2</sup>.

*Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках государственного задания ВУЗам в сфере научной деятельности на 2014-2016 годы. Проект № 1090.*

## ВЛИЯНИЕ УФ-СВЕТА НА СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ И ЭКСПРЕССИЮ МЕМБРАННЫХ МАРКЕРОВ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

The influence of UV-light on the sub-populational composition and expression of membrane markers of lymphocytes of donor blood

**В.Г.Артюхов<sup>1</sup>, О.В.Башарина<sup>1</sup>, О.В.Земченкова<sup>2</sup>, С.В.Рязанцев<sup>2</sup>**

1 – Воронежский государственный университет, 394006, Воронеж, Университетская пл., д.1

2 – Воронежский государственный медицинский университет им.Н.Н.Бурденко, 394036, Воронеж, ул. Студенческая, д. 10

e-mail: [bov-bio.@yandex.ru](mailto:bov-bio.@yandex.ru)

Исследовано влияние УФ-света (240-390 нм) в дозах 151 и 755 Дж/м<sup>2</sup> на содержание мембранных маркеров лимфоцитов методом проточной цитометрии. Показано, что в ходе инкубации УФ-облученных лимфоцитов происходит изменение их популяционного и субпопуляционного состава. При инкубации УФ-облученных лимфоцитов в присутствии плазмы крови количество Т- и В-клеток, а также субпопуляционный состав Т-лимфоцитов достоверно не отличаются от их исходного уровня (только при воздействии УФ-света в дозе 755 Дж/м<sup>2</sup> незначительно снижается количество CD4<sup>+</sup>-клеток). При этом УФ-свет в используемом диапазоне доз приводит к повышению экспрессии (т. е. к увеличению количества рецепторов на мембране клетки) CD4 (в присутствии плазмы), CD3 и CD8 комплексов на мембранах Т-лимфоцитов, а также CD19-рецепторов В-клеток, тем самым способствуя реализации лимфоцитами иммунного ответа. Наряду с увеличением количества ЦТЛ и НК-клеток происходит активация лимфоцитов (увеличение количества CD25<sup>+</sup> и CD95<sup>+</sup> клеток), причем УФ-свет в используемом диапазоне доз индуцирует экспрессию и ростового фактора ИЛ-2, и его рецептора. В ходе инкубации фотомодифицированных лимфоцитов дозозависимо увеличивается количество клеток, подвергшихся апоптозу или некрозу. Отмеченные изменения более выражены при инкубации лимфоцитов в питательной среде без аутологичной плазмы крови, т.е. в условиях дефицита ростовых факторов и антиоксидантов.

Выявленное повышение уровня экспрессии CD3, CD19, CD8, CD16, CD25 и CD95 комплексов обусловлено, главным образом, их синтезом *de novo*.

Для ряда хронических инфекционных заболеваний, протекающих с реакциями гиперчувствительности замедленного типа, основным звеном защиты является Т-система иммунитета; у таких больных отмечено снижение продукции ИЛ-2 [1]. Снижение активности Т-лимфоцитов рассматривается как критерий вторичного иммунодефицита. Поскольку при УФ-облучении лимфоцитов здоровых доноров усиливается синтез ИЛ-2 и активируются, в первую очередь, именно Т-лимфоциты, представляется важным использовать полученные данные при изучении действия УФ-света в ходе фототерапии на лимфоциты больных с такими заболеваниями.

1. Уразова О.И., Новицкий В.В., Колобовникова Ю.В., Чурина Е.Г. // Бюл. эксп. биол. и мед. 2015. Т. 159. № 3. С. 300-303/

**ВЛИЯНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ КАРОТИНОИДОВ НА СВОЙСТВА АНТЕННЫХ КОМПЛЕКСОВ ИЗ СЕРНЫХ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ****Influence of separate carotenoids on the properties of antenna complexes from sulfur photosynthetic bacteria**

***Ашихмин А.А., Махнева З.К., Большаков М.А., Москаленко А.А.***

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, 142290, Московская обл., Пущино, ул. Институтская, 2

Тел.: +7(4967)73-18-49; факс: +7(4967)33-05-32; e-mail: AshikhminAA@gmail.com

Каротиноиды в бактериальном фотосинтезе выполняют три основные функции – свето-собирающую, фотозащитную и структурную. Во-первых, каротиноиды поглощают энергию квантов света и передают ее к бактериохлорофиллу (БХл). Во-вторых, они тушат триплеты БХл или синглетный кислород, рассеивая полученную энергию в тепло. В-третьих, у бескаротиноидных мутантов пурпурных несерных бактерий антенные комплексы LH2 не собираются, однако с помощью ингибиторов каротиноидогенеза у некоторых серных бактерий можно получить полный набор бескаротиноидных антенных комплексов (LH1-RC и LH2). Ранее у каротиноидов спириллоксантиновой ветви биосинтеза из некоторых пурпурных серных бактерий (*Ect. haloalkaliphila*, *Alc. minutissimum* и др.) было выявлено новое свойство – способность вызывать фотоокисление БХл при облучении сине-зеленым светом.

Целью работы явилось встраивание сфероидена и сфероиденона в антенные комплексы из *Ect. haloalkaliphila* и *Alc. minutissimum*, поскольку у несерной бактерии *Rba. sphaeroides* не наблюдается фотоокисление БХл при облучении сине-зеленым светом.

Биосинтез каротиноидов в клетках *Ect. haloalkaliphila* и *Alc. minutissimum* был подавлен с помощью ингибитора каротиноидогенеза дифениламина (ДФА), что позволило получить практически бескаротиноидные (1-5%) комплексы LH1-RC и LH2 (ДФА-комплексы), у которых полностью сохраняются нативные спектральные характеристики БХл. Было установлено, что эффективность встраивания сфероидена составила 75-87%, а сфероиденона – 40-85%. Встраивание каротиноидов было подтверждено ПААГЭ, ВЭЖХ, измерением спектров поглощения, флуоресценции, возбуждения флуоресценции, КД, повышением термостабильности. Показано, что эффективность переноса энергии от сфероидена на БХл в ДФА-комплексе LH2 из *Ect. haloalkaliphila* составила 45%, а в аналогичном комплексе из *Alc. minutissimum* – 30%. Сфероиденонон в ДФА-комплексах LH2 передавал только 15% энергии. В контрольных комплексах LH2 из *Ect. haloalkaliphila* и *Alc. minutissimum* данный параметр составил ~30%, а у *Rba. sphaeroides* – ≥90%.

Изучено влияние сине-зеленого света на стабильность структуры полученных комплексов LH2. При облучении ДФА-комплексов LH2 со встроенным сфероиденом в течение 30 минут обнаружено фотоокисление полос БХл850 и БХл800 на 70-75% и 30-36%, соответственно, а также интенсивное образование 3-ацетил-хлорофилла. В аналогичных комплексах со встроенным сфероиденоном процесс образования 3-ацетил-хлорофилла был в 3 раза медленнее, а уменьшение поглощения полос БХл850 и БХл800 составило 22-40% и 1-11%, соответственно.

*Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 13-04-01184а, 15-04-02660а и гранта президента РФ НШ-4771.2014.4.*

## НЕИНВАЗИВНЫЙ МОНИТОРИНГ ОТВЕТА НА ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ С ПРИМЕНЕНИЕМ ЧУВСТВИТЕЛЬНОГО К ВЯЗКОСТИ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО СЕНСОРА

### Noninvasive monitoring of photodynamic treatment using fluorescent viscosity probe

***Балалаева И.В.1, Шилягина Н.Ю.1, Плеханов В.И.1,2, Воловецкий А.В.1, Гамаюнов С.В.1,3, Клапшина Л.Г.1,4***

1 – Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

2 – Институт прикладной физики РАН, 603950, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46;

3 – ГБУЗ НО «Нижегородский областной клинический онкологический диспансер», 603126, Нижний Новгород, ул. Родионова, 190

4 – Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, 603137, Нижний Новгород, ул. Тропинина, 49

Тел.: +7(831)462-32-13; факс: +7(831)462-32-02; e-mail: irin-b@mail.ru

Несмотря на широкое практическое применение фотодинамического воздействия при терапии различных заболеваний, до сих пор остается множество вопросов о механизмах, лежащих в основе фотодинамической реакции. Это справедливо как в отношении начальных физико-химических процессов, так и в отношении последующей цепи событий, развивающихся на уровне целого организма и приводящих к регистрируемому физиологическому локальному и системному ответу.

Ранее нами был получен ряд новых тетраарилтетрацианопорфиразинов, уникальной особенностью которых является сочетание свойств фотосенсибилизатора и флуоресцентного молекулярного ротатора. С использованием этих красителей на культуре клеток было показано, что фотодинамическая реакция на облучение сопровождается значительным увеличением времени жизни красителя-сенсора. Это позволило сделать заключение об увеличении внутриклеточной вязкости при фотодинамическом ответе. Целью дальнейших исследований стала проверка данного заключения на целом организме, представляющем собой существенно более сложную систему.

В экспериментах на животных с экспериментальной опухолью показано селективное накопление тетра(4-фторфенил)-тетрацианопорфиразина в опухоли при его введении в кровоток в составе наночастиц на основе полимерных щеток. При этом подтверждена преимущественно внутриклеточная локализация красителя. Локальное световое воздействие на опухоль приводило к развитию выраженного фотодинамического ответа. Для регистрации времени жизни возбужденного состояния флуорофора реализован метод, позволяющий неинвазивно регистрировать сигнал флуоресценции в режиме счета фотонов с поверхности тела животного с помощью волоконного датчика. С помощью данного подхода зарегистрированы характерные времена жизни возбужденного состояния использованного фотодинамического красителя-сенсора до и после светового воздействия, а также в течение нескольких часов после облучения. Анализ полученных данных позволяет сделать вывод о значительном увеличении вязкости в облучаемом участке ткани и оценить его динамику.

Полученные результаты впервые позволили оценить изменение вязкостных свойств клеток опухоли при фотодинамическом воздействии, а тетраарилтетрацианопорфиразины представляются весьма многообещающим инструментом для дальнейшего более глубокого исследования механизмов фотодинамического ответа.

*Авторы выражают благодарность проф. А.В. Якиманскому (ИВС РАН) за предоставленные для исследования полимерные щетки.*

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (проект № 14.Z50.31.0022) и РФФИ (проекты 13-04-40228-Н, 14-02-00753).*

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ УФ-СВЕТА НА ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ЛИМФОЦИТОВ ДОНОРОВ И БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ПАНКРЕАТИТОМ****Study of the effect of UV light on the peculiarities of the metabolism of lymphocytes of donors and patients with acute pancreatitis****Башарина О.В., Артюхов В.Г., Коробкина И.А.**Воронежский государственный университет, 394006, Воронеж, Университетская пл., д.1  
e-mail: bov-bio.@yandex.ru

УФ-свет как модулятор функциональной активности лимфоцитов ведет к изменению метаболизма клеток, переключая субстратные потоки с одного метаболического пути на другой, влияя на энергетические и синтетические процессы в них.

В настоящее время широкое распространение в медицине получил метод аутотрансфузии УФ-облученной крови (АУФОК). АУФОК приводит к улучшению иммунологического статуса организма, что может быть следствием структурно-функциональных изменений иммунокомпетентных клеток, индуцируемых при действии на них УФ-света в дозах, применяемых в фототерапии. АУФОК применяется в том числе для лечения больных острым панкреатитом (ОП). Известно, что при остром панкреатите повышается концентрация глюкозы в крови, это отражается на функционировании клеток и тканей.

Исследовано влияние УФ-света (240 – 390 нм) в дозе 755 Дж/м<sup>2</sup> на активность ключевых ферментов пентозофосфатного пути и гликолиза в лимфоцитах крови человека здоровых доноров и больных острым панкреатитом. Показано, что в ходе суточной инкубации активность гексокиназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы повышается, причем это повышение более выражено в УФ-облученных лимфоцитах. При этом повышение активности ГбФДГ, в отличие от гексокиназы, обусловлено усилением синтеза данного белка.

Активность гексокиназы в лимфоцитах больных ОП значительно выше, чем у здоровых доноров, что указывает на повышение потребления глюкозы активированными лимфоцитами больных (при повышении концентрации глюкозы в крови); в то же время активность ГбФДГ находится в пределах нормальных значений.

Установлено, что фотоинактивация ферментов митохондрий непосредственно после облучения сменяется повышением активности данных ферментов в ходе суточной инкубации лимфоцитов, что указывает на нормализацию биохимических процессов в клетках, облученных дозами УФ-света, используемыми при АУФОК-терапии. Показано, что изменения активности сукцинатдегидрогеназы, цитохром с оксидазы, гексокиназы и ГбФДГ в лимфоцитах здоровых доноров и больных в ходе инкубации после воздействия УФ-света носят разнонаправленный характер.

Таким образом, учитывая высокую информативность метаболических показателей для характеристики функционального состояния лимфоцитов, а также высокую чувствительность клеток иммунной системы к воздействию различных факторов, исследование иммунного статуса и метаболизма лимфоцитов позволяет выявить, наряду с характерными чертами внутриклеточного обмена веществ, особенности реагирования иммунной системы в условиях воздействия УФ-излучения на организм человека.

## ДЕТЕКТИРОВАНИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ ГИГАНТСКОГО КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ

### Detection of water soluble fullerenes derivatives in biological systems by surface enhanced Raman scattering

***Белик А.Ю.1, Полетаева Д.А.1, Рыбкин А.Ю.1, Горячев Н.С.1, Котельникова Р.А.1, Кукушкин В.И.2, Хакина Е.А.1, Трошин П.А.1, Котельников А.И.1***

1 – Институт проблем химической физики РАН, 142432 Московская обл, г. Черноголовка, проспект академика Н.Н. Семенова, 1

2 – Институт физики твердого тела РАН, 142432, Черноголовка

Тел.: +7(496)522-16-45; Факс: (496)5223507. E-mail: kotel@icp.ac.ru

Водорастворимые производные фуллеренов (ВПФ) имеют широкий спектр биологической активности и являются перспективными с точки зрения создания на их основе лекарственных препаратов. Актуальной задачей биологии и фундаментальной медицины является разработка методов детектирования таких наночастиц в тканях организма. Известно, что фуллерены обладают невыраженным спектром поглощения в ультрафиолетовой области и не проявляют флуоресцентных свойств, что затрудняет их детектирование наиболее традиционными спектральными методами. В то же время в силу высокой симметрии углеродного сфероида и эквивалентности 60-ти атомов углерода, фуллерены обладают уникальным спектром рамановского рассеяния, состоящим в основном из одной интенсивной линии при  $1462\text{ см}^{-1}$ , что позволяет с высокой точностью детектировать их как в порошке, так и в растворах при концентрациях до  $10^{-4}$  М. Однако такая чувствительность недостаточна для исследования распределения фуллеренов в тканях в опытах на животных.

Ситуация радикально изменяется при использовании явления гигантского (поверхностно-усиленного) комбинационного рассеяния (ГКР) (в английской транскрипции – surface enhanced Raman scattering (SERS)). Этот метод основан на эффекте значительного, на несколько порядков, усиления рамановского рассеяния молекулами за счет взаимодействия их электромагнитных диполей с плазмонными колебаниями, возникающими на шероховатой поверхности металлических (серебряных или золотых) наночастиц. Такой подход позволяет детектировать молекулы вещества, не обладающего флуоресцентными свойствами, на поверхности специально подготовленных подложек при концентрациях  $10^{-7} - 10^{-12}$  М, что сопоставимо по чувствительности с методом флуоресценции.

В настоящей работе метод ГКР впервые применен для детектирования водорастворимых производных фуллеренов и их ковалентных комплексов с красителями в биологических объектах.

Проведен цикл исследований спектров ГКР ряда водорастворимых катионных и анионных производных фуллеренов, а также ковалентных конъюгатов фуллерен-флуоресцеин в водных растворах, в структуре альбумина, в модельных биологических мембранах – фосфатидилхолиновых липосомах, и в гомогенатах тканей. Исследованы и проанализированы зависимости амплитуды и формы спектров от концентрации ВПФ, молекул белков и соотношения [ВПФ]/[липид], а также от способов нанесения препаратов на подложку. Показано, что фуллерены и их комплексы с красителями могут регистрироваться при концентрациях в диапазоне  $10^{-6} - 10^{-8}$  М, что позволяет применять данный метод для исследования фармакокинетики производных фуллеренов.

*Исследования поддержаны Программой Президиума РАН №1 «Наноструктуры: физика, химия, биология, основы технологий» и грантом РФФИ № 14-04-31587 мол\_а.*

**О ВОЗМОЖНОМ УЧАСТИИ СИСТЕМЫ ЦИТОХРОМА P450 В СВЕЧЕНИИ ВЫСШИХ ГРИБОВ****The possible involvement of the cytochrome P450 system in the luminescence of higher fungi**

**Бондарь В.С., Пузырь А.П., Медведева С.Е., Артеменко К.С., Тяглик А.Б., Родичева Э.К., Гительзон И.И.**

Институт биофизики СО РАН, 660036, Красноярск, Академгородок, 50, стр.50

Тел.: +7(391)290-50-49; факс: +7(391)243-34-00; e-mail: bondvs@mail.ru

Наши исследования светящихся высших грибов [1-4] подтверждают идею об участии активных форм кислорода (АФК) и ферментов с оксидазной функцией в механизме свечения [5] и указывают на взаимосвязь грибной люминесцентной системы с мембранными структурами. Высказано предположение, что в люминесцентной реакции могут принимать участие оксидазы лигнинолитического комплекса, система цитохрома P450 и ферменты дыхательной цепи. Эти системы могут продуцировать АФК, а две из них (оксидазы лигнинразрушающего комплекса и система цитохрома P450) – окислять органические субстраты (включая люциферин) с участием АФК.

Из мицелия гриба *Neonothopanus nambi* нами получены экстракты, содержащие люминесцентную систему и обладающие свечением *in vitro* [6]. Выделенная система представляет собой комплекс, включающий белковые и небелковые компоненты, обеспечивающие реакцию свечения. Условия выделения системы указывают на наличие в экстрактах мембранных структур (наблюдается положительный эффект Тиндаля), в частности, структур эндоплазматического ретикулума (ЭПР) – целых микросом или их фрагментов. Спектральный анализ экстрактов (после их восстановления дитионитом и обработки СО) показал наличие двух пиков с  $\lambda_{\max} = 410$  нм и  $\lambda_{\max} = 450$  нм, что свидетельствует о присутствии в образцах цитохромов P450 и  $b_5$ .

Люминесцентные системы, выделенные из мицелия *N. nambi* и четырех штаммов грибов рода *Armillaria*, активируются восстановленными пиридиновыми нуклеотидами. Причем эффективность функционирования систем существенно выше в присутствии НАДФН, по сравнению с НАДН. Показано, что для НАДФН значения  $V_{\max}$  люминесцентной реакции в 1.5 – 2 раза больше, а кажущихся  $K_m$  в 1.5 – 2 раза меньше, чем для НАДН. Установлено, что добавка пероксида водорода к излучающей системе *N. nambi*, активированной НАД(Ф)Н, увеличивает интенсивность световой эмиссии от нескольких раз до 1-2 порядков и более. Известно, что ингибиторами цитохромов P450 являются азольные соединения [7]. Показано, что добавка флуконазола (5 – 60 мкг в пробе) ингибирует активность излучающих систем из *N. nambi* и *Armillaria*, снижая как исходный уровень их свечения, так и уровень свечения при добавках НАД(Ф)Н.

Совокупность экспериментальных фактов позволяет предполагать, что в механизм грибного свечения могут вовлекаться электронно-транспортные ферментные системы ЭПР: НАДФН-зависимая редуктаза цитохрома P450 – цитохром P450 и НАДН-зависимая редуктаза цитохрома  $b_5$  - цитохром  $b_5$ .

1. Бондарь В.С., Пузырь А.П. и др. / ДАН, 2011. Т.438. С.705-707.
2. Bondar V.S., Shimomura O. et al. / J. Sib. Fed. Univ. Biol., 2012. V.5. P.331-351.
3. Бондарь В.С., Родичева Э.К. и др. / ДАН, 2013. Т.449. С.223-227.
4. Kobzeva T.V., Melnikov A.R. et al. / Luminescence, 2014. V.29. P.703-710.
5. Shimomura O. / Exp. Botany, 1992. V.43. P.1519-1525.
6. Бондарь В.С., Пузырь А.П. и др. / ДАН, 2014. Т.455. С.346-348.
7. Kelly S.L., Lamb D.C. et al. / Biochem. Soc. Transact., 2001. V.29. P.122-128.

## ИЗУЧЕНИЕ ПРОДУКЦИИ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> В КЛЕТКАХ HeLaKyoto В ОТВЕТ НА ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ С ПОМОЩЬЮ ГЕНЕТИЧЕСКИ КОДИРУЕМОГО СЕНСОРА HyPer

### Study of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production induced in HeLaKyoto cells by photodynamic treatment using genetically coded sensor HyPer

**Брилкина А.А., Дуденкова В.В., Балалева И.В.**

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

Тел.: +7906-26-35-124; факс: +7(831)462-32-02; e-mail: annbril@mail.ru

Фотодинамическая реакция, результатом которой является гибель клеток при их облучении в присутствии фотосенсибилизатора, происходит в результате продукции активных форм кислорода. До недавнего времени считалось, что в этой реакции в основном образуется синглетный кислород, появление остальных форм АФК, и, прежде всего, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> изучено недостаточно. Необходимо отметить, что пероксид водорода наряду со свойствами окислителя является участником сигнальных путей. В таком случае важно не только выявить появление этой формы АФК, но и проследить динамику ее накопления. Цель работы заключалась в анализе накопления H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в клетках при фотодинамическом воздействии с помощью генетически кодируемого сенсора HyPer.

В работе использовали такие фотосенсибилизаторы как Фотодитазин, Радахлорин, Фотосенс, Фталосенс и Холосенс, препараты добавляли в клеточную питательную среду до конечной концентрации 10 мкг/мл. Продукцию H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> анализировали, используя ратиометрический флуоресцентный генетически-кодируемый сенсор HyPer [1]. Клетки линии HeLaKyoto HyPer-cyto, экспрессирующие этот белок, инкубировались в среде с фотосенсибилизаторами в течение часа и затем облучались при длине волны 633 нм. Для каждого препарата использовалась соответствующая полунлетальная доза света. Фотодинамическое воздействие и исследование продукции H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> проводили с помощью комплекса лазерной сканирующей микроскопии LSM 510 (Carl Zeiss) снабженного системой жизнеобеспечения клеток. Флуоресценция белка HyPer возбуждалась последовательно на двух длинах волн аргонового лазера (458 нм и 488 нм) и регистрировалась в диапазоне 500-530 нм. Изменение уровня H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> определялось по изменению отношения F<sub>488</sub>/F<sub>458</sub> – полезных сигналов флуоресценции из цитоплазмы клеток при соответствующих длинах волн возбуждения.

Фотодинамическое воздействие вызывало продукцию H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в клетках при использовании всех фотосенсибилизаторов. Были выявлены два типа динамического ответа накопления H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> после облучения с разными препаратами. В присутствии Фотодитазина и Холосенса происходило постепенное нарастание уровня H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в 1,5-2 раза за 50 минут. С другой стороны, после облучения в присутствии Радахлорина и Фталосенса наблюдался быстрый всплеск содержания H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: в течение первых 15 минут после облучения отмечалось повышение на 40 % от исходного уровня с последующим снижением, что в результате сопровождалось гибелью клеток.

*Работа выполнена в рамках Госзадания (проект № 2460).*

*Авторы выражают благодарность д.б.н. В.В. Белоусову (ИБХ РАН) за предоставленную клеточную линию HeLaKyoto HyPer-cyto и проф. Е.А. Лукьянцу (ГНЦ «НИОПИК») за препараты Фталосенс и Холосенс.*

1. Belousov V.V., Fradkov A.F. / Nat Methods, 2006. 3 (4), P.281-286



## МОДЕЛИРОВАНИЕ ФОТОХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ ПТЕРИНОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ УЛЬТРАФИОЛЕТА

### Modeling primary reactions of reduced pterins under UV

**Буглак А.А., Телегина Т.А., Крицкий М.С.**

Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ Биотехнологии РАН, 119071, Москва Ленинский пр., 33, корп. 2

Тел.: +7(495)952-34-31; факс: +7(495)954-27-32; e-mail: andreybuglak@gmail.com

Птерины – низкомолекулярные соединения, в основе строения которых лежит конъюгированная система пиримидинового и пиразинового колец. Это роднит их одновременно с азотистыми основаниями нуклеиновых кислот, имеющими в составе пиримидиновое кольцо, и флавинами, в которых птериновая структура дополнена ароматическим кольцом. Основное фотохимическое свойство азотистых оснований – их фотоустойчивость. Эффективная диссипация энергии возбуждения азотистыми основаниями играет ключевую роль для фотостабильности РНК и ДНК, и, по-видимому, имела ключевое значение для отбора этих молекул на роль строительных блоков нуклеиновых кислот в условиях интенсивной ультрафиолетовой радиации при абиогенезе. С другой стороны, флавины являются кофакторами ферментов, а также выступают в роли хромофоров в составе криптохромов, фототропинов и ДНК-фотолиаз. Биологическая значимость птеринов обусловлена их участием в работе ферментов. Так, например, 5,6,7,8-тетрагидробиоптерин ( $H_4$ Бип), является кофактором NO-синтаз и гидроксилаз ароматических аминокислот. Помимо прочего птерины широко распространены в природе в качестве красителей. В последнее время появились данные об участии восстановленных птеринов ( $H_4$ птеринов) в рецепции УФ-Б цианобактериями и растениями, вследствие чего фотохимия птеринов представляет огромный интерес. Фотохимия окисленных птеринов (красителей) уже отчасти исследована, в то время как о фотобиохимии восстановленных птеринов (кофакторов) до сих пор не было ничего известно. Мы исследовали фотоокисление  $H_4$ Бип – определили кинетику процесса и его продукты. В отсутствие кислорода  $H_4$ Бип стабилен. В присутствии кислорода продукты разложения  $H_4$ Бип (в первую очередь, окисленные птерины) ускоряют процесс фотодеградации  $H_4$ Бип, играя роль сенсibilизаторов.  $H_4$  птерины не флуоресцируют, и, следовательно, их способность к переносу энергии на окружающие молекулы ограничена. Мы предположили, что при рецепции УФ-Б фотонов передача сигнала может происходить посредством изменения конформации молекулы. Действительно, конформация бокового заместителя  $H_4$ птеринов может меняться при возбуждении ультрафиолетом в силу наличия у возбужденного  $S_1$  состояния молекулы избыточной колебательной энергии. Время жизни измененной, экваториальной конформации в  $S_0$  состоянии составляет 2,5 нс. По-видимому, этого вполне достаточно для передачи сигнала на апобелок УФ-Б рецептора. Колебательная релаксация  $H_4$ птеринов проходит путем внутренних деформаций пиримидинового кольца. Внутренние колебания пиримидинового кольца обеспечивают быструю конверсию  $S_1$  в  $S_0$  и обеспечивают фотостабильность молекулы. Мы полагаем, что  $H_4$ птерины могли играть роль УФ-рецепторов на ранних этапах эволюции. Особенности строения птеринов обуславливают сходство их фотохимических свойств одновременно с азотистыми основаниями нуклеиновых кислот и с флавинами. Наша работа восполняет пробел в исследовании фотохимии птеринов - важного класса гетероциклических соединений.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-31885 мол\_а.*

## ВЛИЯНИЕ УФ ОБЛУЧЕНИЯ НА ТРАНСФОРМАЦИЮ ФОЛАТОВ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ

### The effect of UV irradiation on the transformation of folates in aqueous solution

***Ю. Л. Вечтомова, Т. А. Телегина, А. А. Буглак, М.С. Крицкий***

Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук. 119071 Москва, Ленинский пр-т, 33, стр. 2  
Тел.: +7(495)952-15-00; факс: +7(495) 954-2732; e-mail: [vechtomova@inbi.ras.ru](mailto:vechtomova@inbi.ras.ru)

Интерес к фолатам как объектам фотобиохимического исследования обусловлен их участием в физиологической рецепции света. Так, 5,10-метенилтетрагидрофолиевая кислота (5,10-метенил-ТГФК) играет роль «антенны» в белках семейства ДНК-фотолиаз и криптохромов. Фолиевая кислота (птероил-L-глутаминовая кислота, витамин В9, *сокр.* ФК) и её восстановленные коферментные производные участвуют в метаболизме живых организмов. Прежде всего, производные ФК необходимы растущим и делящимся клеткам, поскольку являются кофакторами ферментов - переносчиков одноуглеродных групп, участвующих в биосинтезе аминокислот и оснований нуклеиновых кислот. Известно, что под действием УФ-излучения диапазона 280-400 нм фолаты разрушаются, что может являться причиной дефицита данного витамина у людей со слабопигментированной кожей под воздействием солнечного излучения. Согласно одной из гипотез, необходимость защитить производные ФК от фотодеструкции могла быть одним из ключевых факторов формирования темной окраски кожи у людей, проживающих в районах с высокой интенсивностью УФ-излучения, в процессе эволюции [1].

Моделирование процессов, происходящих с ФК и её восстановленными производными под действием УФ-излучения в растворе, может быть использовано при исследовании фотобиохимии ФК *in vivo*. Ранее нами была исследована фотохимия кофактора тетрагидробиоптерина (Н<sub>4</sub>Бип) [2], который, как и ФК, относится к группе птериновых кофакторов ферментативного катализа. Показано, что роль сенсibilизаторов при фотоокислении тетрагидробиоптерина играют окисленные птерины – продукты разложения Н<sub>4</sub>Бип, в частности, биоптерин. Молекула ФК под действием УФ-излучения в присутствии кислорода воздуха разрушается с образованием 6-формилптерина (6Фпт) и п-аминобензоилглутаминовой кислоты. Аналогично тому, как биоптерин сенсibilизирует окисление Н<sub>4</sub>Бип, 6Фпт сенсibilизирует фотодеструкцию фолиевой кислоты.

Данное сообщение посвящено изучению влияния УФ-излучения как на молекулы самой ФК, так и на её восстановленные коферментные производные. Показано, что в водном растворе в присутствии кислорода устойчивость 5,10-метенил-ТГФК была более чем на порядок выше, чем у родственных тетрагидровосстановленных фолатов. Переход 5,10-метенил-ТГФК в 5-формил-ТГФК в растворе при различных рН может служить моделью аналогичного процесса в живых организмах, происходящего при участии фермента 5,10-метенилтетрагидрофолатциклогидролазы. При изучении влияния УФ-излучения на этот переход нами было показано, что свет приводит к накоплению продуктов деградации 5,10-метенил-ТГФК.

1. Jablonski N.G. and Chaplin G./ Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2010, V. 107, suppl. 2, P. 8962-8968.
2. Buglak A.A., Telegina T.A., Lyudnikova T.A., Vechtomova Yu.L., Kritsky M.S. / Photochem Photobiol., 2014, V. 90, P. 1017-1026.

**ИССЛЕДОВАНИЕ БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЬЮГАТА АМИНОАМИДНОГО ПРОИЗВОДНОГО ХЛОРИНА Е6 С БИСДИКАБОЛЛИДОМ КОБАЛЬТА****The study of biodistribution of chlorin e6 aminoamide derivative conjugated with cobalt bis(dicarbollide)*****Воловецкий А.Б.1, Шилягина Н.Ю.1, Дуденкова. В.В.1, Юшко Я.А.1, Феофанов А.В.2, Балалаева И.В.1, Масленникова А.В.1,3***

1 – Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 603950, Н. Новгород,  
2 – Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10  
3 – Нижегородская государственная медицинская академия, 603005, Н.Новгород,  
Тел.: +7(920)0469573; факс: +7(831)462-32-02; e-mail:voloveckiy91@gmail.com

Перспективным методом лучевой терапии онкологических заболеваний является бор-нейтронзахватная терапия (БНЗТ), основанная на относительно избирательном накоплении в раковых клетках нерадиоактивного изотопа бора-10 и его последующей активации потоком тепловых нейтронов. Ограничением для внедрения БНЗТ в клинику является отсутствие эффективных методов селективной доставки бора в опухоль. Одним из многообещающих направлений в области создания препаратов для БНЗТ является использование конъюгатов порфиринов с полиэдрическими соединениями бора. Задачей исследования являлось изучение биораспределения конъюгата аминоксидного производного хлорина е6 (n=6) с бисдикаболлидом кобальта. Исследование выполнено на мышах линии Balb/c с привитой опухолью СТ-26. Эксперимент проводили на 9-10 день, когда размер опухолевого узла достигал 5-7 мм. Препарат вводили животным в хвостовую вену в дозе 5 или 10 мг/кг. Через 3 часа после введения препарата животных умерщвляли и проводили анализ образцов тканей с использованием системы лазерной сканирующей микроскопии. Определяли средний уровень сигнала флуоресценции исследуемого соединения по площади изображений исследованных образцов опухоли и нормальных тканей животных. В качестве контроля использовали органы и ткани животного без введения препарата. Изучение образцов опухолевой ткани выявило появление в ней сигнала флуоресценции при обеих исследованных дозах наноконъюгата через 3 часа после инъекции. Характерной особенностью накопления флуорофора в опухоли была неравномерность его распределения в различных участках, что может быть связано с особенностями сосудистого русла опухоли, в том числе неравномерностью и хаотичностью формирующихся сосудов. Высокий уровень накопления конъюгата был зарегистрирован в печени, почках, селезенке и легочной ткани, что соответствует данным фармакокинетики, полученным для препаратов хлоринового ряда. Количественный анализ уровня сигнала флуоресценции в образцах тканей позволил показать зависимость биораспределения наноконъюгата от введенной дозы. После введения препарата в дозе 5 мг/кг содержание его в опухоли практически не отличалось от содержания в мышечной ткани и коже. Максимальное накопление препарата отмечалось в печени. При повышении дозы до 10 мг/кг отношение сигналов флуоресценции опухоль/мышца составило ~3, при этом содержание наноконъюгата в печени не превышало таковое в опухоли. Таким образом, исследуемый препарат продемонстрировал селективное накопление в опухоли, что показывает его перспективность как агента БНЗТ.

*Авторы благодарят проф. Грина М.А. и проф. Миронова А.Ф. (МИТХТ) за предоставленный для препарата. Работа поддержана Минобробразования России (проект № 14.Z50.31.0022) и РФФИ (проект 14-02-00715).*

## ГЕНЕТИЧЕСКИ КОДИРУЕМЫЙ FRET-СЕНСОР НА ОСНОВЕ ХЕЛАТА ТЕРБИЯ И КРАСНОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО БЕЛКА ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ АКТИВНОСТИ КАСПАЗЫ-3

Genetically encoded FRET-sensor based on terbium chelate and red fluorescent protein for detection of caspase-3 activity

*Горященко А.С.1, Бочкова А.А.2, Хренова М.Г.2, Ивашина Т.В.3, Винокуров Л.М.4, Савицкий А.П.1*

1 – Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ Биотехнологии РАН, 119071, Москва Ленинский пр., 33, корп. 2

2 – Химический факультет МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 3

3 – Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, 142290, Московская область, г. Пущино, проспект Науки, 5

4 – Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 142290, Московская область, г. Пущино, проспект Науки, 6

Тел.: +7(495)954-65-12;; e-mail: asgoryash@inbi.ras.ru

Для изучения ферментативной активности в живых клетках активно разрабатываются FRET-биосенсоры, в основе действия которых лежит метод индуктивно-резонансного переноса энергии. Использование в качестве доноров во FRET-паре флуоресцирующих комплексов лантанидов, отличительной особенностью которых является микросекундная флуоресценция, и спектроскопии с временной задержкой, позволяет элиминировать короткоживущий фоновый сигнал, связанный с автофлуоресценцией биомолекул и светорассеянием. Кроме того, при измерениях с временной задержкой детектируется только сенсibilизированная флуоресценция акцептора, что решает проблему одновременного возбуждения флуоресценции донора и акцептора и тем самым повышает динамический диапазон измерений, а также увеличивает точность определения эффективности FRET. В нашей лаборатории был разработан генетически кодируемый FRET-сенсор на каспазу-3 Tb3+-TBP-19-TagRFP, где в качестве донора использован Tb3+ в комплексе с тербий-связывающим пептидом YIDTNN DGWYEGDELLA, гибкий линкер VDGGSGGDEVDGWGGSGLD с сайтом узнавания каспазы-3 (DEVD) и красный флуоресцентный белок TagRFP в качестве акцептора. Нам удалось впервые детектировать сенсibilизированную флуоресценцию TagRFP с использованием спектроскопии с временной задержкой. Этот подход позволяет решить проблему прямого возбуждения акцептора вследствие перекрытия спектров донора и акцептора. В работе [1] эффективность FRET, равная 44%, была рассчитана по изменению времени жизни флуоресценции донора – иона тербия – с 0,33 мс для обесцвеченной формы Tb3+-TBP-19-TagRFP до 0,18 мс для исходной формы. Этот подход также позволяет избежать перекрытия спектров, однако время жизни флуоресценции тербия может изменяться из-за изменений в координационной сфере тербия, снижая тем самым точность измерений. Прямая детекция сенсibilизированной флуоресценции TagRFP с использованием спектроскопии с временной задержкой позволяет избавиться от обеих вышеуказанных проблем, поскольку детектируется только сигнал, обусловленный FRET, тогда как фоновая флуоресценция и сигнал непосредственно возбужденного TagRFP затухают в течение времени задержки. Мы также рассчитали, что Kd комплекса Tb3+ и TBP-19-TagRFP составляет 17±7 мкМ. Наконец, моделирование методом молекулярной динамики позволило нам получить распределение расстояний между донором и акцептором в сенсоре Tb3+-TBP-19-TagRFP. Рассчитанная эффективность FRET составила 43%, что хорошо согласуется со значением 44%, полученным из эксперимента [2].

1. Arslanbaeva L.R., Zherdeva V.V., Ivashina T.V., Vinokurov L.M., Morozov V.B., Olenin A.N., Savitskii A.P. / Biofizika, 2011, T.56. C.389–395.

2. Goryashchenko A.S., Khrenova M.G., Bochkova A.A., Ivashina T.V., Vinokurov L.M., Savitsky A.P. / Int. J. Mol. Sci., 2015. T.16. C.16642-16654.

**ФОТОДИНАМИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ПРИ СОЧЕТАННОМ ДЕЙСТВИИ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА И НАНОЧАСТИЦ КОЛЛОИДНОГО ЗОЛОТА****Photodynamic effect at combination of photosensitizer and colloidal gold nanoparticles****Жорина Л.В.**Московский государственный технический университет им. Н.Э. Баумана, 105005, Москва, 2<sup>ая</sup> Бауманская ул., д.5Тел.: +7 (499) 263-61-13, факс +7 (499) 263-62-52, e-mail: [larisa7777@li.ru](mailto:larisa7777@li.ru)

Фототермическая терапия с использованием золотых наночастиц – интенсивно развиваемое направление в лечении как опухолей, так и инфекционных заболеваний: наночастицы имеют максимум поглощения в видимой или ближней ИК области и при соответствующем облучении сильно разогреваются. Если при этом они находятся внутри или вокруг клеток-мишеней, то эти клетки погибают. Исследования показали, что быстрый нагрев наночастиц или кластеров приводит к формированию паровых пузырьков, которые могут вызывать и кавитационное повреждение клеток.

Для фотодинамического воздействия (ФДВ) используются фотосенсибилизаторы (ФС) с положением максимума поглощения в тех же областях спектра. Представляется перспективным сочетанное действие ФС и коллоидных металлов при ФДВ. Исследователи отмечают усиление фотодинамического и фототермического эффектов при облучении лазером в ближней инфракрасной области клеток, обработанных ФС и коллоидным золотом.

Нами изучено влияние коллоидного золота на фотодинамический эффект (ФДЭ) с использованием ФС Радахлорин с максимумом спектра поглощения в суспензии эритроцитов на 655 нм. По данным сканирующей электронной микроскопии размер применявшихся коллоидных частиц составляет 15...20 нм. Поглощение использованного коллоидного золота находится в районе 450...580 нм. Эксперименты проводились на суспензии эритроцитов, которая облучалась светодиодной матрицей сферической формы с максимумом спектральной плотности на длине волны 656 нм.

Обнаружено, что добавление коллоидного золота к сенсibilизированной суспензии эритроцитов в концентрации от 3,7 % до 0,5 % от объёма суспензии снижало пороговую дозу начала ФДЭ до 35%. Эта величина зависела от времени инкубации суспензии с коллоидным золотом и концентрации наночастиц в суспензии. При концентрации коллоидного золота 0,25 % от объёма суспензии доза начала ФДЭ увеличилась по сравнению с контрольным образцом (без золотых наночастиц). Таким образом, можно предположить, что минимальная концентрация коллоидного золота, при которой еще происходит уменьшение пороговой дозы начала ФДЭ, находится в пределах [0,25 %; 0,5 %] от объёма суспензии эритроцитов.

Контрольные эксперименты по облучению образцов, инкубированных с коллоидным золотом без ФС, выявили полное разрушение эритроцитов при дозах до 20 раз больших, чем в образцах, инкубированных с ФС. Наблюдения за температурой образцов при облучении суспензии эритроцитов с добавлением коллоидного золота, а также при облучении неразведённого коллоидного золота, выполненные с помощью тепловизора с температурным разрешением 0,05 К, не выявили их нагрева. Следовательно, уменьшение дозы начала ФДЭ при добавлении к сенсibilизированной суспензии эритроцитов коллоидного золота вероятно не связано с тепловым действием последнего.

Таким образом, наночастицы коллоидного золота могут быть использованы в качестве катализатора ФДВ ФС.

## СПЕЦИФИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ СИНЕГО ОСВЕЩЕНИЯ НА ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГЕМАТОРЕТИНАЛЬНОГО БАРЬЕРА И СОСУДИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ГЛАЗА ЯПОНСКОГО ПЕРЕПЕЛА *COTURNIX JAPONICA*

**Зак П.П.1, Погодина Л.С.2, Серезникова Н.Б.1,2, Сигаева А.О.2, Трофимова Н.Н.1, Гурьева Т.С.3, Дадашева О.А.3**

1 – Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119994, Москва, ул. Косыгина 4

2 – Биологический факультет МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12

3 – Институт медико-биологических проблем РАН, 123007, Москва, Хорошевское шоссе, д. 76 А  
Тел.: +7(495)939-74-22; факс: +7(499)137-41-01; e-mail: pavelzak@mail.ru

Исследовано состояние структур ретинального пигментного эпителия РПЭ и собственной сосудистой оболочки глаза (ССО) японского перепела *Coturnix japonica* при повседневном освещении птиц синим светом (450-470 нм) в сравнении с содержанием при стандартной лампе накаливания (доминирующая спектральная полоса 500-700 нм, 50 Вт, 200 лк на уровне середины клетки – 40 см). Оба вида освещения были выровнены по мощности: 0,002 Вт/см<sup>2</sup>, суточный световой режим состоял из 15 часов освещения и 9 часов ночной темноты. Раздельное содержание птиц при разных световых режимах было начато с их шестинедельного возраста и продолжалось до 52-х недельного возраста. Японский перепел является хорошо апробированной животной моделью быстрого старения и его годичный возраст соответствует примерно 70 годам человеческой жизни [1]. Было показано, что у молодых птиц 15-ти недельного возраста синее освещение вызывало активацию обменных процессов, заключающееся в полуторократном повышении численности митохондрий и фагосом в РПЭ, а также в 30% увеличении численности капилляров ССО. В то же время, у старых 52-х недельных птиц повседневное синее освещение приводило к двукратному уменьшению численности кровеносных сосудов и 30% снижению численности капилляров ССО [2]. На уровне РПЭ у старых 52-х недельных птиц, независимо от различий в условиях освещения, наблюдались резко выраженные возрастные структурные нарушения на уровне гематоретинального барьера: появление видоизмененных митохондрий, нарушение упорядоченности базальных отростков и гомогенности мембраны Бруха [3]. По мнению авторов повседневное освещение с избыточной синей компонентой ускоряет темп обменных процессов в организме и может приводить к ускоренному старению организма. Предположительным акцептором этих процессов может являться мелатонин, так как спектр действия по регуляции синтеза мелатонина приходится на селективную спектральную полосу 450 – 470 нм. Причем, у перепела около 30% мелатонина крови, а у человека около 10%, синтезируется непосредственно в сетчатке глаза.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ (гранты №14-04-01072 и №15-29-0365).*

1. Зак П.П., Зыкова А.В. и др. / Сенсорные системы, 2012. Т. 26. С.3-10.
2. Зак П.П., Серезникова Н.Б. и др. / Биохимия, 2015. Т. 80. № 6. С. 931–936.
3. Сигаева А.О., Серезникова Н.Б. и др. / Сенсорные системы, 2015. Т. 29. №4. (принята к печати)

**МНОГОКОМПОНЕНТНАЯ СИСТЕМА СПЕКТРАЛЬНОГО ТЮНИНГА ГЛАЗ КРЕВЕТОК *MYSIS RELICTA* (CRUSTACEA, MYSIDAE)****Multicomponent system of eye spectral tuning of opossum shrimp *Mysis relicta* (Crustacea, Mysidae)****Зак П.П.1, Линдстрём М.2, Островский М.А.1, Доннер К.З.**

1 – Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119994, Москва, ул. Косыгина 4

2 – Твэрминеннская зоологическая станция Хельсинского Университета, FIN-10900, J.A., Palménin tie 260, Hanko, Finland

3 – Биоцентр Хельсинского Университета, P.O.Box 65, Helsinki (Viikinkaari 1), Finland

Тел.: +7(495)939-74-22; факс: +7(499)137-41-01; e-mail: pavelzak@mail.ru

Исследованы механизмы адаптации спектральной чувствительности глаз креветок *Mysis relicta* к красно-коричневой световой среде (финское озеро Пааярви; доминирующая спектральная полоса 630–730 нм). Использованы микроспектрофотометрия одиночных зрительных клеток и микроэлектродная суммарная электроретинография (ЭРГ), а также гистологическое исследование локализации глазных светофильтрующих пигментов. Показано, что глаза данных креветок содержат красно- и зеленочувствительные фоторецепторные клетки со зрительными пигментами P560 нм и P530 нм, соответственно [1]. При этом суммарный спектр поглощения спектральной смеси этих двух зрительных пигментов имеет максимум около 555 нм, в то время, как ЭРГ- спектральная чувствительность темноадаптированных глаз имеет максимум чувствительности около 610 нм, то есть сдвинута на 45 нм в длинноволновую сторону по отношению к спектрам поглощения собственно зрительных пигментов [2]. Согласно микроспектрофотометрическим и гистологическим данным, механизм этого спектрального сдвига основан на поглощении коротковолнового синего света светоэкранирующим пигментом ксантомматинном, расположенным перед слоем фоторецепторов [3]. В последнее время мы показали, что красночувствительные и зеленочувствительные клетки находятся в реципрокных отношениях, регулирующих спектральную чувствительность глаза в зависимости от уровня световой адаптации. В целом, в настоящей работе показано, что спектральный тюнинг этих животных к световой среде обитания включает коррекцию спектрального состава света с помощью внутриглазной светофильтрации, а также нейрональную регулировку соотношения долевого активности красночувствительных и зеленочувствительных клеток в зависимости от уровня освещения, подобно палочково-колбочковой системе человека. Предполагается, что данная дихроматичная зрительная система может использоваться *M.relicta* для оценки глубины местонахождения путем контроля долевого участия сине-зеленого света по мере глубины погружения.

*Работа была выполнена в рамках Проекта №10 между Российской Академией Наук и Академией Наук Финляндии, а также Программы №7 Президиума РАН «Механизмы интеграции молекулярных систем при реализации физиологических функций».*

1. Зак П.П., Линдстрём М. и др. / ДАН. 2013. Т. 449, № 2, С. 240–245.
2. Jokela-Määttä M., Pahlberg J. et al. / J. Comp. Physiol. A, 2005. V. 191. № 12. P. 1087-1097.
3. Абу Хамидах А.Е., Демчук Ю.В. и др. / Вестник МГУ. Биология. 2010. № 2. С. 9–14.

## ЛЮМИНОФОРЫ СВЕТЯЩЕГОСЯ ГРИБА *NEONOTHOPANUS NAMBI*

### Luminophores of the luminous fungus *Neonothopanus nambi*

**Зернов Ю.П.1, Кобзева Т.В.1, Карогодина Т.Ю.1, Стась Д.В.1, Алексеев А.А.1, Нефедов А.А.2**

1 – Институт химической кинетики и горения СО РАН, 630090, Новосибирск, ул. Институтская, 3

2 – Институт органической химии СО РАН, 630090, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 9

Тел.: +7(952)931-37-88; факс: +7(383)330-73-50; e-mail: zernov.yu@yandex.ru

Получение из биомассы светящихся высших грибов флуоресцентных соединений открывает перспективы исследования их свойств и возможного участия в механизмах грибного излучения. Задача данной работы состояла в выделении из мицелия светящегося гриба *Neonothopanus nambi* люминофора (люминофоров) и изучении их свойств.

Водные экстракты, содержащие люминофоры, получали из биомассы мицелия *N. nambi*, выращенного по разработанной ранее технологии [1]. Наличие люминофоров в экстрактах регистрировали по флуоресценции при длинах волн возбуждения 375 и 450 нм, подобранных экспериментально.

В спектре флуоресценции исходных экстрактов, кроме пика в зеленой области с максимумом 520 - 530 нм, который соответствует максимуму излучения гриба *in vivo* [2], зарегистрирован дополнительный пик световой эмиссии, имеющий максимум в синей области. Из экстрактов выделено несколько фракций, содержащих люминофоры, которые различаются спектрами флуоресценции. При очистке органическими растворителями получен образец хроматографически однородного люминофора. После растворения в хлороформе и возбуждении длиной волны 375 нм спектр его флуоресценции наблюдался в фиолетово-синей области с максимумами 410 и 430 нм. В водных растворах люминофор имел максимум флуоресценции в синей области (450 нм). По данным масс-спектрометрии молекулярная масса люминофора составила 894 Da. На основании результатов проведенных исследований предложено пять наиболее вероятных брутто-формул выделенного люминофора:  $C_{52}H_{65}N_2O_{11}$ ,  $C_{51}H_{65}N_4O_{10}$ ,  $C_{53}H_{61}N_6O_7$ ,  $C_{47}H_{65}N_4O_{13}$  и  $C_{46}H_{65}N_6O_{12}$ .

При очистке экстрактов дополнительно получен образец, содержащий соединения желтого цвета, обладающие флуоресценцией. Эти люминофоры не флуоресцируют при возбуждении длиной волны 375 нм, а возбуждение длиной волны 450 нм приводит к флуоресценции в зеленой области спектра с максимумом при 520 нм. Смещение волны возбуждения в длинноволновую область сопровождается смещением максимума флуоресценции на 540 нм. Это указывает на наличие в полученном образце нескольких люминофоров, различающихся максимумами флуоресценции. Фотолиз грибных экстрактов светом в области 440-450 нм приводит к уменьшению флуоресценции в зеленой области на 40%, а обработка избытком дитионита натрия вызывает обратимое падение уровня флуоресценции на 24%. Добавление избытка дитионита натрия к грибному экстракту подвергнутому фотолизу не вызывает изменения спектра флуоресценции, что указывает на то, что одним из люминофоров, флуоресцирующих в зеленой области, по-видимому, является рибофлавин или его производное (ФАД, ФМН).

Авторы признательны сотрудникам ИБФ СО РАН (Красноярск), А.П.Пузырю, Е.С.Медведевой и В.С.Бондарю, за предоставление образцов биомассы мицелия *N. nambi* и полезное обсуждение полученных результатов.

1. Бондарь В.С., Пузырь А.П. и др. / ДАН, 2011. Т.438. С.705-707.
2. Kobzeva T.V., Melnikov A.R. et al. / Luminescence, 2014. V.29. P.703-710.



**ОЦЕНКА ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ ФОРМ ПРОИЗВОДНЫХ ХЛОРИНА E6 В КУЛЬТУРЕ ЛЕЙКЕМИЧЕСКИХ КЛЕТОК: ФОТОЦИТОТОКСИЧНОСТЬ, ВНУТРИКЛЕТОЧНАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ, АПОПТОЗ**

**Evaluation of photodynamic activity of chlorine e6 derivatives and their liposomal forms in leukemia cell culture: photocytotoxicity, intracellular localization, apoptosis**

**Зорина Т.Е.1, Янковский И.В.1, Яковец И.В.1, Кравченко И.Е.1, Шман Т.В.2, Белевцев М.В.2, Зорин В.П.1**

1 – Белорусский государственный университет, 220030 Минск, пр-т Независимости, 4

2 – Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, 223053, Минская область, д. Боровляны, ул. Фрунзенская, 43

Тел.: +375295592501; e-mail: zorinate@mail.ru

Эффективность повреждения биологических мишеней при ФДТ является динамической функцией концентрации фотосенсибилизатора (ФС), дозовых характеристик светового воздействия, концентрации кислорода в трансформированных тканях. Вследствие этого физико-химические характеристики ФС, определяя уровень его накопления и преимущественные места локализации в клетках и тканях, существенно влияют на эффективность ФДТ. Ранее было показано, что неполярные производные хлорина e<sub>6</sub> (ПХл e<sub>6</sub>) –ди- и триметилловый эфиры хлорина e<sub>6</sub> (Хл e<sub>6</sub>), могут быть успешно использованы для фотосенсибилизированного повреждения клеток с повышенным пролиферативным статусом [1, 2]. Низкая растворимость данных соединений в водной среде обуславливает необходимость применения для их введения специальных фармакологических форм. Установлено, что включение в липидные везикулы из синтетических фосфолипидов обеспечивает мономерное состояние и высокую фотосенсибилизирующую активность ПХл e<sub>6</sub>.

Методами проточной цитометрии и конфокальной микроскопии определены уровни накопления и внутриклеточная локализация Хл e<sub>6</sub>, его производных и их ЛФ, приготовленных на основе классических и стабилизированных липидных везикул. Показано, что кинетики накопления в клетке существенно различаются для исследованных ФС. Скорость перераспределения ПХл e<sub>6</sub> из липидных везикул на клетки определяется структурой и физико-химическими свойствами ФС. Белки сыворотки крови оказывают существенное влияние на процессы накопления в клетках как хлоринов, так и их ЛФ. Показано, что тип липидного носителя слабо влияет на характер накопления ФС в клетках.

Характер локализации исследованных ФС определяется их структурными и физико-химическими свойствами. Для гидрофильного Хл e<sub>6</sub> характерно прокрашивание мембранных структур клетки, слабое перекрытие свечения ФС с флуоресценцией колокализаторов митохондрий и эндоплазматического ретикулума. Этерифицированные ПХл e<sub>6</sub> локализуются преимущественно в эндоплазматическом ретикулуме, аппарате Гольджи, а также частично в митохондриях. При введении в составе ЛФ наблюдается увеличение доли пигмента, связанного с митохондриями.

На модели культур клеток Raji и K562 показано, что при одинаковых условиях фотооблучения диметилловый эфир хлорина e<sub>6</sub>, введенный в суспензию клеток как в растворе, так и в составе липосом, характеризовался существенно большей способностью сенсibilизировать апоптотические и некротические изменения в клетках в сравнении с другими исследованными ФС. При использовании ПХл e<sub>6</sub> в составе липосом установлено увеличение числа апоптотических клеток.

1. Zorin V.P., Savitskiy V.P., Potapnev M.P. / Experimental oncology, 2002. V.24. P.142-149.

2. Зорина Т.Е., Далидович А.А., Марченко Л.Н. и др. / Офтальмология. Восточная Европа, 2011. Т.4. С.93-105.

## ГЕНЕРАЦИЯ ФОТОТОКА В ПИГМЕНТНЫХ ПЛЕНКАХ ПРИ ИМПУЛЬСНОМ ОСВЕЩЕНИИ

### Photocurrent generation in pigment films at pulse illumination

*Илатовский В.А., Птицын Г.А., Комиссаров Г.Г.*

Институт химической физики им. Н.Н.Семенова РАН, 117314, Москва, ул. Косыгина, 4

Тел.: +7(495)939-73-50, e-mail: iva1947@yandex.ru; gkomiss@yandex.ru

В ходе работ по моделированию фотосинтеза [1] предложен новый метод фотоэлектрохимического преобразования энергии в системах на органических полупроводниках, основанный на импульсной модуляции светового потока. При импульсном освещении с высокой скважностью разделяются процессы заполнения поверхностных ловушек в момент освещения и их освобождения с восстановлением вторичных акцепторов в электролите в момент темновой паузы [2]. По импульсным характеристикам выборки пигментов (среднеквадратичное отклонение параметров  $\sigma=4,5\%$ ) определены оптимальные соотношения между интенсивностью, длительностью и скважностью освещения со спектральной характеристикой АМО1. Получены ряды активности тетрапиррольных соединений (двукратно очищены в вакууме  $10^{-9}$  торр) в импульсной фотоэлектрохимической системе, совпадающие с аналогичными рядами при стационарном освещении: димерные фталоцианины лантаноидов  $\rightarrow$  тетранафтилпорфирин  $\rightarrow$  тетранафтилфталоцианин  $\rightarrow$  дейтеропорфирин  $\rightarrow$  этиопорфирин  $\rightarrow$  тетраэтилпорфирин  $\rightarrow$  октаэтилпорфирин  $\rightarrow$  тетрабензпорфирин  $\rightarrow$  моноазатетрабензпорфирин  $\rightarrow$  диазатетрабензпорфирин  $\rightarrow$  триазатетрабензпорфирин  $\rightarrow$  тетрафенилпорфирин  $\rightarrow$  фталоцианин. Для металлокомплексов фталоцианина в зависимости от центральной группы атомов фотоактивность увеличивается в соответствии с рядом: Yb-Pc  $\rightarrow$  Lu-Pc  $\rightarrow$  AlOH-Pc  $\rightarrow$  SiOH-Pc  $\rightarrow$  Sn(OH)<sub>2</sub>-Pc  $\rightarrow$  Co-Pc  $\rightarrow$  Cu-Pc  $\rightarrow$  Fe-Pc  $\rightarrow$  FeCl-Pc  $\rightarrow$  Mg-Pc  $\rightarrow$  AlOH-Pc  $\rightarrow$  SnOH-Pc  $\rightarrow$  Mn-Pc  $\rightarrow$  H<sub>2</sub>-Pc  $\rightarrow$  VO-Pc  $\rightarrow$  AlCl-Pc  $\rightarrow$  Zn-Pc  $\rightarrow$  InCl-Pc  $\rightarrow$  GaCl-Pc  $\rightarrow$  [4-Cl]<sub>4</sub>InCl-Pc  $\rightarrow$  [4-Cl]<sub>4</sub>GaCl-Pc [3]. Положение пигментов коррелирует с уменьшением потенциала ионизации молекул, ослаблением связи металл – лиганд, понижением электронной плотности на центральном атоме и относительным ее увеличением на периферии молекул, что способствует повышению фотоактивности пленок в результате уширения подуровней в дискретной структуре зоны проводимости при большем перекрытии цепей  $\pi$ -электронного сопряжения соседних молекул. В результате предварительной оптимизации по составу пигментной пленки и энергетическим и временным параметрам освещения получен максимальный квантовый выход в реакции восстановления метилвиологена. На пленке [4-Cl]<sub>4</sub>GaCl-Pc толщиной 10 нм с нанокластерной структурой  $\eta=62\%$ , что более чем в два раза превышает результат, полученный на той же пленке при стационарном освещении ( $\eta=27\%$ ).

1. Комиссаров Г.Г. Фотосинтез: физико-химический подход, М. УРСС. 2003, 223 с.

2. Илатовский В.А., Комиссаров Г.Г. / Докл. РАН, 2008. Т.420. №1. С.66–69.

3. Ilatovsky V.A., Sinko G.V., Ptitsyn G.A., Komissarov G.G. / Research Methodology in Physics and Chemistry of Surfaces and Interfaces. Chapter 2, April 25, 2014, 255p.

## БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ КАК ИЗЛУЧАТЕЛЬНАЯ ФОРМА ЗАЩИТЫ ОТ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У МОРСКИХ ФОТОБАКТЕРИЙ

**Исмаилов А.Д.**

Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, 119234, Москва, Ленинские горы 1, стр. 12 leyla.07\_86@mail.ru

Бактериальная биолюминесценция протекает при использовании в качестве субстратов FMNН<sub>2</sub> и молекулярного кислорода, в присутствии косубстрата, C<sub>8</sub> - C<sub>16</sub> алифатического альдегида: E-FMNН<sub>2</sub> + O<sub>2</sub> → интермедиаты → [E-FMNН-ОН]\*

Потребление атмосферного кислорода у морских фотобактерий происходит по 4 основным направлениям: дыхание, оксигенация, пероксидация и люминесценция. Участие активированных форм кислорода (АФК) в биолюминесцентной реакции фотобактерий основано на ряде прямых и косвенных данных. Особое значение имеет процесс биолюминесценции фотобактерий при дефиците кислорода в природных условиях. Установлено, что при глубине океанов свыше 1000 м, где концентрация кислорода менее 1%, доля светящихся организмов резко возрастает, - более 90% глубоководных рыб содержат световые органы с фотобактериями. Способность к существованию в микроаэрофильных условиях, - важная функция для сапрофитных и симбиотических бактерий. Установлено, что в эмбриогенезе световые органы заселяются всеми видами бактерий, но выживают только светящиеся. Темновые - luxA, В-мутанты, - не выживают. Гибель несветящихся форм связана с накоплением в органах так называемых активных форм кислорода (АФК). Эмиссия света фотобактериями наблюдается при концентрациях кислорода менее 0,01%, когда активности окислительных ферментов подавлены, а дыхательная цепь практически блокирована. При низких концентрациях кислорода в очагах локализации фотобактерий накапливается H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. В световых органах концентрация H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> более чем на 2 порядка выше, чем в других тканях. Ткани световых органов богаты пероксидазой, супероксиддисмутазой (SOD), каталазой (Cat), и глутатионпероксидазой (Gpx). Установлено, что биолюминесценция in vitro возможна с использованием в качестве субстратов H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, OH<sup>-</sup>. Тем самым, бактериальная люцифераза осуществляет излучательную «каталазную» и «супероксиддисмутазную» реакции. Механизм реакции в этом случае предполагает вовлечение в эмиссионный процесс радикальных форм флавина: FMNН<sup>•</sup>, которые формируют долгоживущие интермедиаты, - предшественники возбужденного состояния эмиттера:

1- E-FMN + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> → E-FMNН-ООН → [E-FMNН-ОН]\*, 2- E-FMNН<sup>•</sup> + O<sub>2</sub><sup>-</sup> + H<sup>+</sup> → E-FMNН-ООН → [E-FMNН-ОН]\*, 3- E-FMNН<sup>•</sup> + OH<sup>-</sup> → E-FMNН-ОН → [E-FMNН-ОН]\*.

Можно полагать, что люминесцентная система осуществляет защитную функцию в клетке: 1. утилизирует возбужденные состояния ROS, возникающие в биохимических процессах; 2. обеспечивает альтернативный путь сбрасывания электронов. Предполагается, что на ранних этапах эволюции использовалась излучательная форма защиты от АФК. Это подтверждается тем, что основной природный люциферин светящихся организмов - целентарозин, - обладает сильными антиоксидантными свойствами. При одновременном анализе дыхательной и люминесцентной активности изолированных (интактных) клеток фотобактерий из поздней логарифмической фазы роста, где эмиссионная и дыхательная активность максимальны, было установлено, что при концентрации клеток 0,5-1,0 · 10<sup>10</sup> кл/мл. при скорости потребления кислорода 10-50 нмоль O<sub>2</sub> · 10<sup>9</sup> кл. и избытке (5 мМ) энергетических доноров (глюкоза, малат, глутамат) полная утилизация растворенного кислорода пробы суспензией бактерий происходит за 2 – 5 минут. При этом, в герметичных условиях, без атмосферного кислорода, биолюминесцентная активность не исчезает, а сохраняется на стабильном уровне (10 – 15 % от исходного) в течение нескольких часов. Антиоксиданты (токоферол, ионол, аскорбат) подавляют свечение, ионы переменной валентности, способные стимулировать распад гидроперекисей, активируют и стабилизируют эмиссионную активность. Мы полагаем, что функциональное предназначение биолюминесценции (защита от активированных форм кислорода) универсально для всех светящихся организмов.

## МЕХАНИЗМЫ ПОДАВЛЕНИЯ РОСТА МИКРОБНЫХ КЛЕТОК НИЗКОИНТЕНСИВНЫМ ЛАЗЕРНЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ ВИДИМОЙ ОБЛАСТИ СПЕКТРА

**Mechanisms of inhibition the growth of microbial cells under the influence of low-intensity laser radiation of the visible spectrum**

***Казючиц О.А.1, Добыш И.И.1, Назарова К.Ю.1, Третьякова А.И.2, Микулич А.В.2, Леусенко И.А.2, Плавская Л.Г.2, Плавский В.Ю.2***

1 – Государственное предприятие «Академфарм», 220141, Минск, ул. акад. Купревича, 5  
2 – Институт физики имени Б.И. Степанова НАН Беларуси, 220072, Минск,  
Тел.: + (375)17 284-09-58; факс: +(375)17 284-08-79; e-mail: [a.mikulich@ifanbel.bas-net.by](mailto:a.mikulich@ifanbel.bas-net.by)

В работе исследованы механизмы инактивации микробных клеток *S.aureus* ATCC 25923, *E.coli* ATCC 8359, *S.ablicans* ATCC 10231 при воздействии низкоинтенсивного лазерного излучения видимой области спектра на суспензию клеток без внесения экзогенных фотосенсибилизаторов. Поскольку ранее неоднократно высказывалась гипотеза об определяющей роли эндогенных порфиринов в механизме фотоинактивации микробных клеток, представляло интерес сравнить фотобиологические эффекты при воздействии излучения одинаковой интенсивности (около 50 мВт/см<sup>2</sup>) с длиной волны 405 нм, соответствующей максимуму полосы Core, и излучения с длиной волны 445 нм, соответствующей длинноволновому склону указанной полосы. Исследования показали наличие эффекта фотоинактивации клеток, зависящего от дозы воздействующего излучения. В том и другом случаях эффект подавления роста клеток не обусловлен термическим фактором. Однако, если практически 100% инактивация клеток *S.aureus*, *E.coli* и *S.ablicans* наблюдается через 30-60 мин (энергетическая доза 90–180 Дж/см<sup>2</sup>) воздействия излучения с длиной волны 405 нм, то такой же фотобиологический эффект при использовании излучения с длиной волны 445 нм проявляется при дозовых нагрузках 360-540 Дж/см<sup>2</sup>. То есть, излучение с длиной волны 445 нм является в 3-4 раза менее эффективным, по сравнению с излучением с длиной волны 405 нм. В то же время, в случае определяющей роли эндогенных соединений порфириновой природы следовало бы ожидать снижения фотобиологического действия, по крайней мере, в 10-15 раз. Этот вывод следует из анализа спектров возбуждения флуоресценции экстрактов микробных клеток при ее регистрации в красной области, характерной для люминесценции порфиринов. Показано, что наряду с порфириновыми соединениями, вклад в фотоинактивацию микробных клеток способны вносить и флавиновые фотосенсибилизаторы, характеризующиеся наличием максимумов в спектре поглощения в области 430-450 и в спектре флуоресценции – в области 525-530 нм. Варьируя длину волны возбуждения, нам удалось подобрать условия, обеспечивающие одновременное возбуждение в экстрактах как порфириновой, так и флавиновой компоненты. При нормировании сигнала флуоресценции по флавиновой составляющей показаны четкие различия в интенсивности флуоресценции порфириновой компоненты для различных типов микробных клеток. Наиболее высокая относительная концентрация порфиринового сенсibilизатора отмечается у *S.ablicans*, ниже – у *E.coli* и слабо выражена – у *S.aureus*. Следовательно, для различных типов микробных клеток вклад порфириновой и флавиновой составляющих в сенсibilизирующее действие при воздействии синего света определяется длиной волны воздействующего излучения. Кроме фотохимических реакций, сенсibilизированных эндогенными соединениями порфириновой и флавиновой природы, вклад в фотоповреждение микробных клеток могут вносить и процессы, связанные с фотодеструкцией ферментов, поглощающих в видимой области спектра.

**РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА И РЕТИНАЛЬ-БЕЛКОВЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В МЕХАНИЗМАХ ФОТОИНДУЦИРОВАННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ СЕТЧАТКИ ГЛАЗА****The role of nitric oxide and the retinal-protein interaction in the photoinduced light damage of the eye retina**

***Г.Р. Каламкаров, П.П. Левин, А.Е. Бугрова, Т.Ф. Шевченко***

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук

*E-mail kalam2@rambler.ru*

Повреждающее действие видимого света на сетчатку глаза является одним из факторов риска развития возрастных зрительных патологий и, в частности, макулярной возрастной дистрофии сетчатки. Существует два механизма фотоповреждения, обусловленных действием голубого и зеленого света и, соответственно, два различных типа фотосенсибилизаторов этого процесса. Интересно отметить, что повреждающее действие зеленого света наблюдается не у всех видов животных, а применительно к сетчатке человека данные противоречивые. В тоже время, повреждающее действие голубого света сомнений не вызывает.

Показано, что содержание животных при высоких освещенностях светом с максимумом поглощения 380 нм в течение 8 часов приводит к апоптозу клеток сетчатки, при этом апоптоз развивается в двух клеточных слоях – наружном ядерном слое и слое ганглиозных клеток. Введение животным конкурентного ингибитора NO-синтазы L-NAME приводило к значительному уменьшению числа апоптотических клеток в обоих клеточных слоях. Предполагается, что освещение приводит к генерации супероксид анион-радикала, который, взаимодействуя с оксидом азота, образует пероксинитрит – сильный проапоптотический фактор. В качестве сенсибилизатора образования супероксид анион-радикала в фоторецепторной клетке можно выделить два соединения – полностью *транс*-ретинол и конъюгат полностью *транс*-ретинола А2Е. Участие каждого из этих соединений в механизмах генерации фотоповреждения дискуссионно. Так, А2Е находится в фоторецепторных клетках в очень низких стационарных концентрациях и накапливается только в ретиальном пигментном эпителии. Полностью *транс*-ретинол в фоторецепторной клетке восстанавливается до ретинола, который не является генератором супероксид анион-радикалов. В виде собственно альдегида ретинол находится в клетке только в связанном с ретиаль-переносщими белками состоянии. Используя метод ЭПР, а также метод лазерного импульсного фотолиза, мы исследовали квантовый выход генерации супероксид анион-радикала, и тушение возбужденного триплетного состояния ретинола и влияние на эти процессы взаимодействия ретинола с ретиаль-переносщими белками

В докладе обсуждаются механизмы фотоповреждения сетчатки, участие в этих процессах оксида азота и защитное действие, которое оказывают ретиаль-переносщие белки на этот процесс.

## ФЕРМЕНТАТИВНАЯ СИСТЕМА СВЕТЯЩИХСЯ БАКТЕРИЙ КАК ИНСТРУМЕНТ КОНТРОЛЯ МИКРОБНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

### Enzymatic system of bioluminescent bacteria as a tool for microbial contamination control

**Кириллова М.А.<sup>1</sup>, Есимбекова Е.Н.<sup>2,1</sup>, Кратасюк В.А.<sup>1,2</sup>**

1 – Сибирский федеральный университет, 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79

2 – Институт Биофизики СО РАН, 660036, Красноярск, Академгородок 50/50

Тел.: +79232932413; e-mail: kirillva@mail.ru

Для мониторинга окружающей среды и качества продуктов питания все чаще применяют биосенсоры на основе ферментов биолюминесцентных организмов. Так люциферин-люциферазная система светляков нашла широкое применение в анализе бактериального загрязнения. Данный метод основан на определении количества аденозинтрифосфата (АТФ) в образце, что является показателем наличия в нем бактериальных клеток [1]. Помимо биолюминесцентной системы светляков существует потенциальная возможность использования ферментной системы светящихся бактерий для анализа микробного загрязнения. В этом случае анализ может быть основан на определении содержания в образце таких соединений как флавиномононуклеотид (FMN) или никотинамиддинуклеотид (NADH). FMN и NADH являются коферментами многих метаболических цепей в бактериальных клетках, а также субстратами биферментной системы светящихся бактерий NADH:FMN-оксидоредуктаза и люцифераза. Таким образом, количественный метод анализа микробного загрязнения может быть основан на измерении биолюминесцентным методом количества FMN или NADH в образце. Минимальные определяемые концентрации FMN и NADH в данной работе составили 1,2 нМ и 0,1 пМ соответственно. Из литературных данных известно, что чувствительность биолюминесцентной системы светляков к АТФ составляет 0,01 пМ [1], что выше чувствительности биферментной системы светящихся бактерий к NADH и FMN на один и пять порядков соответственно. Для модельного эксперимента - анализа микробного загрязнения биолюминесцентным методом на основе биферментной системы светящихся бактерий, были использованы клетки *Escherichia coli*, разрушенные ультразвуковым дезинтегратором. Клеточную суспензию добавляли в реакционную смесь вместо раствора FMN (1) или NADH (2), при этом интенсивность свечения биолюминесцентной системы зависела от количества бактериальных клеток в реакционной смеси. Чувствительность биолюминесцентной системы составила 3,9 млн. и 800 тыс. бактериальных клеток в (1) и (2) случаях соответственно, что ниже предела обнаружения АТФ биолюминесцентной системой светляков на три и два порядка при использовании методик, основанных на количественном анализе содержания FMN (1) и NADH (2) соответственно. Таким образом, биферментная система светящихся бактерий NADH:FMN-оксидоредуктаза и люцифераза может быть использована для анализа образцов, в которых количество микробных клеток превышает санитарные нормы. Для менее загрязненных объектов следует использовать люциферин-люциферазную систему светляков.

*Работа выполнена при финансовой поддержке КГАУ «Красноярский краевой фонд поддержки научной и научно-технической деятельности» по проекту "Биолюминесцентный экспрессный анализ для мониторинга загрязнения почвы Красноярского края".*

1. Пат. 2164241 Российская Федерация, МПК С12Q1/66, С12N11/12. Реагент для определения аденозин-5'-трифосфата / Н. Н. Угарова; патентообладатели Дементьева Е. И.; Кутузова Г. Д.; Лундовских И. А.; Угарова Н. Н. 99108831/13; заявл. 22.04.1999; опубл. 20.03.2001. – 7 с.

**АКТИВНОЕ СОСТОЯНИЕ ОРАНЖЕВОГО КАРОТИНОИДНОГО БЕЛКА****Active state of orange carotenoid protein**

***КлементьевК.Е.1, МаксимовЕ.Г.1, ЦораявГ.В.1, ШиршинЕ.А.2, ПащенкоВ.З.1, РубинА.Б.1.***

1 – Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, кафедра биофизики, 119991, Москва, Ленинские горы, 1 стр. 12

2 – Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, физический факультет, отделение радиофизики, кафедра квантовой электроники, 119991, Москва, Ленинские горы, 1 стр.2

Тел.: +79055227597 E-mail: klementyevke@gmail.com

Оранжевый каротиноидный белок (ОКБ, OrangeCarotenoidProtein – ОСР) – фотоактивный белок, защищающий фотосинтетический аппарат цианобактерий от избытка солнечного света с помощью механизма нефотохимического тушения. Для осуществления тушения белок ОСР под действием синего света переходит из оранжевой формы (ОСР<sup>О</sup>) в красную (ОСР<sup>Р</sup>). При этом становится возможным взаимодействие между фикобилисомой (ФБС) и ОСР, между ними сокращается расстояние, что обеспечивает миграцию энергии с ФБС на ОСР с последующей диссипацией в тепло. ОСР содержит 2 структурных домена (N- и C-) между которыми расположена молекула каротиноида, представляющая собой 3'-гидроксиэхиноненон (hECN). Фотоцикл ОСР изучен недостаточно по сравнению с другими фотоактивными белками, в особенности конформационная динамика и структурные свойства красной формы.

В данной работе мы исследовали кинетику фотоцикла ОСР *in vitro*, используя спектральные методы для оценки конформационных изменений для hECN и белкового матрикса. Для изучения изменений конформации апопротеина регистрировали мгновенные спектры флуоресценции триптофанов, а также гидрофобного зонда – Нильского красного, связанного с ОСР. Фотоконверсия ОСР<sup>О</sup> → ОСР<sup>Р</sup> → ОСР<sup>О</sup> изучалась методами абсорбционной спектроскопии, спектроскопии комбинационного рассеяния и молекулярной динамики. Установлено, что кинетические параметры фотоциклов каротиноида и апопротеина идентичны. Методом спектроскопии комбинационного рассеяния были оценены изменения геометрии хромофорной группы hECN после фотоактивации. Экспериментальные данные подтверждаются результатами молекулярной динамики, о наличии двух метастабильных конформаций 3'-гидроксиэхинонена.

В результате было установлено, что красная форма ОСР<sup>Р</sup> представляет собой расплавленную глобулу, которая обладает высокой подвижностью в связи с нарушением третичной структуры.

## **ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ИНДУЦИРУЕТ ПРОДУКЦИЮ ОКСИДА АЗОТА В НЕЙРОНАХ И ГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ РЕЧНОГО РАКА**

**Photodynamic impact induces production of nitric oxide in crayfish neurons and glial cells**

***Ковалева В.Д., Узденский А.Б.***

Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского ЮФУ, 344090, Ростов-на-Дону, Стачки, 194/1

Тел.: +7(863)-223-08-37; e-mail: vdkovaleva@sfnedu.ru

Фотодинамическую терапию (ФДТ), используют для разрушения злокачественных опухолей. Поскольку при ФДТ могут повреждаться не только опухолевые клетки, но и здоровые нейроны и глиальные клетки (ГК), необходимо исследовать механизмы повреждения и защиты здоровых нейронов и ГК. Ранее мы показали, что NO участвует в процессах фотоиндуцированного повреждения нейронов и ГК в изолированном рецепторе растяжения рака [1]. В настоящей работе мы оценивали ФДТ-индуцированную продукцию NO с помощью флуоресцентного зонда 4,5-диаминофлуоресцеина диацетата DAF-2DA. Объектом исследования служил изолированный рецептор растяжения речного рака, состоящий из двух механорецепторных нейронов (MPH), окруженных оболочкой глиальных клеток. При исследовании продукции NO физиологический раствор в ванночке с препаратами замещали на раствор, содержащий DAF-2DA (1:500). Препараты инкубировались 1 ч, а затем в ванночку добавляли фотосенсибилизатор Фотосенс (10 нМ), и через 30 минут препараты в течение 30 мин облучались полупроводниковым лазером (670 нм, 0,4 Вт/см<sup>2</sup>). Препараты фотографировали на флуоресцентном микроскопе Nikon Eclipse 1 до и во время ФДТ (через 1, 4, 7, 10, 15, 20 и 25 мин после начала облучения). Затем интенсивность флуоресценции и пространственное распределение NO в PPP оценивалась с помощью программы Image PRO. Наиболее яркая флуоресценция DAF-2DA наблюдалась в глиальной оболочке вокруг сомы и аксона MPH. Продукция NO, определенная с помощью флуоресцентного зонда, в течение первых 4-7 мин увеличивалась приблизительно в 1,4 раза по сравнению с исходным значением. Но после 7 мин ФДТ она резко уменьшалась, а на 10-й мин облучения снижалась до уровня вдвое ниже исходного и дальше практически не изменялась. Мы предполагаем, что такая быстрая генерация NO могла быть обусловлена кратковременной активацией нейрональной NO синтазы (nNOS). Аналогичным образом менялась активность NO-синтазы, которая оценивалась посредством гистохимического исследования активности NADPH-диафоразы. Фотометрическая оценка показала, что сразу после ФД-воздействия в теле нейрона средняя активность NADPH-диафоразы, отражающая активность NO синтазы, достоверно возросла в 1,8 раз по сравнению с препаратами из контрольной группы. Затем активность фермента медленно снижалась, и через 4 часа после ФД-воздействия активность фермента была в 2,7 раза меньше, чем в контроле. Итак, фотодинамическое воздействие сначала приводит к активации NO синтазы в нейронах, а затем к снижению её активности.

*Работа поддержана грантами РФФИ (14-04-00741 и 15-04-05367), а также Минобразования РФ «Организация проведения научных исследований» № 790.*

1. Kovaleva V.D., Berezhnaya E.V., Komandirov M.A., Rudkovskii M.V., Uzdensky A.B. Involvement of nitric oxide in photodynamic injury of neurons and glial cells // Nitric Oxide: Biology and Chemistry. 2013, 28, 46-52.



**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЯМОГО ЛАЗЕРНОГО ВОЗБУЖДЕНИЯ КИСЛОРОДНЫХ МОЛЕКУЛ  
В ОРГАНИЧЕСКИХ И ВОДНЫХ СРЕДАХ****Efficiency of direct laser excitation of oxygen dissolved in organic and aqueous media*****Козлов А.С., Красновский А.А.***

Институт биохимии им. А.Н. Баха, РАН, 119071, г. Москва, Ленинский просп., д. 33, корп. 2

Тел.: +7(495) 954-14-72, e-mail: phoal@mail.ru; anton4ikk\_06@mail.ru.

Известно, что переходу кислородных молекул из основного триплетного в синглетные состояния соответствуют главные полосы поглощения в ближней ИК области (765 и 1273 нм). Нами установлено, что синглетный кислород (СК), который образуется при прямом лазерном возбуждении молекул кислорода, растворенных в естественных условиях в органических растворителях и водных системах, вызывает окисление ряда органических соединений. Полагают, что этот эффект можно использовать для беспигментной лазерной терапии рака. Для обоснования перспективности этой идеи необходима информация об эффективности беспигментной лазерной генерации СК, которая определяется мощностью лазерного излучения и оптической плотностью растворенного кислорода. Интенсивность лазерного излучения легко контролируется измерительными приборами, в то время как оптическая плотность кислорода очень мала, и ее невозможно определять стандартными спектрофотометрическими методами. Поэтому в нашей лаборатории разработан фотохимический метод анализа, в основе которого лежит прямое возбуждение кислорода диодными лазерами и регистрация образующегося СК с помощью химических ловушек. Полученные с помощью этого метода данные показывают, что в пересчете на 1 см оптического пути оптическая плотность в максимуме кислородной полосы при 1273 нм составляет  $\sim 10^{-5}$  в органических неполярных средах. В модельных водно-детергентных системах оптическая плотность кислорода в максимуме этой полосы меньше примерно в 20 раз. Показано, что в неполярных средах оптическая плотность полосы 765 нм на порядок меньше, чем у полосы 1273 нм. При переходе от неполярных растворителей к полярным относительная интенсивность максимума 765 нм возрастает за счет избирательного падения интенсивности полосы 1273 нм. В водных средах максимумы обеих полос оказываются почти равными. Учитывая, что излучение при 765 нм практически не поглощается водой и поэтому меньше нагревает ткани, можно предположить, что возбуждение полосы 765 нм более эффективно с точки зрения избирательной генерации СК в живых тканях, чем возбуждение полосы 1273 нм. Одновременно наши эксперименты показывают, что скорость образования СК при прямом возбуждении кислорода примерно на 4-5 порядков ниже, чем при традиционной фотосенсибилизированной генерации СК. Согласно литературным данным эффективность прямого возбуждения кислородных молекул в живых тканях можно увеличить на 1-2 порядка при применении импульсного лазерного излучения или узких микронных лазерных пучков. Тем не менее, можно ожидать, что при беспигментном возбуждении кислородных молекул биологические эффекты СК в большей степени связаны с активацией сигнальных систем, чем с прямым деструктивным действием СК.

## **ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ С ДЛИНОЙ ВОЛНЫ 1269 НМ НА ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОЛИКА**

### **Study of the influence of 1267 nm laser irradiation on phagocytic activity of rabbit leucocytes**

***Козлов А.С.1, Любичкий О.Б.2, Красновский А.А.1, Осипов А.Н.2***

1 – Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, 119071, г. Москва, Ленинский просп., д. 33, корп. 2  
тел.: +7(495) 954-14-72, e-mail: anton4ikk\_06@mail.ru; phoal@mail.ru;

2 – ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, ул. Островитяно-  
ва, д. 1

тел.: +7(495) 434-81-92, e-mail: olyubitsky@mail.ru.

В настоящее время активно обсуждается возможность применения ИК лазеров в фототерапии рака. Предполагают, что терапевтический эффект определяется синглетным кислородом (СК), который образуется в результате прямого лазерного возбуждения главной полосы поглощения кислородных молекул (1273 нм). Эксперименты показали, что в модельных системах генерация СК путем прямого возбуждения кислорода приводит к окислению ряда органических соединений. Однако эффективность этого процесса на несколько порядков ниже, чем при фотосенсибилизированной генерации СК (при одинаковой мощности возбуждающего излучения). Тем не менее, имеются данные о том, что СК, образующийся при беспигментном возбуждении кислородных молекул в опухолевых клетках, может вызывать их гибель. Одним из факторов беспигментной лазерной терапии может быть изменение состояния клеток иммунной системы, вызванное образованием СК. В связи с этим мы исследовали воздействие ИК лазерного излучения (1269 нм) на фагоцитарную активность лейкоцитов кролика, которую оценивали методом активированной трипептидом fMLP (формил-метионил-лейцил-фенилаланин) хемилюминесценции (АХЛ) при окислении люминола. О величине активности лейкоцитов судили по интенсивности пика кинетических кривых АХЛ. Показано, что действие ИК лазеров вызывает зависимое от дозы облучения снижение активности лейкоцитов. Однако известно, что излучение с длиной волны 1269 нм эффективно поглощается не только кислородом, но и водой, вызывая ее нагревание. С целью выявления относительного вклада лазерной активации кислорода и теплового эффекта в снижение активности лейкоцитов, было проведено сравнение действия на клетки ИК излучения и простого нагревания среды. Показано, что при действии ИК лазера ингибирование лейкоцитов было выражено сильнее, чем при нагревании в отсутствие излучения. Кроме того, форма кинетических кривых АХЛ при указанных воздействиях различна. Эти результаты позволяют предположить, что ИК лазерное излучение с длиной волны 1269 нм способно к нетермическому влиянию на активность иммунных клеток за счет прямой генерации СК.

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ УФ-В ЛУЧЕЙ НА КЛЕТКИ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫМ ЗОНДОМ АНС****The investigation of ans m-sec dle influence in the yeast cells of UV-B rays****Кочарли Н.К., Гумматова С.Т.**

Бакинский Государственный Университет

E-mail: sam\_bio@mail.ru тел: +(994) 12439-10-91

Высокая биологическая активность коротковолнового УФ-С (200-290 нм) и средневолнового УФ-В (290-320 нм) ультрафиолета определяется прямым поглощением квантов излучения этих диапазонов важнейшими клеточными компонентами, в первую очередь молекулами ДНК /1/.

В представленной работе изучено влияние УФ-В лучей на клетки дрожжей флуоресцентным зондом 1-анилинонафталин-8-сульфонат (АНС). Метод флуоресцентных зондов позволяет получить информацию о влиянии физико-химических факторов на клетки.

Объектом исследования служил штамм клеток дрожжей *Candida guilliermondii*. После введения в суспензию клеток дрожжей АНС определяли интенсивность мсек-замедленной эмиссии света (мсек-ЗЭС). В работе использована фотометрическая установка с применением фосфороскопа. Приемником света в установке служил фотоумножитель ФЭУ-51. Источником УФ-В излучения служила ртутная лампа ПРК-4. Во всех опытах использовали АНС в концентрации  $10^{-6}$  М. При такой концентрации АНС интенсивность мсек-ЗЭС имеет максимальное значение.

Индукционная кривая мсек-ЗЭС АНС описывается S-образной кривой. Интенсивность мсек-ЗЭС изменяется в зависимости от дозы УФ-В лучей и при малых дозах интенсивность увеличивается. При воздействии дозой  $1,5 \cdot 10^4$  эрг/мм<sup>2</sup> интенсивность мсек-ЗЭС увеличивается в 2 раза, а при дозе  $3,0 \cdot 10^4$  эрг/мм<sup>2</sup> уменьшается в 3 раза по сравнению с контролем. Известно, что флуоресцентный зонд АНС чувствительный к изменениям происходящим в клеточной мембране вследствие перекисного окисления липидов при действии УФ-В лучей. Отрицательно заряженная молекула АНС локализуется в полярной части клеточной мембраны. Предполагается, что в опытах с облученными клетками наблюдаемое уменьшение интенсивности мсек-ЗЭС АНС в основном связано с изменениями в полярной части клеточной мембраны. При облучении клеток УФ-В лучами в присутствии  $\alpha$ -токоферола индукционная кривая мсек-ЗЭС незначительно отличается от контроля (необлученные клетки). Экспериментальные данные, полученные при облучении клеток в присутствии ингибитора свободно-радикальных реакций  $\alpha$ -токоферола, дает основание говорить о роли свободных радикалов, возникающих в результате перекисного окисления липидов (ПОЛ) мембран *Candida guilliermondii* под влиянием предварительного облучения клеток УФ-В лучами в возникновении мсек-ЗЭС. В результате ПОЛ изменяется проницаемость клеток дрожжей.

1. Страховская М.Г. 2010 Фотодинамическая инактивация микроорганизмов: фундаментальные и прикладные аспекты, Автореф.док.дис. Москва, с.45

## **ВЛИЯНИЕ ФОТОПЕРИОДА И ГЕНОВ Ppd НА МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ И ЭЛЕМЕНТЫ ПРОДУКТИВНОСТИ ПОЧТИ ИЗОГЕННЫХ ЛИНИЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ГЕНАМ Ppd**

### **Effect of photoperiod and genes Ppd on morphophysiological signs and elements productivity almost isogenic lines of spring wheat, which differ in genes Ppd**

**Кошкин В.А .**

Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н. И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

Тел.: (812) 451-82-56; E-mail: [koshkin-va@mail.ru](mailto:koshkin-va@mail.ru)

Основной контроль продолжительности периода всходы-колошение у пшеницы осуществляют генетические системы локусов Vrn (реакция на яровизацию) и Ppd (чувствительность к фотопериоду). Слабая фотопериодическая чувствительность (ФПЧ) у сорта Sonora F 64 контролируется доминантными генами Ppd. ФПЧ влияет не только на длительность вегетационного периода, но и на элементы продуктивности и морфофизиологические признаки. Однако пока мало изучено влияние отдельных генов Ppd и их сочетаний на эти признаки. В процессе генетических исследований нами создана серия из шести изогенных линий, полученных в результате пяти беккроссов и 5-кратного индивидуального отбора. Каждая линия несет доминантную аллель только одного гена Ppd. В качестве реципиента использовали линию ФЧЛ 2, рецессивную по всем генам Ppd. Донорами доминантных аллелей этих генов были сорта Sonora 64 и Фотон. Линия Ppd-s, а также ее сестринская линия Ppd-0<sup>s</sup> была получена от скрещивания сорта Фотон и линии ФЧЛ 2; линии Ppd-m, Ppd-0<sup>m</sup> и Ppd-w, Ppd-0<sup>w</sup> получены в результате скрещиваний Sonora 64 и ФЧЛ 2. Исследования проводили в 2007-2011 годы в вегетационных и фотопериодических павильонах Пушкинского филиала ВИР. В вегетационном опыте растения выращивали на дерново-подзолистой почве в пластиковых 5-литровых вегетационных сосудах в условиях длинного естественного (17 ч 30 мин – 18 ч 52 мин) и короткого (12 ч) фотопериода. Линии также были изучены в полевых условиях. Определяли высоту главного стебля, колосонесущего междоузлия, влагища флагового листа и элементы продуктивности. Кроме этих показателей определяли относительное содержание хлорофилла хлорофиллометром FIELD SCOUT CM 1000TM. На приборе СПЕФОТ в диапазоне длин волн 450-900 нм у листьев регистрировали оптические параметры: пропускание, отражение и поглощение. Установлено влияние фотопериода и генов Ppd на продолжительность периода всходы-колошение, морфофизиологические признаки и элементы продуктивности. Самый короткий период всходы-колошение наблюдали в условиях короткого дня у сорта Фотон и линии Ppd-s, наиболее длинный – у линии ФЧЛ 2 и рецессивных сибсов Ppd-0<sup>m</sup> и Ppd-0<sup>w</sup>. Родительские формы достоверно различались по морфологическим признакам: длине главного стебля, колосонесущего междоузлия, влагища и площади флагового листа как в условиях длинного (ДД), так и короткого (КД) фотопериода. Наибольшей длиной главного побега и влагища флагового листа обладали материнская форма ФЧЛ 2 и рецессивные сибсы. Выявлено увеличение площади флагового листа и содержания хлорофилла на КД по сравнению с ДД у всех линий и их родительских форм. Гены Ppd действуют через фитохромную пигментную систему на весь хлорофилл-белковый комплекс растений пшеницы. В наших опытах, по-видимому, у слабо чувствительного сорта Фотон, имеющего доминантные гены Ppd, линий Ppd-s и Ppd-m образуется большее количество фитохрома P<sub>730</sub>, чем у линии ФЧЛ 2, обладающей рецессивными генами ppd. Действие слабого доминантного гена Ppd у линии Ppd-w, по-видимому, было недостаточно, чтобы индуцировать фитохром P<sub>730</sub>. Однако гены Ppd существенно не влияли на интенсивность фотосинтеза и темнового дыхания.

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МЕХАНИЗМОВ ТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ****Mechanisms of toxic effects via bacterial bioluminescence****Кудряшева Н.С.**

Институт биофизики СО РАН, 660036, Красноярск, Академгородок, 50/50

Тел.: +7(391)249-42-42; факс: +7(391)243-34-00; e-mail: kudr@ibp.ru

Морские светящиеся бактерии чрезвычайно чувствительны к токсичным веществам; именно поэтому они более сорока лет широко используются в качестве биотестов для мониторинга токсичности водных растворов. Тестируемым физиологическим параметром здесь является интенсивность биолюминесценции (БЛМ). Преимущества такого биотеста – удобство и простота приборной регистрации, чувствительность и высокая скорость анализа. БЛМ биотесты могут быть основаны как на бактериальных клетках, так и на ферментативных реакциях, что обеспечивает исследования токсических эффектов соответственно на микробиологическом и биохимическом уровнях.

Известно, что токсические эффекты определяются физико-химическими характеристиками молекул токсикантов. Результатом этих воздействий в тестовых организмах является изменение скоростей ряда процессов – физических, химических, биохимических.

Цель работы – классификация эффектов экзогенных соединений на БЛМ системы на основе результатов воздействия модельных токсикантов (рядов органических красителей, окислителей, галогенсодержащих соединений, солей металлов – стабильных и радиоактивных) с использованием спектроскопических, кинетических, микробиологических, микроскопических, генетических и радиометрических методов. Обсуждается несколько механизмов воздействия: (1) изменение заселенности электронно-возбужденных состояний БЛМ эмиттера в результате внутри- и межмолекулярной миграции энергии; (2) изменение скоростей сопряженных ферментативных окислительно-восстановительных процессов под действием экзогенных окислителей; (3) связывание гидрофобных и/или галогенсодержащих соединений ферментами и изменение ферментативной активности; (4) неспецифические эффекты акцепторов электронов на примере катионов металлов; (5) радиолиз воды и образование активных форм кислорода в растворах радиоактивных элементов, влияющих на мембранные процессы; (6) изменение содержания внутриклеточных низкомолекулярных соединений и кристалличности внутриклеточных белков; (7) генетические мутации; (8) стабилизация слизистого слоя капсулы на внешней поверхности клеточной стенки, возникающего в качестве адаптивного отклика клеток на воздействие токсикантов. Все перечисленные эффекты, складываясь неаддитивно, уменьшают или увеличивают интенсивность БЛМ-и.

Изучена антиоксидантная активность физиологически активных веществ – гуматов (продуктов природной трансформации органического вещества в почве и донных отложениях) и фуллеренолов в растворах органических и неорганических окислителей. Показано, что антиоксидантные свойства этих соединений связаны как с нейтрализацией окислителей в растворах (гидрофобное связывание и восстановление), так и клеточными процессами – изменением скоростей биохимических процессов и стабилизацией слизистого слоя капсулы на поверхности клеточной стенки бактерий.

## ПРИРОДА ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ВОЗБУЖДЕНИИ В БЛИЖНЕЙ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЙ И ВИДИМОЙ ОБЛАСТЯХ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО СПЕКТРА

The fluorescence nature of human serum at excitation in near-ultraviolet and visible regions of the electromagnetic spectrum

*Лаврик Н.Л.1, Муллоев Н.У. 1, Чурин Б.В.2*

1 – Институт химической кинетики и горения им. В.В.Воеводского СО РАН, Новосибирск;

2 – ГУ НИИ Региональной патологии и патоморфологии СО РАМН, Новосибирск

Тел.: +7(383)333-23-86; факс: +7(383)330-73-50; e-mail: [lavrik@kinetics.nsc.ru](mailto:lavrik@kinetics.nsc.ru)

Применение метода флуоресценции для изучения состояния сыворотки крови уже давно получило достаточно широкое распространение. Это связано с доступностью метода и простой пробоподготовкой. Тем не менее, не смотря на значительное число работ по применению флуоресцентной спектроскопии для диагностических целей, природа спектра флуоресценции нативной сыворотки крови (СК) до сих пор не установлена. В литературе в настоящее время общепринятым является представление, что флуоресценция обусловлена продуктами перекисного окисления липидов (ПОЛ). Однако систематических исследований свойств спектров флуоресценции продуктов перекисного окисления липидов до последнего времени не было. В частности, отсутствуют сведения о степени однородности спектра (т.е. о возможном количестве флуорофоров, обуславливающих спектр флуоресценции), типе электронного перехода, обуславливающего флуоресценцию, в каком компоненте липопротеидов (хиломикронах, липопротеинов очень низкой плотности, липопротеинов низкой плотности или липопротеинов высокой плотности) находится молекула – флуорофор. Отсутствие информации о природе спектров флуоресценции безусловно сдерживает применение спектрофлуорометрического анализа для диагностических целей. Целью настоящей работы была оценка вклада флуоресценции липопротеидов различной плотности в общий спектр флуоресценции СК. Спектры флуоресценции получены на  $N_2$  - лазерном строб-флуориметре с монохроматором ДФС-12. Спектры флуоресценции получали как через несколько часов после получения сыворотки, так и после хранения её в замороженном виде. Использовалась прямоугольная кварцевая кювета с размерами 1 x 0.5 x 1 см. Поправка на эффект внутреннего фильтра при испускании проводилась с помощью соотношения  $I_i = I_0 \cdot 10^{OD_{\lambda_i}}$  где  $I_i$  – экспериментально наблюдаемые интенсивности флуоресценции образца на длине волны  $\lambda_i$ . Множитель  $10^{OD_{\lambda_i}}$  – поправка на поглощение света флуоресценции исследуемым раствором на длине волны  $\lambda_i$ .  $OD_{\lambda_i}$  – оптическая плотность исследуемого образца на длине волны  $\lambda_i$  при длине оптического пути  $d = 2$  мм. Спектры поглощения растворов ГК были получены на спектрофотометре «Хьюлет Паккард». Эксперименты проводились с образцами, из которых воздух не удалялся. Были получены спектры флуоресценции липопротеинов всех видов и с помощью этих составляющих промоделирован экспериментально наблюдаемый спектр флуоресценции сыворотки крови. Показана независимость положения максимума спектра флуоресценции нативной сыворотки крови человека от длины волны возбуждающего света. Обнаружено, что спектр флуоресценции претерпевает bathochromный сдвиг с ростом диэлектрической проницаемости среды. Предложена гипотеза о том, что природа флуоресценции нативной сыворотки крови обусловлена  $\pi$ - $\pi^*$  типом электронных переходов. Делается заключение о том, что основной вклад в спектр флуоресценции сыворотки крови дают продукты перекисного окисления липидов, которые содержатся в жирных кислотах, входящих в состав всех видов липопротеинов сыворотки крови.

**АНАЛИЗ ВРЕМЕН ЖИЗНИ ТРИПТОФАНОВОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ БЕЛКОВ В НАТИВНОМ И ДЕНАТУРИРОВАННОМ СОСТОЯНИЯХ****Analysis of tryptophan fluorescence lifetimes in native and denatured proteins****Лашук О.О.1, Герасимова М.А.1, Немцева Е.В.1,2**

1 – Сибирский федеральный университет, 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79

2 – Институт биофизики СО РАН, 660036, Красноярск, ул. Академгородок, 50, стр. 50

Тел.: +7(391)206-20-72; факс: +7(391)206-21-65; e-mail: olesya.lashuk@gmail.com

Время жизни флуоресценции является важным информативным параметром для оценки характеристик микроокружения молекул (полярность, вязкость) и их собственных структурных свойств (конформация, ионное состояние и др.). Однако, интерпретация времен жизни собственной люминесценции белков затруднена тем фактом, что флуоресценция триптофана, как в свободном состоянии, так и в составе белка, не может быть охарактеризована единственным временем жизни. При этом однозначного объяснения данному явлению еще не дано [1]. В данной работе представлен анализ распределения времен жизни, связанных со спектрами флуоресценции белков разной сложности, при изменении их конформационного состояния.

Объектом исследования являлись белки с разным количеством триптофановых остатков ( $N$ ): сывороточный альбумин человека ( $N = 1$ ), бычий сывороточный альбумин ( $N = 2$ ) и бактериальная люцифераза *Photobacterium leiognathi* ( $N = 7$ ). Время-разрешенные измерения флуоресценции проводили в диапазоне 305–410 нм с использованием флуориметра Fluorolog 3 (Horiba Jobin Yvon) с модулем для измерения спада интенсивности флуоресценции методом счета фотонов с временной корреляцией (источник возбуждения – диодный лазер NanoLED, максимум длины волны возбуждения – 296 нм, длительность импульса – 1,2 нс).

Получено, что в нативном состоянии исследуемые белки характеризуются тремя временами жизни:  $\tau_1 = 6\text{--}7$  нс,  $\tau_2 = 2\text{--}2,3$  нс и  $\tau_3 \approx 0,1$  нс. Анализ спектров, ассоциированных с временами жизни, показал, что компоненты имеют близкие значения максимумов флуоресценции:  $\lambda_{\max}^{\tau_1} = 342$  нм,  $\lambda_{\max}^{\tau_2} = 328$  нм и  $\lambda_{\max}^{\tau_3} = 315$  нм для всех белков. Установлено, что наибольший вклад в спектр флуоресценции белков вносит компонента  $\tau_1$ . Был сделан вывод, что специфика строения белковых макромолекул сказывается не на значениях времен жизни триптофановой флуоресценции или энергетических характеристиках компонент, а на соотношении вкладов временных компонент для каждого белка. После денатурации гуанидин гидрохлоридом получено, что для всех белков времена жизни триптофановой флуоресценции уменьшаются ( $\tau_1 = 4,4\text{--}4,6$  нс,  $\tau_2 = 1,7\text{--}1,8$  нс и  $\tau_3 \approx 0,1$  нс). При этом наблюдается перераспределение вкладов: наибольшим вкладом характеризуется компонента  $\tau_2$ . Максимумы флуоресценции временных компонент для трех денатурированных белков совпадают:  $\lambda_{\max}^{\tau_1} = 350$  нм,  $\lambda_{\max}^{\tau_2} = 343$  нм и  $\lambda_{\max}^{\tau_3} = 317$  нм.

Анализ кинетики диэлектрической релаксации спектров позволил оценить для временных компонент спектров такие параметры микроокружения, как полярность и вязкость. Получено, что в результате денатурации полярность микроокружения флуорофоров, соответствующих временной компоненте  $\tau_2$ , увеличивается, времена релаксации уменьшаются. С точки зрения гипотезы ротамеров [2] это позволило соотнести данную компоненту с флуорофорами, погруженными в глобулу белка.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (проект №1762).

1. Engelborghs Y. / Spectrochim. Acta Part A., 2001. V. 57. P. 2255-2270.
2. Lakowicz J.R. / Springer Science, 2006.

## ФОТОИНДУЦИРОВАННОЕ БЛИЖНИМ УФ ОБРАЗОВАНИЕ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА В ЗАМОРОЖЕННЫХ ВОДНЫХ РАСТВОРАХ ПРОИЗВОДНЫХ АДЕНИНА

### Formation of hydrogen peroxide photoinduced by near UV in the frozen aqueous solutions of adenine derivatives

*Лозина Т.А.1, Лобанов А.В.2, Ландер А.В.3*

1 – Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4

2 – Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4

3 – Институт теории прогноза землетрясений и математической геофизики РАН, 117997, Москва, ул. Профсоюзная, 84/3

Тел.: +7(495)939-74-66; e-mail: fepr@sky.chph.ras.ru

На основании интерпретации спектров ЭПР были получены оценки содержания пероксильных радикалов в водных растворах аденина (А), аденозина (Ado), аденозин-5'-дифосфата (ADP), гуанозин-5'-монофосфата (GMP) и тимина (Т), облученных ближним УФ при 77 К, близкие к приведенным в [1, 2]. В присутствии NaCl (0.1 М) суммарное количество пероксильных радикалов  $O_2^{\cdot -}$  и  $HO_2^{\cdot}$  в образцах исследованных соединений может достигать ~40% от общего количества фотоиндуцированных парамагнитных продуктов и определяется условиями облучения. Полученные оценки сопоставлены с результатами определения пероксида водорода ( $H_2O_2$ ) в тех же образцах после размораживания. Образование  $H_2O_2$  наблюдается во всех исследованных производных А (АХ), и в незначительной степени – в образцах цитидина (Cyt). В образцах, облученных при 77 К, максимальное наблюдавшееся количество  $H_2O_2$  составляло:  $4.4 \times 10^{-4}$  М (Ado) >  $1.4 \times 10^{-4}$  М (ADP) >  $8.4 \times 10^{-5}$  М (А) >  $6.0 \times 10^{-6}$  М (Cyt). Повышение температуры облучаемых образцов до 180 К приводит к ~2-кратному увеличению продукции  $H_2O_2$ . При умеренной интенсивности облучения количество  $H_2O_2$ , образующегося при освещении образцов в полосе 240–400 нм (светофильтр УФС-5) лишь незначительно превышает количество  $H_2O_2$ , образующегося при освещении в полосе 290–460 нм (светофильтр ФС-6), коротковолновая граница которой близка к границе солнечного излучения, достигающего земной поверхности.  $H_2O_2$  отсутствует ( $<10^{-6}$  М) во всех контрольных образцах и в облученных образцах GMP и Т. Способность АХ продуцировать  $H_2O_2$  в замороженных растворах под действием ближнего УФ освещения может, по-видимому, представлять значительный интерес для задач эволюционной биохимии и биофизики.

1. Лозина Т.А., Ландер А.В. / Журнал физической химии. 2015. Т. 89. С. 869–878.

2. Лозина Т.А., Лобанов А.В., Ландер А.В. / Журнал физической химии. 2015. Т. 89. № 8. С. 1329–1337.



**МЕХАНИЗМЫ ПРОЦЕССОВ ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕГО ВОЗДЕЙСТВИЯ МЕТИЛЕНОВОГО ГОЛУБОГО НА БИОСИСТЕМЫ РАЗЛИЧНОГО УРОВНЯ ОРГАНИЗАЦИИ*****Mechanisms of the methylene blue photosensitizing action in biosystems of different levels of organization******Лысенко Ю.А., Артюхов В.Г.***

Воронежский государственный университет, 394006, Воронеж, Университетская пл., 1  
Тел.: +7(473)220-83-08; факс: +7(473)220-83-08; e-mail: [lysenko@bio.vsu.ru](mailto:lysenko@bio.vsu.ru)

Считается, что конечный эффект резорбции опухоли в результате фотодинамической терапии (предполагающей использование фотосенсибилизатора и, как правило, видимого света) определяется комбинацией следующих направлений воздействия: непосредственной модификацией опухолевых клеток, повреждением элементов кровеносного русла неоплазмы и активацией иммунной системы опухоленосителя вследствие повышения иммуногенности новообразования. Одним из веществ, рассматриваемых в качестве эффективного фотосенсибилизатора, является тиазиновый краситель — метиленовый голубой (МГ). С целью уточнения механизмов его сенсibiliзирующего действия на кафедре биофизики и биотехнологии ВГУ проводятся систематические исследования, направленные на детализацию процессов, протекающих при облучении красным светом (665 нм) в присутствии МГ модельных биосистем различных уровней организации: молекулярного, клеточного, организменного. Так, нами исследованы изменения структурно-функциональных свойств биологических макромолекул основных классов (белков-ферментов — на примере лактатдегидрогеназы; нуклеиновых кислот (ДНК из клеток асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ), РНК из дрожжей), а также клеток различных типов (АКЭ, спленоциты, эритроциты и их компоненты) в условиях их темновой инкубации в присутствии МГ и облучения в различных дозах в смеси с фотосенсибилизатором.

Выявлены изменения структурно-функциональных и физико-химических характеристик клеток АКЭ (жизнеспособность, уровень каталитической активности ключевых ферментов гликолиза, гексозомонофосфатного шунта и общая дегидрогеназная активность (ОДГ), степень фрагментации ядерной ДНК); эритроцитов (активность НАДФ(Н)-зависимых метгемоглобинредуктаз, устойчивость к кислотному гемолизу, спектральные и электрофоретические характеристики гемоглобина); спленоцитов и их компонентов (ядерной ДНК, клеточных мембран, ОДГ) в условиях облучения красным светом в присутствии МГ различных концентраций.

Методами абсорбционной и флуоресцентной спектроскопии исследованы процессы связывания МГ с различным содержанием его мономерных и димерных форм с молекулами ДНК клеток АКЭ при варьировании ионной силы раствора. Методами электрофореза в геле агарозы, ИК-спектроскопии, динамического светорассеяния выявлены изменения физико-химических свойств молекул ДНК в комплексе с МГ в условиях облучения их смеси. Методом атомно-силовой микроскопии осуществлена визуализация молекул ДНК в свободном состоянии и в комплексе с лигандом. Обнаружены модификации характера иммунного ответа мышей NMRI на развитие АКЭ (после ее экзогенной фотомодификации в присутствии МГ) в зависимости от концентрации опухолевых клеток, используемых при облучении и имплантации. Показано увеличение продолжительности жизни мышей-опухоленосителей, которым были инокулированы фотомодифицированные в присутствии МГ клетки опухоли.

Полученные данные могут быть использованы при обсуждении вопросов, связанных с применением и оптимизацией метода фотодинамической терапии.

## **КИНЕТИКА ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ВО ВРЕМЯ ЕГО ДИФФУЗИИ В ПОТОКЕ ВЯЗКОЙ ЖИДКОСТИ**

### **Fluorescence kinetics of photosensitizer during its diffusion in viscous liquid flow**

**Маряхина В.С., Гуньков В.В.**

Оренбургский государственный университет, 460038, Оренбург, пр. Победы, 13  
Тел.: +7(3532)37-25-80; e-mail: v.s.maryakhina@gmail.com

Во время проведения флуоресцентной диагностики злокачественных образований используются фотосенсибилизаторы. После их внутривенного введения происходят реакции взаимодействия с содержащимися в крови веществами. Максимальное накопление препарата происходит спустя несколько минут после введения. В настоящей работе обсуждается влияние вязкости крови и концентрации клеточных элементов на измерения спектров флуоресценции фотосенсибилизатора и, как следствие, на результаты флуоресцентной диагностики.

В качестве объекта для экспериментальных исследований был взят бенгальский розовый, предлагаемый использовать его в качестве фотосенсибилизатора. Для чего были измерены его спектры флуоресценции в фосфатном буфере, сывороточном альбумине человека и суспензии раковых клеток молочной железы. Кровь рассматривается как трехфазная вязкая жидкость, в которой есть водная, белковая и клеточная фазы, имеющие свой коэффициент диффузии из-за разности их размеров. Предположено, что препарат вводится в венулу с диаметром 0.5 см, при этом капля распределяется по сечению диаметра сосуда по Гауссовому закону. В этой модели мы не учитывали разветвленную сеть кровеносных сосудов. После инъекции препарат может взаимодействовать с белками и клетками, которые являются для него "ловушками".

Для расчетов была составлена система из трех уравнений (для каждой из фаз) на основе уравнения переноса с учетом химической кинетики, для которой начальными и граничными условиями служили физико-химические характеристики веществ. При наличии в организме патологии изменяется вязкость крови и концентрация клеток (эритроцитов, лейкоцитов, бактерий, вирусов и т.д.). Поэтому вязкость крови варьировалась от 0.2 до 1 сПз, а концентрация клеток от 30 до 50 % по объему крови.

В результате расчетов было получено, что состояние диффузного равновесия не устанавливается даже спустя 40 минут, в отличие от системы с неподвижной жидкостью [1]. Динамика спектров флуоресценции была вычислена на основе расчетных количеств фотосенсибилизатора в каждой из фаз. Изменения интенсивности флуоресценции имеют нелинейный характер с точкой перегиба. Особенно это выражено на длинах волн 580 и 590 нм (вблизи "окна прозрачности" биотканей). Точка перегиба кривых смещается с 8.4 до 6.9 с увеличением длины волны флуоресценции бенгальского розового при изменении концентрации клеток в системе. В то же время изменение вязкости кровяного потока незначительно влияет на интенсивность флуоресценции. Следовательно, результаты *in vivo* экспериментов мало зависят от наличия дополнительных патологий в организме, из-за которых вязкость крови растет.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 14-01-31081 мол\_a и стипендии президента РФ для молодых ученых СП-273.2015.4.*

1. Маряхина В.С., Гуньков В.В. / Компьютерные исследования и моделирование, 2013. Т. 5. С. 835-843.

**ОБЩАЯ ПЕРОКСИДАЗНАЯ И КАТАЛАЗНАЯ АКТИВНОСТИ СВЕТЯЩИХСЯ БАЗИДИОМИЦЕТОВ *ARMILLARIA BOREALIS* И *NEONOTHOPANUS NAMBI* В УСЛОВИЯХ СТРЕССА****Total peroxidase and catalase activity of luminous basidiomycetes *Armillaria borealis* and *Neonothopanus nambi* under stress conditions****Могильная О.А., Ронжин Н.О., Бондарь В.С.**Институт биофизики СО РАН, 6600036, Красноярск, Академгородок, 50, строение 50  
Тел.: +7(391)249-42-40; факс: +7(391)243-34-00; e-mail: ol\_mog@mail.ru

Перекись водорода считается одним из наиболее важных метаболитов, образующихся в процессе жизнедеятельности всех дышащих клеток. Хорошо известно, что для утилизации АФК высшие грибы имеют значительный набор ферментов, в том числе, каталазы и пероксидазы. Ранее в исследованиях светящегося базидиомицета *N. nambi* было установлено, что воздействие стрессовых факторов (механическое повреждение светящегося мицелия или его инкубация в деионизованной воде), приводило к многократному усилению световой эмиссии [1]. В настоящей работе проведены исследования изменения общей пероксидазной и каталазной активностей в экстрактах из вегетативного мицелия светящихся базидиомицетов *A. borealis* и *N. nambi* в сравнении с изменением их свечения при инкубации мицелия в деионизованной воде в течение нескольких суток. Установлено, что в условиях стресса происходит существенное (на 3–4 порядка) повышение уровня свечения у *N. nambi* и только в несколько раз у *A. borealis*. В исследованном временном диапазоне динамика возрастания общей пероксидазной активности мицелия *N. nambi* и *A. borealis* практически совпадали с изменениями интенсивности их световой эмиссии. Активность каталазы в экстрактах *N. nambi* возрастала быстро и выходила на плато раньше достижения максимума свечения. У *A. borealis* наблюдался более медленный (в течение 2–4 суток) выход каталазной активности на максимум по сравнению с достижением пика свечения и максимальной пероксидазной активности. Важно отметить, что удельные величины общей пероксидазной и каталазной активностей показали значительную разницу в содержании этих ферментов в изучаемых базидиомицетах. В экстрактах мицелия *A. borealis* общая пероксидазная активность оказалась почти на полтора порядка ниже, а каталазная активность более чем на два порядка выше по сравнению с мицелием *N. nambi*. Результаты проведенных исследований показали однонаправленность изменений светоизлучения и активности ферментов антиоксидантной защиты при стрессе у данных видов грибов. Возможно, что эти процессы взаимосвязаны и имеют одну метаболическую основу. В качестве гипотезы можно предположить, что светоизлучение у высших грибов возникло в процессе эволюции как дополнительный путь для нейтрализации АФК.

1. Бондарь В.С., Пузырь А.П. и др. / Доклады Академии наук, 2011. Т. 438. С. 705 – 707.

## ВЛИЯНИЕ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА НА ОПТИЧЕСКИЕ И ФОТОЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРИРОДНЫХ ПИГМЕНТОВ И ИХ СИНТЕТИЧЕСКИХ АНАЛОГОВ

### The effect of hydrogen peroxide on optical and photoelectrochemical properties of natural pigments and their synthetic analogues

***Наговицын И.А.1,2, Чудинова Г.К.1,3, Комиссаров Г.Г.2***

1 – Центр естественно-научных исследований Института общей физики РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, д. 38, корп. 5

2 – ИХФ РАН, 119991, Москва, ул. Косыгина, д. 4

3 – НИЯУ МИФИ, 115409, г. Москва, Каширское ш., 31

Тел.: +7(499)503-81-77; e-mail: langmuir@bk.ru; galkon@list.ru; gkomiss@yandex.ru

Изучено влияние пероксида водорода (ПВ) на оптические и фотоэлектрохимические характеристики природных пигментов, их синтетических аналогов (порфиринов), в том числе и в комплексах с белками, донорно-акцепторных пар, включающих порфирины, в растворах и тонких пленках с целью выявления закономерностей изменений свойств под действием ПВ, которые обычно не принимаются во внимание при обсуждении поведения фотосинтетических мембран *in vivo*. Исследования проводили в рамках представлений о фотосинтезе, где источником кислорода является эндо- и экзогенный пероксид водорода [1]. В последнее время существенно пересматривается роль активных форм кислорода во внутриклеточных процессах, с акцентом на их регуляторные свойства в физиологических, биофизических, физико-химических процессах. Обнаружено – ПВ оказывает существенное влияние на спектральные характеристики модельных систем и их фотоэлектрохимический отклик, причем, во всех случаях, величина отклика нелинейно зависела от концентрации ПВ. Фотопотенциал (ФП) пленок мезотетрафенилпорфирина (ТФП) зависит и от толщины пленки пигмента, и от концентрации ПВ ( $10^{-5}$  –  $5 \cdot 10^{-1}$  М), достигая максимумов в монослоях при концентрации ПВ  $5 \cdot 10^{-2}$  М (увеличение ФП 17 %), а в 12-ти слойных пленках – при  $1 \cdot 10^{-3}$  М (увеличение – 6 %) [2]. Напротив, изменение флуоресценции под действием ПВ ( $10^{-6}$ - $10^{-2}$  М) больше в немонослойных пленках (для хлорофилла *a* (ХЛ) и смеси Zn этиопорфирина II со стеариновой кислотой) (до ~25 %), чем в монослойных пленках ХЛ (~5 %) [3]. В пленках донорно-акцепторных пар фуллерен-С60 – Zn комплекс ТФП наблюдали падение величины ФП до ~30% [4]. Существенное влияние ПВ оказывает на флуоресценцию комплексов ТФП, ХЛ,  $\beta$ -каротина, смесей пигментов с сывороточным альбумином в водных растворах, а также на структуру белковых комплексов в Ленгмюровских монослоях [3,4]. Квантово-механических расчеты показали изменение энергетических параметров ХЛ и его димеров при взаимодействии с ПВ [4].

1. Комиссаров Г.Г. / Фотосинтез: физико-химический подход. М.: УРСС, 2003, 224 С.

2. Наговицын И.А., Щербаков Д.Ю., Чудинова Г.К., Савранский В.В., Комиссаров Г.Г. / Краткие сообщения по физике ФИАН. 2004, № 2, С.3-10.

3. Наговицын И.А., Чудинова Г.К., Савранский В.В., Комиссаров Г.Г. / Биофизика. 2007, Т.52, №2, С.205-208.

4. Наговицын И.А., Чудинова Г.К., Синько Г.В., Комиссаров Г.Г. / Проблемы зарождения и эволюции биосферы. 2013, Москва: КРАСАНД, 640 С.

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ МОДИФИКАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА****Structural and functional modifications of human lymphocytes in condition of reactive oxygen species action**

***Наквасина М.А.1, Артюхов В.Г.1, Попова Л.И.2, Лидохова О.В. 2***

1 – Воронежский государственный университет, 394006, Воронеж, Университетская пл., 1

2 – Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, 394000, Воронеж, ул. Студенческая. 10

Тел.: +7(473)220-89-81; факс +7(473)220-83-08; e-mail: nakvasina\_ma@mail.ru

Исследовано влияние активных форм кислорода (синглетного кислорода, супероксидного анион-радикала, гидроксильного радикала, пероксида водорода) на структурно-функциональные свойства лимфоцитарных клеток периферической крови доноров. Выявлено, что в условиях экзогенной генерации  $\text{OH}^\bullet$ ,  $\text{O}_2^{\bullet-}$  и при добавлении  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $10^{-6}$  моль/л) происходит статистически достоверное снижение уровня цитотоксической активности лимфоцитов по отношению к клеткам асцитной карциномы Эрлиха по сравнению с таковым для немодифицированных лимфоцитов. Обнаружено снижение по отношению к контролю уровня антителообразующей способности (по IgG) В-лимфоцитов в присутствии  $\text{H}_2\text{O}_2$  и  $\text{OH}^\bullet$ . В условиях экзогенной генерации супероксидного анион-радикала наблюдалось усиление процесса синтеза антител класса G В-клетками. При изучении изменений уровня цитокина ФНО $\alpha$  – инициатора апоптоза в опухолевых клетках – в лимфоцитах в условиях их оксидативной модификации установлено, что супероксидный анион-радикал и гидроксильный радикал стимулируют продукцию данного цитокина, в то время как пероксид водорода проявляет ингибирующее действие по отношению к величине тестируемого параметра. Выявлено, что активные формы кислорода индуцируют снижение экспрессии рецепторов и поверхностных маркеров лимфоцитарных клеток: Fc-рецепторов, CD3, CD19, CD58. Установлено, что в условиях воздействия  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $10^{-6}$  моль/л),  $^1\text{O}_2$  и  $\text{OH}^\bullet$  на лимфоциты происходит повышение уровня вторичного мессенджера – внутриклеточного кальция, по сравнению с таковым для интактных клеток, связанное с освобождением  $\text{Ca}^{2+}$  из внутриклеточных депо, входом кальция из среды через  $\text{Ca}^{2+}$ -каналы, ингибируемые верапамилом, нарушением структурного состояния плазматических мембран вследствие интенсификации пероксидного окисления липидов. Наличие экзогенного кальция в среде суспендирования лимфоцитов индуцирует повышение количества клеток на ранней и поздней стадиях апоптоза через 6 ч после воздействия  $\text{H}_2\text{O}_2$  и  $^1\text{O}_2$  по сравнению с таковым для лимфоцитов, модифицированных в бескальциевой среде. Выявлена относительная устойчивость лимфоцитов к действию синглетного кислорода при исследовании уровня функциональной активности Т- и В-клеток, фактора некроза опухоли-альфа, экспрессии CD3, CD19, CD58.

Полученные результаты необходимо учитывать при обсуждении вопросов, касающихся разработки способов коррекции состояния иммунокомпетентных клеток человека при злокачественном росте клеток и патологиях, связанных с интенсификацией свободно-радикальных процессов.

*Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках государственного задания ВУЗам в сфере научной деятельности на 2014-2016 годы. Проект № 1090.*

## ЦИТОАРХИТЕКТОНИКА ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ ДОНОРОВ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ КОМПЛЕКСНЫМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ S-НИТРОЗОГЛУТАТИОНА И УФ-СВЕТА

### Cytoarchitectonics of erythrocytes blood donors, modified by the combined action of S-nitrosoglutathione and UV light

***Небольсина А.А., Федакова М.А., Путинцева О.В., Артюхов В.Г.***

Воронежский государственный университет, 394006, Россия, г. Воронеж,

*E-mail: alio.nebolsina@yandex.ru*

Поиск новых классов соединений – доноров монооксида азота, обладающих вазодилаторным эффектом, является актуальной задачей биологии. В настоящее время многие исследователи рассматривают S-нитрозотиолы как транспортную форму одного из универсальных регуляторов клеточного и тканевого метаболизма – оксида азота, среди которых одним из наиболее стабильных является S-нитрозоглутатион (GSNO), обладающий малой токсичностью. В современной медицине широко используется метод аутоотрансфузии УФ-облученной крови, который связывают с усилением оксигенации крови, купированием гипоксических состояний и нормализацией реологических свойств УФ-облученной крови [1]. Объектом исследования служили суспензии эритроцитов в 0,1 моль/л Na-фосфатном буфере (pH 7,4). В качестве модифицирующих агентов мы использовали раствор GSNO ( $1 \cdot 10^{-4}$  моль/л), УФ – свет (240-390 нм) в дозах 151, 755 и 2265 Дж/м<sup>2</sup> и их комплексное воздействие. Поверхностную архитектуру эритроцитов крови доноров изучали на сканирующем электронном микроскопе JEOLJSM 6510 LV в лаборатории ЦКПНО ВГУ. Контрольный образец содержал 93,6 % двояковогнутых дискоцитов (Д), 4,4 % обратимо деформированных клеток (ОД) и 2,0 % необратимо деформированных (НД), что соответствует морфологической картине красных клеток крови здорового человека [2]. Модификация суспензии эритроцитов крови доноров GSNO и комплексным воздействием GSNO и УФ-света в дозах 151, 755 и 2265 Дж/м<sup>2</sup> приводило к снижению количества Д и увеличению количества ОД, НД, индекса трансформации, индекса обратимой трансформации и индекса необратимой трансформации относительно контроля. Изменение поверхностной цитоархитектоники эритроцитов крови доноров может быть обусловлено воздействием УФ-света на белки и липиды мембраны, приводящем к изменению эластичности и проницаемости эритроцитарных клеток. Сравнивая данные поверхностной цитоархитектоники, полученные нами ранее, по действию УФ-света на эритроциты [3], нами была выявлена защитная роль S-нитрозоглутатиона при облучении клеток в дозах 755 и 2265 Дж/м<sup>2</sup>. Наблюдаемый эффект может быть связан с антиоксидантными свойствами S-нитрозоглутатиона, которые определяются как непосредственным взаимодействием с АФК и обменными реакциями с дисульфидными связями, так и функционированием ряда ферментов глутатионового цикла, тем самым, частично предотвращая нарушение клеточной мембраны эритроцитарной клетки.

1. Артюхов В.Г. Олигомерные белки: структурно-функциональные модификации и роль субъединичных контактов / В.Г. Артюхов, О.В. Башарина, Г.А. Вашанов, М.А. Наквасина, О.В. Путинцева. – Воронеж : Изд-во ВГУ, 1997. – 264 с.

2. Козинец Г.И. Поверхностная архитектура клеток периферической крови / Г.И. Козинец, Ю. Симварт. –Таллин: Валгус, 1984. – 116 с.

3. Небольсина А.А. Цитоархитектоника эритроцитов крови доноров в нативном и УФ-модифицированном состоянии. / А.А. Небольсина, М.А. Федакова, О.В. Путинцева, В.Г. Артюхов // Развитие науки и образования в современном мире. Москва, — 2015. — С. 39—42.

**ОБНАРУЖЕНИЕ ГИДРОПЕРОКСИДОВ В РАСТВОРАХ ФОТООКСИЛЕННОГО ПСОРАЛЕНА****Detection of hydroperoxides in photooxidized psoralen solutions****Невежин Е.В., Скарга В.В., Матросов А.А., Малахов М.В.**ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, 119997, Москва, ул. Островитянова, 1  
Тел.: +7(916)815-52-58; e-mail: malakhov.mikhail@gmail.com

Фотоокисленный псорален (ФОП) представляет собой сложную смесь фотопродуктов, которая образуется в процессе фотоокисления *in vitro* аэрируемых растворов псоралена и характеризуется целым рядом биологических эффектов [1]. Предполагается, что в реализацию некоторых эффектов, таких как индуцированные добавлением ФОП гемолиз эритроцитов [2] и модификации метгемоглобина [3], могут быть вовлечены фотопродукты гидропероксидной природы. На присутствие гидропероксидов в растворах ФОП также косвенно указывает возникновение хемилюминесценции при добавлении к растворам ФОП ионов Fe(II) [4].

В настоящей работе, присутствие гидропероксидов в растворах обнаруживали методом FOX-анализа [5], широко используемым в биоаналитических исследованиях. Этот метод основан на окислительном преобразовании Fe(II) → Fe(III) в реакции с гидропероксидами, формировании комплекса между ионами Fe(III) и красителем ксиленоловым оранжевым в кислой среде и последующем спектрофотометрическом обнаружении комплекса при 560 нм. Добавление к FOX-реагенту полиола сорбита приводит к разветвлению свободно-радикальных реакций и усилению окрашивания растворов, причем коэффициент усиления окрашивания (КУО) зависит от химической природы гидропероксида [6].

В модельных экспериментах (с использованием смесей H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и tBuOOH) нами была показана применимость мониторинга изменений КУО для качественного обнаружения двух гидропероксидов в смеси. Также обнаружено, что фотоокисление (УФ-А, 365 нм) 0,1 мМ растворов псоралена в фосфатном буферном растворе (рН 7,4) приводит к зависимому от дозы облучения формированию гидропероксидов в растворах ФОП. Динамика изменения значений КУО с изменением дозы облучения и/или времени постлучевого хранения растворов ФОП может свидетельствовать о присутствии в них, по меньшей мере, двух гидропероксидов. При этом кинетика образования и накопления одного из гидропероксидов допускает его участие в процессе ФОП-индуцированного гемолиза эритроцитов с учетом ранее полученных данных о стабильности во времени гемолитически активных продуктов фотоокисления псоралена [7].

1. Caffieri S. / Photochem. Photobiol. Sci., 2002. V.1. P.149-157.
2. Журавель Н.Н. и др. / Биологические мембраны, 1996. Т.13. С.354-359.
3. Lysenko E. et al. / J. Photochem. Photobiol. B: Biol., 2000. V.56, P.187-195.
4. Rodenko I.N. et al. / J. Photochem. Photobiol. B: Biol., 1993. V.19. P.39-48.
5. Gay C. et al. / Anal. Biochem., 1999. V.273. P.149-155.
6. Gay C, and Gebicki J.M. / Anal. Biochem., 2000. V.284. P.217-220.
7. Потапенко А.Я. и др. / Биофизика, 2004. Т.49. С.322-339.

## УСИЛЕНИЕ БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ БИФЕРМЕНТНОЙ СИСТЕМЫ БАКТЕРИЙ В СРЕДЕ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ

Enhancing of the bioluminescence from the coupled enzyme system of luminous bacteria in the media with high concentration of polyethylene glycol

***Немцева Е.В.1,2, Кузнецова И.М.3, Туроверов К.К.3, Кратасюк В.А.1,2***

1 – Сибирский федеральный университет, 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79

2 – Институт биофизики СО РАН, 660036, Красноярск, ул. Академгородок, 50, стр. 50

3 – Институт цитологии РАН, 194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий проспект, 4

Тел.: +7(391)206-207-2; факс: +7(391)206-21-65; e-mail: [enemtseva@sfu-kras.ru](mailto:enemtseva@sfu-kras.ru)

Функционирование ферментов *in vivo* происходит в среде, отличающиеся ограниченным свободным пространством и сильными стерическими эффектами, поскольку большая часть объема клетки занята другими макромолекулами – белками, нуклеиновыми кислотами, сахарами и др. Такие условия называют условиями (макро)молекулярного краудинга. Показано, что эффект исключенного объема, вызванный условиями краудинга, оказывает значительное влияние на конформационную стабильность и структурные свойства биологических макромолекул, а также на фолдинг белков, их связывание с малыми молекулами, ферментативную активность и другие процессы [1]. Для моделирования молекулярного краудинга широко используют полиэтиленгликоль (PEG) различной молекулярной массы.

В настоящей работе были изучены эффекты молекулярного краудинга на ферментативную активность белков биолюминесцентной системы бактерий. Объектом исследования служила сопряженная биферментная система NAD(P)H:FMN-оксидоредуктазы и бактериальной люциферазы. Для моделирования молекулярного краудинга использовали PEG (Sigma, США) различной молекулярной массы в диапазоне концентраций 1-20 wt%.

Были использованы ферменты: люцифераза *Photobacterium leiognathi* и NAD(P)H:FMN-оксидоредуктаза *Vibrio fischeri* (ИБФ СО РАН, Красноярск), субстраты: тетрадеканаль (MP Biomedicals, Россия), флаavinмононуклеотид (Sigma, США) и никотинамидадениндинуклеотид (Gerbu Biotechnik GmbH, Германия). Кинетические изменения интенсивности биолюминесценции регистрировали методом остановленного потока с использованием анализатора SX-20 (Applied Photophysics, Англия). Активность оксидоредуктазы определяли спектрофотометрически с использованием Cary 5000 (Agilent Technologies, США).

Было установлено, что PEG с массой 600, 20000 и 37000 Да ингибирует активность биферментной системы на всём диапазоне использованных концентраций. При использовании PEG 4000 наблюдали усиление интенсивности свечения (до двухкратного) и замедление кинетики реакции при увеличении концентрации PEG от 15 до 20%. Анализ активности оксидоредуктазы при тех же условиях показал, что PEG 4000 снижает скорость ферментативного окисления NADH во всём диапазоне концентраций краудера. Был сделан вывод о том, что в присутствии PEG эффект краудинга, вероятно, проявляется не в изменении активности отдельных ферментов, а в усилении взаимодействия между ферментами в составе биферментной системы.

*Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант РНФ № 14-24-00131).*

1. Kuznetsova I.M., Turoverov K. K. et al. / International Journal of Molecular Sciences, 2014. V. 15. №12. С. 23090-23140.



**КИНЕТИКА БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ РЕАКЦИИ БАКТЕРИЙ В ВЯЗКИХ СРЕДАХ****Kinetics of the bacterial bioluminescent reaction in viscous media**

***Немцева Е.В.1,2, Лисица А.Е.1, Кратасюк В.А.1,2***

1 – Сибирский федеральный университет, 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79

2 – Институт биофизики СО РАН, 660036, Красноярск, ул. Академгородок, 50, стр. 50

Тел.: +7(391)206-207-2; факс: +7(391)206-21-65; e-mail: [enemtseva@sfu-kras.ru](mailto:enemtseva@sfu-kras.ru)

Актуальной задачей современной биологии и биофизики является понимание механизмов, определяющих особенности функционирования белков (в частности, ферментов) в неомогенном, вязком и структурированном микроокружении, которым является клеточная цитоплазма [1]. Первым приближением к внутриклеточным условиям может быть использование для ферментативных процессов модельных сред повышенной вязкости взамен традиционных буферных растворов. Повышенная вязкость среды может приводить к замедлению ферментативных реакций, как за счет диффузионных ограничений, так и посредством уменьшения конформационной подвижности белковой макромолекулы [2]. Целью данного исследования было определение механизма воздействия вязких сред на биолюминесцентную реакцию, катализируемую бактериальной люциферазой.

Были использованы: фермент люцифераза из *Photobacterium leiognathi* (ИБФ СО РАН, Красноярск), субстраты: миристиновый альдегид (MP biomedical) и флавиномононуклеотид (Sigma), вязкие агенты: глицерин и сахароза (Panreac). Восстановление флавиномононуклеотида проводили фотохимически в присутствии этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA, Roth). Кинетику ферментативной реакции регистрировали по интенсивности биолюминесценции методом остановленной струи с помощью анализатора SX-20 (Applied Photophysics). Вязкость среды варьировали в диапазоне 1-5 сП.

Были получены кинетические кривые реакции, катализируемой бактериальной люциферазой, отражающие быстрый рост интенсивности биолюминесценции в течение первой секунды после смешивания реагентов и более медленный спад в течение последующих пяти секунд. Установлено, что повышение вязкости среды приводит к уменьшению относительного квантового выхода биолюминесцентной реакции. Также получено, что нестационарная кинетика биолюминесцентной реакции может быть удовлетворительно описана математической моделью, предполагающей независимое связывание люциферазой альдегида и восстановленного флавина в произвольном порядке, и включающей, помимо стандартных интермедиатов реакции, дополнительные стадии ингибирования альдегидом. Анализ экспериментальных кинетических кривых с помощью математической модели позволил заключить, что в средах с глицерином усиливаются процессы распада комплекса люциферазы с флавином и присоединения флавина к комплексу люциферазы с альдегидом. Кроме того, установлено, что в среде с максимальной вязкостью (5 сП) наблюдается уменьшение скорости образования возбужденного интермедиата реакции и его распада.

*Работа выполнена при частичной финансовой поддержке КГАУ «Красноярский краевой фонд поддержки научной и научно-технической деятельности» и Министерства образования и науки РФ (государственное задание на выполнение работ, проект №1762).*

1. Пучков, Е. О. / Биологические мембраны, 2014. Т. 31. №1. С. 3-13.
2. Ansari A. et al. / Science, 1992. V. 256. №. 5065. P. 1796-1798.

## **ДЕЙСТВИЕ СВЕТОВОЙ ВСПЫШКИ НА ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ЩЕЛОЧНЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ ВОЛОС РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

**Photoflash-action to Oxidation–Reduction Potentials of alkaline`s hydrolyzate of wools various origin**

***Новиков В.Э., Комарова С.А.***

Московская Государственная Академия Ветеринарной Медицины и Биотехнологии им.

К.И.Скрябина, 109273, Москва, ул. Акад.Скрябина, 23.

*e-mail: laizzza@rambler.ru*

Исследовали влияние световой вспышки на окислительно-восстановительный потенциал (фото-редокс эффект) щелочных гидролизатов волос, полученных от различных видов животных и из изделий мехового производства.

Гидролизаты получали 30-минутной инкубацией навесок волос в растворе NaOH (2н) на кипящей водяной бане. После инкубации гидролизаты разбавляли до pH=12,5; конечная концентрация кератина в расчете на исходный материал 2 мг/мл.

Установка для изучения фото-редокс эффекта в гидролизатах волос (растворы кератина) состояла из блока датчика, стандартного pH-метра, блока регистрации. Блок датчика включал: измерительный электрод – ЭО-01 и вспомогательный – ЭВЛ-1М3; штуцер для микроизмерений оборудованный кольцевым осветителем. Источником свет служили 3 светодиода (белого свечения, по 10 кд). Ток питания светодиодов стабилизирован, экспозиция вспышки регулировалась таймером. pH-метр включен в режиме милливольтметра. Для автоматической регистрации динамики окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) выход pH-метра через АЦП подключен к компьютеру, программное обеспечение регистрации – «PowerGraph».

Исследования показали, что: 1) ОВП гидролизатов полученных из волос различных животных существенно различны; 2) для большинства исследованных растворов характерно изменение ОВП под действием света; 3) амплитуда сдвигов ОВП под действием света колеблется в пределах  $\pm(5 \div 20)$  мВ относительно исходного значения и значительно различается в зависимости от происхождения материала; 4) величина сдвига потенциала незначительно изменяется при увеличении концентрации раствора кератина; 5) при экспозиции вспышки не выше 300 с сдвиг ОВП полностью обратим, большая экспозиция в ряде растворов вызывала необратимый сдвиг ОВП; 6) динамика ОВП под действием фотовспышки с экспозицией 100 ÷ 300 с по форме соответствует меандру, с временем нарастания обоих фронтов не более 3с.

Выявленная зависимость величины ОВП и сдвигов ОВП под действием фотовспышки от происхождения гидролизатов, вероятно, связана с различным содержанием меланина и различным соотношением сульфгидрильных и дисульфидных групп. Описанный метод может быть использован при некоторых видах экспертизы волос и экспертизы меховых изделий.

**БИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ОПТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НИЗКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ НА ГИДРОБИОНТЫ: ЗАВИСИМОСТЬ ОТ РЕЖИМОВ ВОЗДЕЙСТВИЯ И СПЕКТРАЛЬНОГО ДИАПАЗОНА ИЗЛУЧЕНИЯ****Biological effects of low intensity optical radiation on hydrobionts: dependence on the mode of action and the spectral range of radiation*****Плавский В.Ю.1, Барулин Н.В.2, Водчиц А.И.1, Ходасевич И.А.1, Батай Л.Е.1, Грабчиков А.С.1, Третьякова А.И.1, Плавская Л.Г.1, Микулич А.И.1, Орлович В.А.1***

1 – Институт физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси, 220072, Минск, пр. Независимости, 68

2 – Белорусская государственная сельскохозяйственная академия,

Тел.: + (375)17 284-09-58; факс: +(375)17 284-08-79; e-mail: v.plavskii@ifanbel.bas-net.by

В работе впервые выполнены сравнительные исследования биологической активности непрерывного, квазинепрерывного и импульсного лазерного излучения нано- и пикосекундного временных диапазонов низкой интенсивности при его одинаковой средней плотности мощности ( $3,0 \text{ мВт/см}^2$ ). В качестве объектов воздействия использовались: зоопланктон (жаброногий рачок) *Artemia salina* L и сперма осетровых рыб. Тестом на воздействие лазерного излучения на зоопланктон являлся процент выклева науплиусов из цист после активации яиц в солевой воде в условиях поддержания стабильного теплового режима. Показателями биологического действия излучения на сперму рыб служили данные о продолжительности подвижности сперматозоидов, а также об их криволинейной скорости после активации водой. Показано, что, несмотря на существенные различия в пиковых значениях интенсивности воздействующего фактора, как непрерывное и квазинепрерывное излучение, так излучение нано- и пикосекундного диапазонов способно в определенном интервале дозовых нагрузок оказывать как стимулирующее, так и ингибирующее действие на все исследуемые параметры функциональной активности биологических систем. Характерно, что в случае нано- и пикосекундного режимов стимулирующее действие наблюдается в очень узком диапазоне доз:  $30\text{--}60 \text{ мДж/см}^2$ . При увеличении дозы наблюдается быстрое подавление функциональных характеристик биологических систем: при дозовой нагрузке  $1,8 \text{ Дж/см}^2$  продолжительности подвижности сперматозоидов сокращается по сравнению с контролем более чем 2 раз. Эффект существенно зависит от спектрального диапазона излучения: при воздействии на зоопланктон излучения с длиной волны 808; 1176 и 1342 нм наблюдается стимуляция выклева науплий, а при воздействии излучения 632,8; 976 и 1064 нм – ингибирование. Поскольку лазерное излучение с 1176; 1342 нм находится вне полосы поглощения эндогенных фотосенсибилизаторов, то возможную роль реакций с их участием следует исключить. По нашему мнению, в качестве акцепторов лазерного излучения ближней инфракрасной области спектра, определяющих его биологическое действие, выступают растворенный молекулярный кислород и вода – универсальная биологическая среда, играющая ведущую роль в поддержании и регуляции гомеостаза в живых системах. Учитывая низкое значение коэффициента молярной экстинкции триплет-синглетного перехода для молекулярного кислорода и относительно низкую плотность мощности воздействующего излучения ( $3 \text{ мВт/см}^2$ ) концентрация  $^1\text{O}_2$  в биологической системе достаточно низка, чтобы вызвать заметное деструктивное действие. Скорее всего, его образование в биологической системе способно играть сигнальную (триггерную) функцию, влияющую на протекание биохимических и физиологических процессов в организме, например, таких как запуск апоптоза.

## **ЗАКОНОМЕРНОСТИ СОВМЕСТНОГО ДЕЙСТВИЯ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ И ПОСТОЯННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА СПЕРМУ РЫБ**

### **Regularities joint action laser and magnetostatic field on sperm fish**

***Плавский В.Ю.1, Барулин Н.В.2, Бушук С.Б.1, Казак Н.С.1***

1 – Институт физики имени Б.И. Степанова НАН Беларуси, 220072, Минск,

2 – Белорусская государственная сельскохозяйственная академия, 213407, Горки

Тел.: + (375)17 284-09-58; e-mail: v.plavskii@ifanbel.bas-net.by

Принято считать, что совместное (одновременное) действие лазерного излучения и постоянного магнитного поля характеризуется синергетическим эффектом и лежит в основе метода магнитолазерной терапии. Однако биофизические механизмы, служащие основой данного явления, не изучены. В настоящей работе впервые в независимых экспериментах на живых объектах получены данные, свидетельствующие о модифицирующем влиянии магнитного поля на глубину проникновения излучения в ткань, а также на показатели функциональной и биохимической активности биообъектов. В качестве объектов исследования использовались эмбрионы и сперма рыб. Тестами, свидетельствующими о влиянии физических факторов на функциональную и биохимическую активность спермы, служили: скорость криволинейного движения сперматозоидов после их активации водой; процент активно-подвижных сперматозоидов в общей совокупности исследуемых образцов; активность ферментов, входящих в состав сперматозоидов. С использованием указанных объектов показан синергизм в биологическом действии лазерного излучения и постоянного магнитного поля, а в независимых исследованиях с помощью лазерной конфокальной сканирующей микроскопии обнаружено достоверное влияние магнитного поля на глубину проникновения лазерного излучения в живую ткань. Полученные результаты позволили сделать вывод, что наблюдаемые эффекты обусловлены конформационными перестройками биоструктур с жидкокристаллическим (ЖК) характером упорядочения (белки мышечной ткани, мультиферментные комплексы, структуры спермы и др.) в поле световой волны лазера и в постоянном магнитном поле. При этом способность ЖК изменять свою ориентацию под действием внешних физических полей хорошо известна из литературы. Причем в зависимости от значения поляризуемости жидкие кристаллы могут ориентироваться как в направлении поля, так и перпендикулярно ему. В этой связи изменение светопропускания биологических тканей, регистрируемое с помощью конфокального микроскопа, под действием приложенного магнитного поля может быть следствием его ориентационного действия на биологические жидкокристаллические структуры. Прямым доказательством жидкокристаллического характера строения сперматозоидов является присущее им двулучепреломление, а также достоверное влияние постоянного магнитного поля на усредненную по времени скорость движения сперматозоидов вдоль его реальной траектории, как она воспринимается в двухмерном пространстве под микроскопом; усредненную по времени скорость движения сперматозоида вдоль линии, проведенной между начальной и конечной точкой траектории; частоту биения головки – среднюю частоту, с которой реальная траектория сперматозоида пересекает усредненную траекторию; амплитуду бокового смещения головки – отклонение головки относительно средней траектории движения сперматозоида после его активации водой в поле зрения микроскопа. Наблюдаемое снижение указанных показателей под влиянием магнитного поля свидетельствует о его способности влиять на траекторию движения сперматозоидов.

**ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ПОЛИЕНОвого АНТИБИОТИКА АМФОТЕРИЦИНА В****Photosensitizing properties of polyene antibiotics amphotericin B**

*Третьякова А.И.1, Плавская Л.Г.1, Микулч А.В.1, Леусенко И.А.1, Плавский В.Ю.1, Морозова И.Л.2, Кузнецова Т.Е.2, Пыж А.Э.2, Рыжковская Е.Л.2, Счастливая Н.И.2, Улащик В.С.2*

1 – Институт физики имени Б.И. Степанова НАН Беларуси, 220072, Минск, пр-т Независимости, 68;

2 – Институт физиологии НАН Беларуси, 220072, Минск, ул. Академическая, 28

Тел.: + (375)17 284-09-58; факс: +(375)17 284-08-79; e-mail: v.plavskii@ifanbel.bas-net.by

Впервые установлено, что одно из наиболее широко применяемых противогрибковых средств – полиеновый антибиотик амфотерицин В в лекарственной форме «Фунгизон» обладает выраженным фотосенсибилизирующим действием и способен выступать в качестве фотосенсибилизатора для реализации методов антигрибковой фотодинамической терапии при воздействии излучения видимой области спектра. Показано, что фотохимической активностью обладают лишь мономерные формы препарата; димерные и высоко агрегированные формы амфотерицина, преобладающие в водном растворе при высоких концентрациях, не обладают фотосенсибилизирующим действием. На это указывает отсутствие фотобиологического эффекта при облучении водных растворов амфотерицина и различных аминокислот излучением, соответствующим полосе поглощения антибиотика. В то же время, при облучении этих соединений в органических растворителях, в которых амфотерицин находится в мономерной форме, четко проявляется фотосенсибилизирующее действие антибиотика. Проявлению фотосенсибилизирующих свойств препарата в водных средах способствует его связывание в мономерной форме с молекулами ферментов, что находит свое подтверждение в фотосенсиблированной инактивации белков. Показано, что в механизме фотодинамического повреждения ферментов преобладают радикальные процессы, а не реакции с участием синглетного кислорода. На это указывает выраженное снижение эффекта фотоинактивации при внесении в облучаемую смесь акцепторов и доноров электронов (цистин,  $NAD^+$ ), а также при переходе от водных растворов к тяжелой воде. В случае преобладающего участия синглетного кислорода в фотохимических реакциях следовало бы ожидать резкого увеличения фотобиологического действия при замене  $H_2O$  на  $D_2O$  вследствие увеличения на порядок времени жизни синглетного кислорода. В этой связи наблюдаемое снижение эффекта сенсibilизированной амфотерицином фотоинактивации ферментов при облучении растворов в присутствии азидата натрия может быть также обусловлено тушением азидом возбужденных состояний антибиотика. Способность амфотерицина выполнять функцию фотосенсибилизатора продемонстрирована нами и на клеточном уровне (клетки почки африканской зеленой мартишки VGM) с помощью МТТ-теста. При моделировании контактного дерматита на депилированных участках кожи крыс показано также, что при воздействии излучения, соответствующего полосе поглощения амфотерицина, наблюдается двукратное усиление его фунгицидного действия. Полученные результаты могут найти широкое применение в медицинской практике для лечения грибковых поражений кожи, полости рта, женской половой сферы и др. Наличие фотосенсибилизатора (амфотерицина В), разрешенного к применению, и фототерапевтической аппаратуры, соответствующей его спектру поглощения, позволяют разработать эффективные медицинские технологии.

## ФОТОНИКА ПОЛИЕНОВОВОГО АНТИБИОТИКА АМФОТЕРИЦИНА В И ЕГО КОМПЛЕКСОВ

### Photonics of polyene antibiotics amphotericin B and its complexes

*Третьякова А.И., Микулич А.В., Першукевич П.П., Плавская Л.Г., Плавский В.Ю.*

Институт физики имени Б.И. Степанова НАН Беларуси, 220072, Минск, пр-т Независимости, 68

Тел.: + (375)17 284-09-58; факс: +(375)17 284-08-79; e-mail: v.plavskii@ifanbel.bas-net.by

С использованием методов стационарной, кинетической и поляризационной спектроскопии по возбуждению и испусканию исследована структура и фотофизические свойства полиенового антибиотика амфотерицина В в лекарственной форме «Фунгизон». Указанное противогрибковое средство является «золотым стандартом» сравнения при лечении микозов. Интерес к препарату обусловлен выявленной нами его способностью выступать в качестве фотосенсибилизатора для антигрибковой фотодинамической терапии при воздействии излучения видимой области спектра. Указанный лекарственный препарат представляет собой смесь (комплекс) собственно амфотерицина В и дезоксихолата натрия, вводимого с целью повышения растворимости лекарственной субстанции. Исследования показали, что амфотерицин В в широком диапазоне концентраций представляет собой совокупность мономерных, димерных и высоко агрегированных форм. При этом вопреки широко распространенному мнению о наличии флуоресценции у димерных форм амфотерицина, показано, что регистрируемая флуоресценция раствора обусловлена диссоциацией агрегированных форм под действием возбуждающего излучения на мономеры и их последующей флуоресценцией как в канале  $S_1 \rightarrow S_0$ , так и  $S_2 \rightarrow S_0$ . Основанием для вывода об отсутствии флуоресценции у димеров послужили результаты сравнения спектров возбуждения флуоресценции и спектров поглощения очень разбавленных растворов амфотерицина, в которых препарат находится в мономерной форме, и растворов с преобладающим содержанием димерных форм. Кроме того, в спектре флуоресценции концентрированных растворов не удалось обнаружить дополнительных полос, которые можно было отнести к испусканию агрегированных форм препарата. Установлено наличие при комнатной температуре выраженной поляризованной флуоресценции как для водных растворов амфотерицина, так и в случае использования органических растворителей (диметилсульфоксид, метанол), в которых препарат находится в мономерном состоянии. Показано, что изменение степени поляризации флуоресценции амфотерицина по спектру возбуждения и испускания обусловлено изменением вкладов в суммарную люминесценцию испускания в каналах  $S_1 \rightarrow S_0$  и  $S_2 \rightarrow S_0$ , характеризующихся отличающимся в 2-3 раза значением средней длительности затухания флуоресценции. Впервые показана способность амфотерицина образовывать равновесные комплексы с молекулами ферментов гликолиза, что подтверждается: тушением интенсивности триптофановой флуоресценции фермента при неизменности длительности затухания флуоресценции; появлением белкового максимума в спектре возбуждения флуоресценции амфотерицина, связанного с ферментом; возрастанием степени поляризации амфотерицина при насыщении его раствора ферментом. Установлено, что белковые молекулы (как ферменты, так и транспортные белки крови) имеют несколько сайтов связывания антибиотика. В одном из них антибиотик находится в мономерной форме; взаимодействие амфотерицина с другим участком белковой глобулы способно инициировать образование нефлуоресцирующих агрегированных форм препарата.

**ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ БИЛИРУБИНА НА КЛЕТКИ ЖИВОТНЫХ В КУЛЬТУРЕ****Photosensitizing action of bilirubin on animal cells in culture**

***Плавская Л.Г., Микулич А.В., Леусенко И.А., Третьякова А.И., Плавский В.Ю.***

Институт физики имени Б.И. Степанова НАН Беларуси, 220072, Минск, пр-т Независимости, 68  
Тел.: + (375)17 284-09-58; факс: +(375)17 284-08-79; e-mail: v.plavskii@ifanbel.bas-net.by

Способность билирубина оказывать сенсibiliзирующее действие на биологические системы различного уровня структурной организации является предметом многочисленных исследований в связи с широким использованием фототерапии для лечения гипербилирубинемии новорожденных детей. Вопрос о возможных побочных эффектах такой фототерапии до сих пор продолжает оставаться актуальным в силу появления новых источников излучения на основе сверхъярких светодиодов, позволяющих варьировать в широком диапазоне как интенсивность, так и длину волны воздействующего излучения в пределах полосы поглощения пигмента. Исследования, выполненные в настоящей работе, показали, что воздействие излучения светодиодных источников с максимумом полосы около 465 нм, соответствующего спектру поглощения билирубина, способно оказывать повреждающее действие на клетки почки африканской зеленой марышки BGM, находящиеся в логарифмической стадии роста и предварительно инкубированные (в течение 2 ч) с билирубином (концентрация около 25 мкМ). В качестве критерия биологического действия оптического излучения выбран МТТ-тест, позволяющий спектрофотометрически оценить выживаемость клеток в результате воздействия различных факторов. Показано, что биологический эффект при воздействии излучения в присутствии билирубина в значительной мере зависит от физиологического состояния клеток, концентрации фотосенсибилизатора и дозы воздействующего излучения при ее изменении в диапазоне 1–25 Дж/см<sup>2</sup>. В отсутствие фотосенсибилизатора, а также при инкубации клеток с фотосенсибилизатором без светового воздействия эффект слабо выражен. Вид зависимости выживаемости клеток от энергетической дозы указывает на то, что фотосенсибилизатором выступает билирубин, а не его фотопродукты, способные оказывать фотодинамическое действие. Установлено, что внесение тушителя синглетного кислорода – азида натрия в культуру клеток совместно с сенсibiliзатором значительно снижает как повреждающее действие света в отношении клеток, так и степень обесцвечивания билирубина в растворе. Приведенные результаты указывают на участие синглетного кислорода в механизме фотосенсибилизированного билирубином повреждения клеток, и находятся в хорошем соответствии с ранее полученными нами данными о способности билирубина генерировать синглетный кислород ( $\gamma_{\Delta} = 0.02$ ) как в органическом растворителе, так и в составе комплекса с альбумином. Установлено, что варьирование плотности мощности в 5-6 раз при соответствующей компенсации дозы за счет времени воздействия практически не сказывается на фотобиологическом действии.

## ОСОБЕННОСТИ МИГРАЦИИ МАКСИМУМА ФОТОННОЙ ПЛОТНОСТИ В СИЛЬНО РАССЕИВАЮЩИХ СРЕДАХ С ОПТИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ

### Specific features of photon density normalized maximum migration in turbid media with tissue-like optical properties

*Потлов А.Ю., Фролов С.В., Проскурин С.Г.*

Тамбовский государственный технический университет, 392000, г.Тамбов, ул.Советская, д.106  
Тел.: (4752) 63-10-19; факс: 63-06-43; e-mail: [tstu@admin.tstu.ru](mailto:tstu@admin.tstu.ru)

Прошедшее через биологическую тканью оптическое излучение содержит полезную информацию о форме, размерах, местоположении и оптических свойствах структурных компонентов ткани, т.е. о её оптическом строении [1-2]. Однако, для того чтобы использовать эту информацию необходимо решить задачу распространения излучения применительно к конкретной ткани. Поскольку точного решения [1] она не имеет, актуальным является изучение закономерностей прохождения излучения через модельные объекты, которые упрощённо описывают биологические ткани.

Целью данной работы является изучение и анализ влияния оптических свойств неоднородностей, а также их геометрического расположения на распространение и затухание оптического излучения в биологических тканях.

Для получения пространственных распределений фотонной плотности использована модель капли – единичного импульса излучения с заданным количеством фотонов, попадающего в объект около поверхности и диффундирующего внутри него [2]. Она позволяет достаточно точно описать экспериментально полученные данные [1], как для однородного, так и для неоднородного случаев и базируется на численном решении уравнения переноса излучения (УПИ) в диффузионном приближении с граничным условием третьего рода (Робина). Для анализа особенностей миграции фотонной плотности её пространственные распределения нормируются относительно максимума и подвергаются пороговому ограничению. Анализ результатов моделирования позволил выявить следующие закономерности поведения нормированных максимумов фотонной плотности (НМПФ) в цилиндрических объектах:

1. В любых однородных случаях в не зависимости от значений коэффициентов поглощения и рассеяния НМПФ движется в направлении геометрического центра объекта.
2. В случае наличия поглощающей неоднородности НМПФ движется в направлении точки симметричной геометрическому центру этой неоднородности относительно центра моделируемого объекта. Причем с ростом коэффициента поглощения неоднородности и её размера скорость движения НМПФ возрастает.
3. В случае наличия рассеивающей неоднородности НМПФ движется в направлении её геометрического центра. Причем с ростом коэффициента рассеяния неоднородности и её размера скорость движения НМПФ также возрастает.
4. В случае наличия комбинации рассеивающей и поглощающей неоднородностей НМПФ движется в соответствии с закономерностями 2 и 3.

Полученные закономерности позволяют более детально объяснить процесс диффузии фотонов в биологической ткани и по-новому взглянуть на аналитические подходы к решению УПИ.

1. Patterson M., Chance B., Wilson B. //Applied Optics. 1989. Vol.28. pp. 2331-2336
2. Proskurin S.G., Potlov A.Yu., Frolov S.V. // Quantum Electronics. 2015. Vol. 45. №6. pp. 540–546



**ЭФФЕКТЫ ЭКСТРАКТОВ НЕСВЕТАЮЩИХСЯ ГРИБОВ НА ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ СИСТЕМЫ БАЗИДИОМИЦЕТОВ****Effects of the extracts from unluminescent mushrooms on extracellular luminescent system of basidiomycetes****Пузырь А.П., Медведева С.Е.**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биофизики СО РАН, 660036, Красноярск, Академгородок, д.50, стр. 50  
e-mail: [apuzyr@mail.ru](mailto:apuzyr@mail.ru)

Как правило, исследования люминесцентной системы базидиомицетов в лабораторных условиях проводят на мицелии грибов, растущих в культуре (*in vivo*) или используя внеклеточные люминесцентные системы, выделенные из биомассы мицелия (*in vitro*). В работе [1] сообщается об изучении перекрестного действия «холодных» (ферментная система) и «горячих» (субстрат) экстрактов, полученных из светящихся и несветящихся грибов, на интенсивность люминесцентной реакции *in vitro*. При перекрестном действии стимулирующий эффект регистрируется только для экстрактов из светящихся грибов. В работе [2] сообщается о стимулировании в условиях *in vitro* люминесцентной системы *Neonothopanus nambi* экстрактами несветящихся грибов *Pholiota squarrosa*, *Tricholoma* sp., *Phellinus* sp., *Russula foetens*, *Clitocybe* sp. Таким образом, в данных статьях представлены противоречащие экспериментальные результаты. Использование модифицированной среды для выделения внеклеточной системы, разрушение биомассы ультразвуком, хранение «холодных» экстрактов в виде лиофильных порошков и ряд других приемов позволяет нам получать люминесцентные системы базидиомицетов, сохраняющие высокую и постоянную активность в течение нескольких лет. Благодаря стабильности характеристик таких систем появляется возможность проводить различные эксперименты *in vitro* с высокой степенью достоверности, в том числе и по перекрестному действию «горячих» экстрактов, полученных из плодовых тел грибов различных видов. Исследования *in vitro* проводились на «холодных» экстрактах, выделенных из биомассы светящихся мицелиев *Armillaria* sp., *N. nambi* и не идентифицированного гриба ИБСО 2371 (Коллекция культур ИБФ). Источником для «горячих» экстрактов являлись плодовые тела несветящихся грибов, растущих в лесах, окружающих город Красноярск. Полученные нами данные позволяют выделить 3 группы несветящихся грибов: стимулирующие, индифферентные и ингибирующие люминесценцию *in vitro*. Таким образом, снимается противоречие по результатам вышеуказанных статей. Вероятно, наиболее интересными при изучении люминесценции являются грибы, «горячие» экстракты которых стимулируют свечение. Согласно нашим исследованиям к ним относятся *P. squarrosa*, *Hypholoma capnoides*, *Cortinarius* sp., *Mycena* sp., *Chroogomphus rutilus*. Из грибов *P. squarrosa*, *H. capnoides*, *Cortinarius* sp. были получены чистые культуры. Установлено, что «горячие» экстракты мицелия всех культур и питательные среды, содержащие метаболиты, синтезированные при росте мицелия, являются стимуляторами люминесцентных реакций *in vitro*. По нашему мнению наиболее перспективной для дальнейших исследований является культура *P. squarrosa*, которая имеет максимальную продукцию стимулирующего компонента «горячего» экстракта и быстрый рост биомассы.

1. Oliveira A.G., Desjardin D.E., Perryc B.A., Stevani C.V. / Photochemical & Photobiological Sciences. 2012. V.11. P.848-852.
2. Purto, K.V. et al. /Angewandte Chemie International Edition. 2015. 54(28). P.8124-8128.

## СВЕТЯЩАЯСЯ ДРЕВЕСИНА – ИСТОЧНИК КУЛЬТУРЫ НОВЫХ ВЫСШИХ ГРИБОВ

### Glowing wood – a source for culture of new higher mushrooms

**Пузырь А.П.1, Медведева С.Е.1, Псурцева Н.В.2**

1 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биофизики СО РАН, 660036, Красноярск, Академгородок, д.50, стр. 50

2 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, 197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 2  
e-mail: [apuzyr@mail.ru](mailto:apuzyr@mail.ru)

Грибы играют важную роль в экологических системах. Среди высших грибов имеются дереворазрушающие светящиеся виды. Исследования биолюминесценции базидиомицетов, как правило, начинаются с обнаружения в ночном лесу светящихся плодовых тел, изоляты которых затем поддерживаются в лабораторных условиях. Наличие плодовых тел позволяет провести идентификацию грибов классическими фенотипическими методами. В случае отсутствия плодовых тел, видовая принадлежность организмов, вызывающих свечение древесины, остается неизвестной. Примером могут являться статьи, в которых сообщается об исследовании свечения мицелия грибов на образцах древесины разных деревьев, собранных в Индии и Панаме [1, 2]. В настоящее время, в качестве важного инструмента для идентификации видов грибов, в дополнение к морфологическим характеристикам, используются молекулярные методы.

В 2013 году в период с 25 ноября по 5 декабря в окрестностях Биостанции Северного Борнео (Nort Borneo Biostation) (06°57'46.00"с.ш. и 116°49'46.50"в.д.) [3] была обнаружена светящаяся древесина. Свет исходил от ствола кокосовой пальмы, лежащего на земле. Образцы светящейся древесины были привезены в ИБФ СО РАН (56°00'34" с.ш. и 92°47'30" в.д.), где до настоящего времени сохраняют люминесцентную активность. Светящаяся древесина явилась источником для получения чистой мицелиальной культуры. Образцы древесины были промыты водой от остатков почвы, поверхность образцов простерилизована в пламени спиртовки, древесина расколота стерильным скальпелем и помещена на питательные среды в чашках Петри. Мицелий, выросший в чашках Петри (ИБСО 2371, Коллекция культур ИБФ), обладал люминесцентными свойствами и явился посевным материалом для получения биомассы с целью дальнейших исследований.

Культура ИБСО 2371 согласно анализам, проведенным в лаборатории биохимии грибов БИН РАН, обладает морфологическими признаками, характерными для базидиальных грибов (структура мицелиальной колонии, пряжки на гифах и др.). Данные ITS секвенирования не позволили идентифицировать культуру путем поиска гомологичных последовательностей в международном генбанке (NCBI). Наиболее близкие депонированные там последовательности принадлежали нескольким неидентифицированным "uncultured mycorrhizal fungus". На основании полученных данных можно предполагать, что культура ИБСО 2371, является видом базидиального гриба, данные о котором отсутствуют в генетическом банке.

Таким образом, светящаяся древесина может являться источником для получения чистых культур светящихся грибов. В настоящее время проводятся дальнейшие исследования по секвенированию других участков рДНК культуры ИБСО 2371 в попытке установить ее родовую принадлежность.

1. Deheyn D.D., Latz M.I. / Luminescence, 2007. 22. P.462-467.
2. Sabharwal S.C., Kathuria S.P., Dhingra M.M. / J. Biosci., 1983. Vol.5. № 1. P.53-62.
3. <http://borneobiostation.com/biostation/>

**ВЛИЯНИЕ УФ-В РАДИАЦИИ НА СОДЕРЖАНИЕ ПРИРОДНЫХ ПОЛИКАТИОНОВ – ПОЛИАМИНОВ В ЭТИЛЕНОВЫХ МУТАНТАХ ETR И CTR ARABIDOPSIS THALIANA L.****Effect of UV-B radiation on natural polycationic –polyamines–levels in *etr* and *ctr* *Arabidopsis thaliana* mutants.****Ракитин В.Ю., Власов П.В., Ракитина Т.Я., Прудникова О.Н.**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева Российской академии наук; ул. Ботаническая 35, 127276, Москва  
тел (495)9779245, факс (495)9778018, E-mail: rakit@ippras.ru

Проблема реакции растений на повышающийся уровень УФ-В радиации (280-320 нм) находится в ряду наиболее актуальных. УФ-В включает пути трансдукции сигналов, регулирующих экспрессию генов, которые контролируют ряд защитных механизмов, в частности, синтез полиаминов, имеющих общий предшественник со стрессовым гормоном этиленом. Природные алифатические полиамины (ПА) – универсальные органические поликатионы. ПА в растении в условиях адаптационного процесса проявляют защитные свойства благодаря способности стабилизировать биополимеры и также служить ловушками активных форм кислорода. Настоящая работа предпринята для выяснения участия этилена в регуляции содержания полиаминов в этиленовых мутантах *ctr1-1* и *etr 1-1 Arabidopsis thaliana* при УФ-В стрессе. Растения *etr 1-1* этилен-нечувствительны и способны связывать только 20% этилена по сравнению с диким типом. В мутантах *ctr1-1* этиленовый сигнальный путь работает постоянно. В работе 14-дневные растения однократно облучали различными дозами УФ-В. Дозы УФ-В: умеренные – 6 и 9 кДж/м<sup>2</sup>, высокая – 18 кДж/м<sup>2</sup>, летальная – 27 кДж/м<sup>2</sup>. Через 24ч в растениях определяли содержание полиаминов (ПА). Первые изменения в содержании путресцина (Put) наблюдали через 5 ч после облучения. Все дозы УФ-В, кроме летальной, вызывали подъем содержания Put с максимумом через сутки после облучения. У растений дикого типа (*wt*) наибольший эффект на накопление Put оказывали умеренные дозы УФ-В, его содержание увеличивалось в 7 раз. После высокой дозы содержание Put возрастало лишь в 2 раза, а после летальной дозы становилось меньше, чем в необлученных растениях. Содержание спермидина (Spd) под воздействием слабой и умеренных доз УФ-В снижалось незначительно, после высокой дозы – в 2,5 раза, а летальной – в 4 раза. Умеренные дозы УФ-В радиации уменьшали содержание спермина (Sprm) примерно в 2 раза, а высокая и летальная в 4,5 и 6 раз соответственно. Особенностью мутанта *etr 1-1* оказалось высокое по сравнению с диким типом содержание путресцина в контрольных растениях (на 40– 60%), а содержание Spd и Sprm было сравнимо с таковым в *wt*. Все дозы, кроме летальной, вызывали подъем содержания Put: умеренная – в 5-6 раз, высокая в 4-5 раз. УФ-В 9кДж увеличивал содержание Spd на 20 %, а 18 кДж – уменьшал на 20%. Содержание Sprm от умеренной дозы УФ-В не изменялось, от высокой падало на 22%. В мутантах *ctr 1-1* содержание Put было на 10-25 % ниже чем в диком типе, а содержание Spd и Sprm практически не отличалось (разница в пределах ошибки опыта). Умеренная и высокая дозы УФ-В радиации вызывали подъем содержания Put в 5 раз. УФ-В 9 и 18кДж не изменяли уровень Spd. От воздействия умеренной дозы уровень Sprm падал на 30%, от воздействия высокой дозы – на 40%.

Полученные данные показывают, что постоянно работающий этиленовый путь ослабляет реакцию на УФ-В, тем самым снижая их адаптационный потенциал. Результаты экспериментов также предполагают, что рецепция этилена *etr1-1* не заблокирована или осуществляется через другие этиленовые рецепторы.

## **ВЛИЯНИЕ КРАСНОГО СВЕТА И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО ПЕПТИДА НА ОСТЕОГЕННУЮ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА IN VITRO**

**Influence of light and biologically active peptide on osteogenic differentiation of marrow-derived mesenchymal stem cells in vitro**

***Решетников Д.А.1,2, Рыццов Г.К.1,2, Чернов А.С.1***

1–Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290, Пущино

2–Пущинский государственный естественно-научный институт, 142290, Пущино

Тел.: +7(4967)739148; факс: +7(4967) 33-05-53; e-mail: c.h.e.r.n.o.v@rambler.ru

Согласно ВОЗ, остеопороз (заболевание костно-мышечной системы (КМС)) занимает 4 место в мире после сердечно-сосудистых, онкологических заболеваний и сахарного диабета. Мед.препараты не всегда эффективны и могут вызывать побочные эффекты. В клеточной терапии активно используют мезенхимальные стволовые клетки (МСК) костного мозга для лечения различных заболеваний, в том числе и КМС. Благодаря низкой иммуногенности и иммуномодулирующей активности, МСК могут выступать в роли активных индукторов репаративных процессов. Однако с возрастом количество, жизнеспособность и дифференцировочный потенциал МСК сильно снижается. Поэтому важным является поиск физико-химических факторов, которые позволят повысить жизнеспособность и дифференцировочный потенциал собственных МСК, что в свою очередь повысит регенеративный потенциал организма и позволит использовать аутологичные МСК.

Цель работы – исследовать совместное действие красного света ( $\lambda=633\text{nm}$ ) от светодиодной матрицы и синтетического пептида циклопентарфина (фрагмента тяжелой цепи иммуноглобулина G) на жизнеспособность, метаболическую активность и остеогенную дифференцировку МСК мышей разных возрастных групп.

МСК выделяли из костного мозга бедренной кости 10- и 25-недельных мышей линии NMRI. Клетки культивировали в среде  $\alpha$ -MEM с 10% FBS при 37°C в 5% CO<sub>2</sub>. Критериями отбора МСК были: а) адгезия к пластику и фибробластоподобная морфология, б) экспрессия CD44, GATA3 и отсутствие экспрессии CD34, в) дифференцироваться в остеобласты в индукционной среде. Жизнеспособность клеток оценивали с помощью флуоресцентного набора Live/Dead Kit. Метаболическую активность оценивали с помощью МТТ-теста. Оценку остеогенной дифференцировки проводили окрашиванием кальциевых депозитов ализарином красным. Облучение МСК красным светом проводили однократно в течение 15 мин в начале культивирования, параллельно вносили 0,1 мкМ циклопентарфина. Контрольные клетки были интактными.

Было установлено, что полученные клетки относятся к МСК (повышенная адгезия к пластику, фибробластоподобная форма, экспрессия CD44, GATA3, формирование кальциевых депозитов). Количество жизнеспособных клеток, выделенных из 10-недельных мышей, было в 1,8 раза больше, и они обладали повышенной пролиферативной активностью, по сравнению с клетками, от 25-недельных животных. Красный свет и циклопентарфин повышали метаболическую активность в обеих возрастных группах МСК. Кроме того, сочетанное действие света и пептида повышало пролиферативную активность МСК, полученных от 25-нед. животных, приближая значения к контрольным МСК, выделенных из молодых мышей. Таким образом, совместное воздействие света и пептида способно увеличивать жизнеспособность и повышать метаболическую активность МСК мышей разных возрастных групп.

Работа выполнена при поддержке совета по грантам Президента Российской Федерации (СП-885.2015.4.).

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ ФОРМ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ  
В ПРЕДКЛИНИЧЕСКИХ ЖИВОТНЫХ МОДЕЛЯХ****Comparative study of liposomal photosensitizers in vivo****Решетов В.А. 1, Гаррье Ж. 2, Болотина Л.Н. 2, Зорин В.П. 1.**1 – Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030 Минск, Беларусь  
vpzorin@mailru

2 – Лаборатория CRAN, Университет Лотарингии, 54500 Нанси, Франция

Детальное исследование процессов выхода фотосенсибилизаторов (ФС) из состава липосом и процессов разрушения липосомальных носителей в крови, определяющих поведение липосомальных форм лекарств в организме и возможности липидных носителей при доставке ФС к биологическим структурам-мишеням, является необходимым для прогнозирования результативности фотозодействия при проведении ФДТ. Несмотря на растущее число работ с использованием липосомальных форм ФС, данные вопросы редко рассматриваются комплексно.

В данной работе в качестве преclinical модели для анализа распределения классических и стерически защищенных липосомальных форм порфиринового ФС (метатетрагидроксибензилхлорин) в кровеносной системе *in vivo* использовалась хориоаллантоисная мембрана (ХАМ) куриного эмбриона без и с перевитой экспериментальной опухолью. Нами было показано, что измерения степени поляризации и фотоиндуцированного тушения флуоресценции ФС являются чувствительными методами оценки его выхода из липосом в модельных системах, дающими количественно совпадающие результаты. Для оценки кинетики выхода ФС из липосом в ХАМ использовался метод фотоиндуцированного тушения флуоресценции, характеризующийся высокой чувствительностью в широком диапазоне локальных концентраций хлорина в липосомах. С использованием данного метода, а также ряда других физико-химических методов показано, что процессы фармакокинетики ФС в крови сопряжены как с разрушением липидных носителей, так и с диффузионным перераспределением молекул ФС из наноразмерных везикул на белки плазмы крови. [1-4]

Разработанные методы исследования использованы для анализа данных прижизненной флуоресцентной микроскопии процессов распределения ФС в кровеносных сосудах, в нормальной и опухолевой тканях мышей с перевитой опухолью. Полученные результаты свидетельствуют о том, что кинетика процессов выхода молекул фотосенсибилизаторов из липосомальных носителей является фармакологически значимым показателем, который в значительной степени контролирует процессы распределения ФС в организме и, как следствие, результативность применения ФДТ.

1. Garrier J., Reshetov V. et al. //J. Drug Target, April 2014, V. 22, No. 3, P. 220-231.
2. Reshetov V.A., Lassalle H.-P. et al. //Inter. J. on Nanomedicine. 2013. №8. P. 3817-3831
3. Garrier J., Reshetov V. et al. In book: PDT: New research. Ed.: Nova publishers. 2013.
4. Reshetov V., Zorin V. et al. // Photochem. Photobiol.–2012. – V.88. – P. 1256-1264.

## СОЗДАНИЕ ОДНОДОМЕННОГО БЛИЖНЕ-ИНФРАКРАСНОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО БЕЛКА НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЛЬНОГО ФИТОХРОМА

### Development of a single domain near-infrared fluorescent protein based on bacterial phytochrome

**Румянцев К.А.1,2, Щербаклова Д.М.2, Захарова Н.И.2, Верхуша В.В.2, Туроверов К.К.1**

1 – Лаборатория структурной динамики, стабильности и фолдинга белков, Институт цитологии РАН, 194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., 4, Россия;

2 – Департамент анатомии и структурной биологии, Колледж медицины им. Альберта Эйнштейна, 10461, Нью-Йорк, США

Тел.: + 7(812) 297-19-57; e-mail: kkt@mail.cytspb.rssi.ru

Генетически-кодируемые флуоресцентные маркеры широко применяются для количественного и неинвазивного исследования биологических процессов [1]. Создание биомаркеров, флуоресцирующих в ближне-инфракрасном (ближне-ИК) спектральном диапазоне позволяет глубже заглянуть в ткани животных, которые наиболее светопроницаемы в этом диапазоне длин волн [2]. Для широкого применения ФБ важно также, чтобы они имели низкий молекулярный вес и не были склонны к димеризации. Нам удалось на основе хромофор-связывающего домена бактериального фитохрома *Rhodospseudomonas palustris* (БФх), получить ФБ, названный GAF-FP с молекулярной массой ~19 кДа, который в 2 раза меньше, по сравнению с другими ФБ на основе БФх, и в 1.4 раза меньше по сравнению с широко применяемыми GFP-подобными белками, флуоресцирующий в ближнем ИК диапазоне. В отличие от большинства других ближне-ИК ФБ, GAF-FP является мономером, обладает высокой фотостабильностью и устойчив к внесению малых пептидных вставок. Более того, GAF-FP способен ковалентно присоединять два различных тетрапиррольных хромофора: фикоцианобилин и биливердин, последний из которых в достаточно больших концентрациях содержится в тканях млекопитающих [2]. GAF-FP, содержащий биливердин в качестве хромофора, имеет полосу поглощения с максимумом при 635 нм и полосу флуоресценции с максимумом при 670 нм, что позволяет получать высокие соотношения сигнала флуоресценции к фоновому сигналу даже если ФБ локализован на расстоянии нескольких мм от поверхности ткани. Помимо ближне-ИК полосы поглощения, GAF-FP также имеет полосу поглощения в фиолетовой области спектра с максимумом при 378 нм. Это свойство было использовано нами для создания химерного белка, состоящего из модифицированной люциферазы *Renilla reniformis* (RLuc8) и GAF-FP, способного к резонансному переносу энергии биолюминесценции при окислении диметокси-коэлюциферазина люциферазы. Без ФБ RLuc8 катализирует расщепление субстрата с излучением света в области 400 нм. В составе химерного белка GAF-FP–RLuc8 энергия от субстрата передается на хромофор ФБ и затем излучается в ближне-ИК диапазоне, соответствующем спектру флуоресценции GAF-FP. Высокий уровень ближне-ИК сигнала GAF-FP–RLuc8 позволяет одновременно наблюдать его наряду с люминесценцией люциферазы светлячка, создавая условия для проведения многопараметрического биолюминесцентного сканирования. Полученные результаты открывают путь для направленного создания малых ближне-ИК ФБ на основе различных природных БФх с перспективой их широкого применения в клеточной и молекулярной биологии.

1. Олеся В. Степаненко и др. / Цитология, 2007. Т.49. № 5. С.395-420.

2. D.M. Shcherbakova, V.V. Verkhusha / Nature Methods, 2013. V.10. P.751-754.

**ФОТОДИНАМИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ НА ОСНОВЕ ГИБРИДНЫХ СТРУКТУР ФУЛЛЕРЕН-КРАСИТЕЛЬ****New generation of photodynamic preparations on the basis of hybrid structures fullerene-dye**

***Рыбкин А.Ю., Горячев Н.С., Белик А.Ю., Михайлов П.А., Пархоменко И.И., Ступина Т.С., Терентьев А.А., Хакина Е.А., Трошин П.А., Котельников А.И.***

Институт проблем химической физики РАН, 142432, г. Черноголовка, проспект академика Н.Н. Семенова 1.

Тел.: +7(496)522-1492; факс: +7(496)522-35-07; e-mail: kotel@icp.ac.ru

В медицинской практике для фотодинамической терапии используются красители, которые, поглощая свет в диапазоне 650-720 нм и переходя в триплетное состояние, генерируют синглетный кислород и, в конечном счете, активные радикалы, благодаря чему подавляется развитие опухолей. В последние годы большое внимание в качестве потенциальных фотодинамических агентов уделяется фуллеренам. Фуллерены, благодаря своей уникальной пространственной и электронной структуре, при возбуждении квантом света с квантовым выходом  $\sim 1$  переходят в триплетное состояние и эффективно генерируют синглетный кислород либо супероксид радикалы, что вызывает повреждение ДНК, белков, мембран, и подавляет развитие опухолей. Однако эффективность фотодинамического действия фуллеренов значительно ограничивается их слабым поглощением в красной области спектра, наиболее удобной для фотодинамической терапии.

Повысить эффективность фотодинамического действия фуллеренов можно за счет создания гибридных структур (ГС) путем присоединения к водорастворимому производному фуллерена красителя, эффективно поглощающего в видимой области спектра.

Показано, что создание ковалентных или нековалентных комплексов водорастворимых производных фуллерена с традиционными фотосенсибилизаторами (хлорин. фотосенс, эозин) приводило к значительному увеличению фотодинамического эффекта (в 5 - 50 раз) при возбуждении ГС на длине волны возбуждения красителя. Образование аналогичных комплексов с красителями флуоресцеином и рубоксилом, не возбуждаемых в триплетное состояние, также приводило к увеличению фотодинамического эффекта. Методами спектрофотометрии и кинетической спектрофлуориметрии показано, что этот эффект обусловлен переносом электронного возбуждения или электрона с синглетно возбужденного красителя на фуллерен и далее на  $O_2$ , что приводит к образованию активных радикалов.

Продемонстрировано эффективное фотодинамическое действие новых комплексов фуллерен-краситель в водных растворах, по их воздействию на структуру ДНК и на опухолевые клетки.

Таким образом, впервые показано, что возможно создание высокоэффективных фотодинамических агентов нового поколения за счет объединения в одной ГС красителей, эффективно поглощающих в красной области спектра, и фуллерена, осуществляющего перевод этого возбуждения с высоким КПД в генерацию активных форм кислорода. Открывается возможность использовать для фотодинамической терапии красители, возбуждаемые как в триплетное, так и в синглетное состояние, что значительно расширяет возможности поиска оптимальных красителей для создания фотосенсибилизаторов нового поколения.

Создание подобных гибридных структур на основе фуллеренов и красителей, поглощающих в красной области спектра, может оказаться перспективным в плане создания новых эффективных фотосенсибилизаторов для применения в медицине.

## НАПРАВЛЕННАЯ ДОСТАВКА ЭМИТТЕРА ЭЛЕКТРОНОВ ОЖЕ – ИНДИЯ-111 В ЯДРА РАКОВЫХ КЛЕТОК-МИШЕНЕЙ ПРИ ПОМОЩИ МОДУЛЬНЫХ НАНОТРАНСПОРТЕРОВ

**Targeted delivery of Auger electron emitter indium-111 into nuclei of cancer target cells mediated by modular nanotransporters**

**Сластникова Т.А.1, Розенкранц А.А.1,2, Лупанова Т.Н.1, Соболев А.С. 1,2**

1 – ИБГ РАН, 119334, г. Москва, ул. Вавилова, д. 34/5

2 – биологический факультет МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12

Тел.: +7(499)135-99-02; факс: +7(499)135-41-05; e-mail: tslast@genebiology.ru

Одним из перспективных подходов противоопухолевой терапии является использование физических факторов с локальным повреждающим действием. К ним относятся, например, эмиттеры электронов Оже, характеризующиеся чрезвычайно коротким пробегом испускаемых электронов с высокой линейной передачей энергии. Подобные характеристики обеспечивают их очень высокую цитотоксичность в случае распада такого эмиттера в непосредственной близости от ядерной ДНК. Однако, эффективными такие агенты будут, лишь оказавшись в ядрах мишеных клеток. В этом случае они могут стать практически идеальным средством уничтожения единичных раковых клеток или их небольших скоплений (микрометастазы) с минимальным повреждением окружающих нормальных тканей. Для направленной доставки такого класса агентов в ядра раковых клеток-мишеней в нашей лаборатории были созданы модульные нанотранспортеры (МНТ). Функциональные модули, входящие в состав МНТ, обеспечивают последовательное взаимодействие транспортера со специфическими клеточными системами, обеспечивающими тот или иной этап внутриклеточного транспорта присоединенного к транспортеру цитотоксического агента от поверхности в ядро клетки-мишени.

Целью работы была получение МНТ с присоединенным эмиттером электронов Оже индием-111 и последующее исследование эффективности полученного препарата *in vitro* и *in vivo*. Мы использовали два типа МНТ, отличающихся специфичностью к выбранному типу раковых клеток за счет вариации лигандного модуля (эпидермальный фактор роста или альфа-меланоцитстимулирующий гормон), обеспечивающего взаимодействие МНТ с выбранными мишенными клетками (карциномы мочевого пузыря, глиомы и пр. или меланомы, соответственно). Несмотря на ограниченную растворимость МНТ в диапазоне pH, предназначенном для проведения реакции мечения (pH 4,5-5,5), мы смогли подобрать условия эффективного (95% выход) присоединения индия-111 к МНТ с высокой удельной радиоактивностью (60 мКи/мг). <sup>111</sup>In-МНТ специфически взаимодействовали с поверхностью клеток, сверхэкспрессирующими целевые рецепторы, и эффективно интернализировались. По результатам проведенного исследования цитотоксического действия на различных линиях раковых клеток в культуре (эпидермоидная карцинома, рак мочевого пузыря, глиом) показано, что эффективность цитотоксического действия индия-111, доставляемого модульным нанотранспортером, значительно возрастает по сравнению с неспецифическим контролем до значений, зависящих от количества рецепторов на поверхности клеток и типа опухоли, достигая 270 раз. Первые исследования эффективности индия-111, присоединенного к МНТ *in vivo* показали достигающее 90% торможение роста опухоли леченных животных с подкожными опухолями, по сравнению с индием-111 присоединенным к хелатору.

В целом, полученные результаты указывают на перспективность разрабатываемого подхода по доставке эмиттеров электронов Оже в ядра раковых клеток при помощи модульных нанотранспортеров.



**ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРЫ С АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТЬЮ ДЛЯ МЕДИЦИНСКОЙ ПРАКТИКИ****Photosensitizers with antimicrobial activity for medical practice*****Страховская М.Г.1,2***

1 – Биологический факультет МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12

2 – Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России, 115682, Москва, Ореховый бульвар, 28

Тел.: +7(495)939-39-68; факс: +7(495)939-11-15; e-mail: maristra@yandex.ru

Наращение устойчивости возбудителей инфекционных заболеваний к уже имеющимся препаратам и дефицит структур, которые потенциально могли бы лечь в основу новых дезинфектантов и антибиотиков, поставили на повестку дня поиск альтернативных способов борьбы с патогенами. Одной из возможных альтернатив является фотодинамическая инактивация, основанная на использовании возможностей современной фотохимии. Суть метода состоит в том, что антимикробные агенты – фотосенсибилизаторы (ФС) при воздействии видимого или инфракрасного света с длинами волн, соответствующими спектру их поглощения, генерируют образование цитотоксических активных форм кислорода и свободных радикалов, вызывающих окислительную деструкцию различных структур микробных клеток. В отличие от антибиотиков, каждый из которых специфически воздействует на определенную мишень в микробной клетке: клеточную стенку, цитоплазматическую мембрану, репликацию ДНК, транскрипцию или трансляцию белков, генерируемые ФС активные формы кислорода вызывают окислительное повреждение компонентов как липидной, так и белковой природы, а также нуклеиновых кислот. Считается, что такой множественный окислительный характер повреждений клеточных компонентов препятствует развитию микробной резистентности, в связи с чем этот метод рассматривается как перспективный способ борьбы с возбудителями заболеваний, устойчивыми к действию традиционных препаратов. В результате интенсивных исследований, проводимых в мире в течение последних 20 лет (в среднем около 200 публикаций в год только по антибактериальной активности ФС) достигнуты значительные успехи. Однако, несмотря на очевидные достижения, создание новых структур ФС для фотодинамической инактивации микроорганизмов представляет актуальную задачу. Основными направлениями оптимизации структур и свойств ФС являются улучшение фотофизических параметров и за счет этого снижение доз действующего света, создание ФС с поглощением в дальней красной или, особенно, ближней инфракрасной области, достижение высокой селективности к микробным клеткам-мишеням по отношению к нормальным тканям организма. Введение в структуру молекул ФС катионных заместителей или использование конъюгатов ФС с поликатионными структурами позволяет достичь высокой эффективности связывания молекул ФС по электростатическому механизму с отрицательно заряженной поверхностью микробных клеток, а значит, и специфичности фотодинамического воздействия. Инновационные катионные ФС из класса тетрапиррольных макроциклов (фталоцианины, хлорины и бактериохлорины) обладают высокой эффективностью и широким спектром антимикробной активности, в том числе в отношении биопленок. Внедрение фотосенсибилизаторов и технологий фотодинамической терапии и обеззараживания в медицинскую практику послужит повышению эффективности борьбы с микробной резистентностью.

## ИЗУЧЕНИЕ УФ-ИНДУЦИРОВАННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ТРИПСИНА - СВОБОДНОГО И ИММОБИЛИЗОВАННОГО НА МАТРИЦЕ КИСЛОТОРАСТВОРИМОГО ХИТОЗАНА

**Study of UV-induced changes in the structural and functional properties of trypsin - free and immobilized on a matrix of acid-soluble chitosan**

***Сазыкина С.М., Холявка М.Г., Артюхов В.Г.***

Воронежский государственный университет, 394006 Воронеж, Университетская пл. 1,  
e-mail: sazykina.93@mail.ru

УФ-излучение является постоянно действующим фактором внешней среды и оказывает мощное влияние на многие физиологические процессы, протекающие в организме. Ультрафиолетовое излучение поглощается в живых клетках в основном белками и нуклеиновыми кислотами. В белках первичной фотохимической реакцией является фотоионизация ароматических аминокислот или фотодиссоциация -S-S-связи цистина. При этом образуются свободные радикалы различных типов, запускается каскад реакций, заканчивающихся нарушением структуры и инактивацией фермента. Изучение механизма действия УФ-света на биосистемы различного уровня организации, в том числе и на белки-ферменты, является одной из центральных проблем биофизики и биохимии и позволяет выявить механизмы деструктивно-модифицирующего, лечебно-профилактического действия УФ-излучения.

Объектом исследования был выбран бычий трипсин (КФ 3.4.21.4) фирмы «MP biomedical». В качестве носителя было использовано два вида хитозана, синтезированных ЗАО «Биопрогресс»: хитозан пищевой кислоторастворимый (Mг=200 кДа, степень деацелирования — СД=82%), хитозан кислоторастворимый высокомолекулярный (Mг=350 кДа, СД=94,85%). Имобилизацию трипсина на хитозане осуществляли адсорбционным методом. УФ-облучение растворов белка проводили при их непрерывном перемешивании магнитной мешалкой в термостатируемой кювете ( $20 \pm 1^\circ\text{C}$ ) с помощью ртутно-кварцевой лампы типа ДРТ-400 через светофильтр УФС-1 с полосой пропускания 240-390 нм. Дозы облучения составляли 151, 453, 755, 1510, 3020, 4530, 6040 Дж/м<sup>2</sup>.

Установлено, что при облучении свободного фермента, начиная с дозы 1510 Дж/м<sup>2</sup>, происходило снижение его активности, которая статистически значимо уменьшалась на 28,3%, 31,7%, 43,6% при дозах 3020, 4530, 6040 Дж/м<sup>2</sup> соответственно. После иммобилизации на матрице пищевого кислоторастворимого хитозана при облучении УФ-светом происходило снижение каталитической активности энзима при дозах 3020, 4530, 6040 Дж/м<sup>2</sup>, которое составляло 2,4%, 6,3%, 10,7% соответственно. При облучении в диапазоне доз 151-4530 Дж/м<sup>2</sup> после иммобилизации на матрице кислоторастворимого высокомолекулярного хитозана фермент сохранял свою каталитическую активность на постоянно уровне, а её снижение происходило только после воздействия дозой 6040 Дж/м<sup>2</sup>.

Приведенные выше данные свидетельствуют о фотопротекторном эффекте матрицы хитозана, который может быть обусловлен следующими причинами: 1) хитозан вступает во взаимодействие с молекулой трипсина, образуя комплекс, более фоторезистентный, чем нативные молекулы белка; 2) хитозан связывает активные фотопродукты свободнорадикальной природы, предотвращая фотоокисление определенного числа аминокислот энзима при его УФ-облучении. В связи с этим работы, направленные на исследование УФ-индуцированных изменений структурно-функциональных характеристик молекул ключевых ферментов метаболизма необходимо продолжать и развивать.

**МЕЖГОДОВАЯ И СЕЗОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОЛЯ БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ И ПАРАМЕТРОВ ФИТОПЛАНКТОННОГО СООБЩЕСТВА В СВЯЗИ С ИЗМЕНЧИВОСТЬЮ ГИДРОЛОГИЧЕСКИХ ПОЛЕЙ В ПРИБРЕЖЬЕ СЕВАСТОПОЛЯ****Interannual and seasonal variability of the bioluminescence field and parameters of phytoplanktonic community in connection with the hydrological fields variability in the coastal waters near Sevastopol*****Серикова И.М.1, Токарев Ю.Н.1, Брянцева Ю.В.2, Суслин В.В.3***

1 – ФГБУН «Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского» РАН, 299011 г. Севастополь, пр.Нахимова,2;

*Тел. +7(978)768-05-49; факс: (8692)55-78-13; e-mail: irasimwin@yandex.ru*

2 – Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАНУ; 01601 г. Киев, ул. Терещенская, 2;

3 – ФГБУН «Морской гидрофизический институт» РАН, 299011 г. Севастополь, ул. Капитанская, 3;

Выявлены особенности в сезонной динамике структуры полей биолюминесценции, температуры, плотности вод, ежемесячно регистрируемых в верхнем 60-ти метровом слое на станции у берегов Севастополя в ходе шестилетнего мониторинга. Одновременно с регистрацией полей с помощью зондирующего комплекса «Сальпа-М» [1], производился отбор фитопланктонных проб 5-ти литровым батометром с горизонтов, соответствующих максимуму биолюминесценции и у поверхности. В районе мониторинга анализировались данные спутниковых наблюдений (с двух спутников Aqua и Terra) температуры поверхности моря (ТПМ), в результате обработки которых выделены года с экстремальной сезонной изменчивостью. В такие периоды происходили отклонения в сезонной динамике обилия динофитовых водорослей и перестройка в структуре фитопланктонного сообщества, вследствие чего наблюдались нарушения в сезонном ходе развития структуры поля биолюминесценции. Наиболее высокая сезонная изменчивость ТПМ, наблюдаемая в 2012 г. за счет сильного выхолаживания поверхностного слоя в зимний период и интенсивного прогрева в весенне-летний, привела к перестройке в структуре сообщества микроводорослей, а также резкому снижению уровня интенсивности биолюминесценции в первом полугодии и нарушениям развития его структуры. Повышение среднемесячных показателей ТПМ на протяжении всего 2010 года способствовало интенсивному развитию светящихся динофлагеллят и ингибированию других микроводорослей (золотистых и диатомовых), что выразилось в максимально высоком уровне интенсивности поля биолюминесценции. Показано, что максимумы развития динофлагеллят и интенсификация поля биолюминесценции в приповерхностном слое происходят синхронно в весенний и осенний периоды. По оценкам автокорреляционных функций соответствующих параметров выделены периоды, равные 6 месяцам. Таким образом, биофизический мониторинг позволяет оперативно получать информацию об особенностях пространственно-временной изменчивости фитопланктона.

1. Токарев Ю.Н., Василенко В.И., Жук В.Ф. Новый гидробиофизический комплекс для экспрессной оценки состояния прибрежных экосистем // Современные методы и средства океанологических исследований: Материалы XI Междунар. науч.-техн. конф., 25–27 нояб. 2009 г. Москва. – Ч. 3. – Изд-во РАН, 2009. – С. 23–27.

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ 3,3'-ДИ-(Г-СУЛЬФОПРОПИЛ)-5,5'-ДИФЕНИЛ-9-ЭТИЛОКСАКАРБОЦИАНИН-БЕТАИНА С СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ ЧЕЛОВЕКА

Interaction of 3,3'-di-( $\gamma$ -sulfopropyl)-5,5'-diphenyl-9-ethylloxycarbocyanine-betaine with human serum albumin

**Татиолов А.С., Пронкин П.Г.**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4  
Тел.: +7 (495) 939-71-71; факс: +7 (499) 137-41-01; e-mail: pronkinp@gmail.com

Взаимодействие анионного оксакарбоцианинового красителя 3,3'-ди-( $\gamma$ -сульфопропил)-5,5'-дифенил-9-этилоксакарбоцианин-бетаина (ОКЦ) с сывороточным альбумином человека (САЧ) было изучено спектрально-флуоресцентными методами. Существенные изменения в спектрах поглощения и флуоресценции красителя в присутствии САЧ указывают на образование стабильных нековалентных комплексов [1]. Несовпадение положений максимумов полос в спектрах поглощения и возбуждения флуоресценции для ОКЦ, связанного с САЧ, изменения ширины и структурированности полос в спектрах свидетельствуют о том, что взаимодействие с белком приводит к сдвигу изомерного равновесия красителя и появлению, наряду с комплексом транс-изомера (коротковолновая форма), длинноволнового цис-изомера красителя, связанного с САЧ. Аналогичные эффекты наблюдались для тиакарбоцианиновых красителей [2]. Взаимодействие ОКЦ с САЧ приводит также к росту флуоресценции, что позволяет рекомендовать этот краситель в качестве зонда для САЧ. При  $c_{\text{САЧ}} = 1.49 \times 10^{-5}$  моль л<sup>-1</sup> квантовый выход флуоресценции ( $\Phi_f$ ) ОКЦ достигает 0.36 (для исходного красителя  $\Phi_f \sim 0.03$ ). По уравнению Скетчарда [3] определена константа ассоциации  $K_a = 2.2 \times 10^5$  л моль<sup>-1</sup> при числе центров связывания белка в расчете на одну молекулу лиганда  $n \sim 1$ . Данные по тушению флуоресценции ибупрофеном указывают на связывание красителя в субдомене IIIA центра связывания II молекулы альбумина (к которому специфичен тушитель [4]). Изучено влияние денатурации белка под действием мочевины на взаимодействие с ОКЦ. Денатурация САЧ приводит к перестройкам комплекса, в спектрах поглощения появляются полосы длинноволновых J-агрегатов. При добавлении 3 моль л<sup>-1</sup> мочевины в раствор комплекса ОКЦ-САЧ наблюдаются J-агрегаты красителя с  $\lambda_{\text{abs.}} \sim 575$  нм (при таких условиях  $\sim 70\%$  САЧ денатурировано по домену I [5]). При 6 моль л<sup>-1</sup> мочевины появляется агрегаты второго типа с максимумом поглощения 540 нм ( $\sim 65\%$  молекул САЧ денатурировано по домену II [5]). Флуоресценция мономерного ОКЦ при этом уменьшается на 85–90%.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проекты № 13-03-00863 и 14-03-31196-мол\_a.

1. Пронкин П.Г., Татиолов А.С. / Журнал прикладной спектроскопии, 2015. Т.82. С.429–435.
2. Taticolov A.S., Costa S.M.B. / Biophys. Chem., 2004. V.107. P.33–49.
3. Scatchard G. / Ann. N.Y. Acad. Sci., 1948. V.51. P.660–672.
4. Kober A., Sjöholm I. / Mol. Pharmacol., 1980. V.18. P.421–426.
5. Leggio C., Galantini L. et al. / J. Phys. Chem. B, 2009. V.113. P.12590–12602.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОНИКИ ОКСАКАРБОЦИАНИНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ В КОМПЛЕКСАХ С ДНК****Investigation of photonics of oxacarbocyanine dyes complexed with DNA*****Татиолов А.С., Пронкин П.Г.***

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4

Тел.: +7 (495) 939-71-71; факс: +7(499)137-41-01; e-mail: pronkinp@gmail.com

Катионные оксакарбоцианиновые красители способны взаимодействовать с ДНК с образованием нековалентных комплексов [1]. В данной работе методом импульсного фотолиза изучены фотоизомеризация и обратная термическая изомеризация фотоизомера, а также спектрально-кинетические свойства триплетного состояния оксакарбоцианиновых красителей: 3,3'-диэтилоксакарбоцианин-иодида (ОК1), 3,3'-диметил-9-этилоксакарбоцианин-иодида (ОК2), 3,3',9-триэтил-5,5'-диметилоксакарбоцианин-иодида (ОК3) в растворах и в комплексах с ДНК [2]. При импульсном фотовозбуждении воздушно-насыщенных растворов ОК1–ОК3 были зарегистрированы сигналы поглощения и выцветания, вызванные процессами фотоизомеризации и темновой обратной изомеризации. Значения  $k_i$  для мезо-замещенных ОК2 и ОК3 оказались на три порядка выше ( $1.5 \times 10^4$  и  $1 \times 10^4$  с<sup>-1</sup>), чем для незамещенного ОК1. Взаимодействие с ДНК затрудняет процессы фотоизомеризации красителей, в частности, для ОК1 при сДНК =  $2.39 \times 10^{-4}$  моль л<sup>-1</sup> в 2.5 раза уменьшается интенсивность поглощения фотоизомера и в 5 раз увеличивается его время жизни [2]. Поскольку образование комплексов краситель–ДНК затрудняет процессы фотоизомеризации и колебательной дезактивации в молекулах красителей, это приводит к росту квантового выхода в триплет и дает возможность регистрировать спектры Т–Т поглощения красителей при прямом фотовозбуждении. В присутствии ДНК кинетики гибели триплетного состояния красителей являются двухэкспоненциальными:  $[3Dye^*] = A_1 \exp(-k_1 t) + A_2 \exp(-k_2 t)$ , при этом константы скорости гибели короткоживущего и долгоживущего компонентов кинетики гибели существенно различаются (для ОК3  $k_1 \sim 15000$  с<sup>-1</sup>,  $k_2 \sim 800$  с<sup>-1</sup> [2]), что может объясняться образованием двух различных типов комплексов с ДНК (в малом желобе двойной спирали ДНК и комплексов интеркаляции [3]). Константа скорости тушения триплетного состояния ОК3 кислородом существенно ниже диффузионного предела с учетом спин-статистического фактора ( $k_q O_2 \sim 10^8$  моль<sup>-1</sup> л с<sup>-1</sup> <  $1/9$   $k_{diff}$ ), что объясняется стericким фактором комплексообразования: в комплексах с ДНК доступ кислорода к лигандам затруднен, что приводит к уменьшению  $k_q O_2$  [4].

*Авторы выражают благодарность проф. Б.И. Шапиро (НЦ НИИХИМФОТОПРОЕКТ) за предоставление полиметиновых красителей.*

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проекты № 13-03-00863 и 14-03-31196-мол\_а.*

1. Пронкин П.Г., Татиолов А.С., Аниковский М.Ю., Кузьмин В.А. / Химия высоких энергий, 2005. Т.39. С.280–286.
2. Пронкин П.Г., Татиолов А.С. / Химия высоких энергий, 2015. Т.49. С.368–371.
3. Peacocke A.R., Skerrett J.N.H. / Trans. Faraday Soc., 1956. V.52. P.261–279.
4. Аниковский М.Ю., Татиолов А.С., Шведова Л.А., Кузьмин В.А. // Изв. АН. Сер. хим., 2001. №7. С.1134–1137.

## ОБРАЗОВАНИЕ ДИМЕРОВ ДИГИДРОПТЕРИНА ПРИ ФОТООКСИЛЕНИИ ТЕТРАГИДРОБИОПТЕРИНА

### The formation of H<sub>2</sub>pterin dimers during the photooxidation of H<sub>4</sub>biopterin

*Телегина Т.А. 1, Людникова Т.А. 1, Буглак А.А. 1, Вечтомова Ю.Л. 1, Бирюков М.В. 2, Дёмин В.В. 2, Крицкий М.С. 1*

1 – Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ Биотехнологии РАН, 119071, Москва, Ленинский проспект, 33, стр. 2;

2 – МГУ им. М.В.Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12

Тел.: +7(495)952-34-31; +7(495) 954-27-32; e-mail: telegina@inbi.ras.ru

(6R)-5,6,7,8-Тетрагидробиоптерин (H<sub>4</sub>Бип) является коферментом NO-синтаз, алкилглицерол-монооксигеназ и гидроксилаз ароматических аминокислот. Так, с окисления молекулярным кислородом фенилаланина до тирозина при участии H<sub>4</sub>Бип начинается процесс синтеза меланинов. С нарушениями меланогенеза связан ряд патологий, в частности, болезнь витилиго, характеризующаяся появлением депигментированных участков кожи. У пациентов с витилиго обнаружен трех-пятикратный de-novo синтез H<sub>4</sub>Бип. Его последующее окисление является одним из важнейших факторов патогенеза витилиго. В лечении витилиго используют УФ-Б (311 нм) фототерапию, однако механизм фототерапии не выяснен. В связи с этим мы исследовали фотоокисление H<sub>4</sub>Бип в буферных растворах при нейтральном рН.

Показано, что в темноте окисление H<sub>4</sub>Бип идёт с образованием 7,8-дигидробиоптерина (H<sub>2</sub>Бип), окисляющегося далее до биоптерина (Бип) и менее устойчивого 7,8-дигидроптерина (H<sub>2</sub>Птр), образующегося при элиминировании бокового заместителя в С6-положении и окисляющегося далее до дигидроксантиоптерина. Соотношение H<sub>2</sub>Бип и H<sub>2</sub>Птр определяется природой буфера. Иная картина наблюдается в случае фотоокисления. Под действием УФ (290-380 нм) облучения образующийся в темновом процессе биоптерин ( $\lambda_{\max}$  поглощения 346 нм) начинает выступать в роли фотосенсибилизатора и ускоряет окисление H<sub>4</sub>Бип. Отличительной чертой фотоокисления H<sub>4</sub>Бип является появление нового продукта с максимумом поглощения при 245 и плечом при 275 нм. Мы полагаем, что это димеры дигидроптерина (H<sub>2</sub>Птр)<sub>2</sub> и их спектральные характеристики сходны с таковыми для димеров дигидробиоптерина (H<sub>2</sub>Бип)<sub>2</sub> ( $\lambda_{\max}$  246 и плечо в области 280 нм), образующихся из H<sub>2</sub>Бип в анаэробных условиях. Установлено, что максимумы спектра действия реакции образования этих димеров находятся в области 270-280 нм и в области 320 нм, что соответствует поглощению H<sub>2</sub>Птр (275 и 325 нм). Параллельно исследовали фотоокисление H<sub>4</sub>Птр. Установлено, что скорость образования димеров в случае H<sub>4</sub>Бип была в полтора раза ниже, чем в случае H<sub>4</sub>Птр. Далее сравнивали полученные облучением при 320 нм продукты фотоокисления H<sub>4</sub>Бип и H<sub>4</sub>Птр методом ВЭЖХ (колонок С18, рН 7). В обоих случаях получили пик димера дигидроптерина (H<sub>2</sub>Птр)<sub>2</sub> со временем удерживания 3,8 мин и в случае фотоокисления H<sub>4</sub>Бип ещё дополнительно два минорных пика димера дигидробиоптерина (H<sub>2</sub>Бип)<sub>2</sub>. Преимущественное образование димеров дигидроптерина (H<sub>2</sub>Птр)<sub>2</sub> при фотоокислении H<sub>4</sub>Бип окончательно установлено хроматомасс-спектрометрически методом ионизации электроспрея (ESI<sup>+</sup>). Получен сигнал с отношением  $m/z = 331$  Да молекулярного иона димера (H<sub>2</sub>Птр)<sub>2</sub> в виде  $[M+H]^+$ . Молекулярный ион (H<sub>2</sub>Бип)<sub>2</sub> ( $m/z = 479$  Да) также обнаружен, но в значительно меньших количествах. Димеризация дигидроптерина происходит, очевидно, в фотореакции [2+2]-циклоприсоединения, в результате образуются, по видимому, азициклобутановые димеры, которые по нашим расчётам на 63 ккал/моль стабильнее, чем циклобутановые димеры. Полученные данные обсуждены в контексте УФ-Б фототерапии витилиго.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИОЛОГО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ ГЕЛИЙ-НЕОНОВОГО ЛАЗЕРА****The study physiological and morphological features wheat under helium-neon laser**

**Тулеханов С.Т.1, Абуль-Сауд Абделгафар Мохамед 2, Шаповалов Ю.А.1, Аблайханова Н.Т.1, Тусупбекова Г.А.1, Швецова Е.В.1, Кулбаева М.С.1**

1 – Казахский национальный университет имени аль-Фараби, 050040, Алматы, Казахстан, пр.аль-Фараби 71

2 – университет Суэцкого канала, Александрия, Египет.

Тел.: +7(727)377-36-06; +7(727)360-84-72; e-mail: Sultan.Tuleuhanov@kaznu.kz

Целью работы явилось установление особенностей морфологических, анатомических, физиологических, биохимических, биофизических и биометрических показателей семян и растений четырех сортов мягкой пшеницы до и после воздействия гелий-неоновым лазером.

Объектом исследования служили четыре сорта мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.): «Аксай», «Эритроспермум -350», «Казахстанская -10», произрастающие в Казахстане и «Саха -168», произрастающая в Египте.

Семена разных сортов пшеницы облучали лазерным лучом в непрерывном режиме при комнатной температуре с экспозицией 1, 3, 10, 30 секунд, 1, 3, 10, 20, и 30 минут. Контролем служили необлученные семена.

Для анатомических и морфологических исследований применялись общепринятые методики приготовления тонких срезов на микротоме. Срезы исследовали и фотографировали с помощью микроскопа Axioskop FL- 40. Энергию прорастания семян определяли по специальной формуле (Ciurak et al., 2007). Содержание перекиси водорода и уровня липидов определяли при помощи ультрафиолетового 160-UV-VIS-спектрофотометра. Содержание супероксиддисмутазы определяли фотохимическими методами. Статистические исследования были выполнены с использованием пакета статистических программ (SPSS Inc, версия 15,00) и программой Microsoft Excel professional, 2007 (Landau and Everitt, 2004).

Установлено, что обработка низкими экспозициями гелий-неонового лазерного облучения увеличивает процент прорастания семян пшеница, особенно после 1,3, 60 и 600 сек облучения, в то время как облучение в течение 10, 180, 1200 и 1800 секунд уменьшало процент прорастания всех исследованных сортов пшеницы. Максимальный относительный коэффициент прорастания 1,62 был зарегистрирован у сорта «Эритроспермум -350» через 72 часа после высева в гидрогель, а минимальный  $W_k(0,33)$  был зарегистрирован у египетского сорта «Саха -168». Длина побегов всех четырех сортов и распределение биомассы дали позитивный ответ на увеличение экспозиции.

Таким образом, исследование влияния облучения семян лазерным лучом с длиной волны 632,8 нм, мощностью потока 10 мВт/см<sup>2</sup> при длительности экспозиции 1-1800 секунд позволило впервые на культуре мягкой пшеницы установить зависимость эффекта действия от экспозиции облучения и сорта пшеницы. Установлены оптимальные экспозиции лазерного облучения, повышающие прорастания семян на 100% (1, 3, 30, 260 и 120 секунд), ускоряющие темпы роста и стимулирующие биохимические показания. Сравнительный анализ физиолого-биохимических, биофизических и морфо- анатомических особенностей данных групп пшеницы на воздействие лазерного излучения при длительности экспозиции 1-1800 секунд позволило установить, что лазерное излучение обладает стимулирующим эффектом и степень активации зависит от экспозиции облучения и сорта пшеницы. Выявлено, что египетский сорт пшеницы «Саха -168» в отличие от казахстанских сортов пшеницы «Аксай», «Эритроспермум -350», «Казахстанская -10», не обладает видимой реакцией на малые экспозиции облучения лазером.

## БИОАНАЛИТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО РЕЗОНАНСНОГО ПЕРЕНОСА ЭНЕРГИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛЮЦИФЕРАЗЫ СВЕТЛЯКОВ

### Bioanalytical systems based on bioluminescence resonance energy transfer using firefly luciferase

**Угарова Н.Н., Смирнова Д.В.**

Химический факультет МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 3

E-mail: [nugarova@gmail.com](mailto:nugarova@gmail.com)

Резонансный перенос энергии (RET) - это безызлучательный перенос энергии от донора к акцептору, наблюдаемый при их сближении на расстояние менее 20 нм. Для реализации RET необходимо перекрытие спектра эмиссии донора со спектром поглощения акцептора, высокий квантовый выход флуоресценции акцептора, а ориентация диполей донора и акцептора не должна составлять угол 90°. Если в качестве донора выступает биолюминесцентный фермент (люцифераза), то резонансный перенос называют биолюминесцентным (BRET). Биоаналитические системы на основе BRET широко используются в фундаментальных биохимических исследованиях, для скрининга и анализа физиологически активных веществ [1]. Чаще всего в качестве донора используется *Renilla* люцифераза, а в качестве акцепторов - флуоресцентные белки. Несмотря на неослабевающий интерес к *Renilla* люциферазе, этот фермент обладает рядом недостатков: низкий квантовый выход биолюминесценции, нестабильное во времени свечение;  $\lambda_{\max}$  спектра биолюминесценции наблюдается в зеленой области спектра. Из-за низкой проникающей способности зеленого света и заметного уровня автофлуоресценции клеток и тканей затрудняется регистрация сигнала при работе *in vivo*.

Люциферазы светляков обладают важными преимуществами по сравнению с *Renilla* люциферазой. Они имеют наиболее высокий квантовый выход свечения среди всех известных биолюминесцентных систем. Получено большое количество мутантных высокоактивных и стабильных люцифераз светляков с  $\lambda_{\max}$  биолюминесценции от 540 до 630 нм [2]. Наконец, фермент легко и в больших количествах экспрессируется в клетках *E. coli*. Люциферазы светляков имеют большие перспективы для их использования в BRET системах, хотя количество работ по их использованию в BRET системах пока невелико.

В докладе рассмотрены литературные данные и результаты наших работ по созданию различных вариантов BRET систем на основе люцифераз светляков с использованием в качестве акцепторов красного флуоресцентного белка ( $\lambda_{\max,ex} = 558$  нм,  $\lambda_{\max,em} = 583$  нм), разнообразных красителей, квантовых точек. Описаны методы повышения эффективности BRET-систем путем модификации либо люциферазы, либо акцептора. Приведены примеры использования BRET систем на основе люцифераз для анализа межбелковых взаимодействий. При введении специфических сайтов узнавания протеаз между донором и акцептором BRET были получены высокочувствительные сенсоры для определения активности протеаз в биологических жидкостях [3].

Одним из перспективных и малоизученных направлений использования BRET является гомогенный ИФА. На основе BRET-системы: люцифераза светляков – краситель, конъюгированные с антигеном и антителами, соответственно, разработаны высокочувствительные методы гомогенного анализа низко- и высокомолекулярных антигенов, которые по скорости и простоте выполнения превосходят традиционные методы гетерогенного иммуноанализа [4].

1. Bacart J., Corbel C. et al.,/Biotechnol. J., 2008, V.3. P.311-324.
2. Ugarova N. Koksharov M./ In: Genetic Engineering – Basics, New Applications and Responsibilities. H. A. Barrera-Saldana, Ed., InTech: Croatia, 2011; P. 62-92.
3. Branchini B., Rosenberg J. et al,/ Anal. Biochem., 2011, V.414, P.239-245.
4. Smirnova D., Samsonova J. et. al./ Luminescence, 2014, V.29 (Suppl.1), P. 94-96.



**ВЛИЯНИЕ УФ-ИЗЛУЧЕНИЯ НА СТРУКТУРНЫЕ БЕЛКИ ВОЛОСА ЧЕЛОВЕКА****Федоркова М.В.1, Брандт Н.Н. 2, Смолина Н.В.1, Липатова В.А.3, Ботчей В.М.5****Балабушевич Н.Г.4, Михальчик Е.В.1, Чикишев А.Ю.2**

1 – ФГБУН Научно-исследовательский институт физико-химической медицины ФМБА России;

2 – Физический факультет и Международный учебно-научный лазерный центр МГУ;

3 – Кафедра морфологии МБФ, ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова;

4 – Химический факультет, Кафедра химической энзимологии, МГУ имени М.В.Ломоносова;

5 – Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии РУДН Москва

e-mail: furba07@mail.ru

Под действием солнечного света (главным образом, ультрафиолета В) волос теряет блеск и механическую прочность. Основными мишенями УФ излучения в кератинах волоса являются ароматические аминокислоты и цистин. Цистин участвует в образовании межбелковых и внутрибелковых дисульфидных связей, и в результате его разрушения в стержне волоса возрастает количество слабосвязанных белков, растворимых в водной среде [1]. Потенциальным маркером фотодеградации цистина может быть изменение содержания тиолов в белках волоса.

Целью работы является оценка влияния УФ излучения на структуру волоса и содержание тиолов в его стержне. Объектом исследования служат седые волосы диаметром ~50 мкм из теменной зоны здоровых добровольцев. Облучение волос проводится с помощью ртутной лампы Medicor в течение 6 часов. В зоне облучения интенсивность линии лампы на длине волны 254 нм составляет ~25 мкВт/см<sup>2</sup>.

Часть необлучённых (контрольных) и облучённых образцов гомогенизируется в фосфатном буфере с последующим центрифугированием, в результате чего получается фракция слабосвязанных белков, которая анализируется методами спектрофотометрии и гель-фильтрации. Оставшиеся стержни волос используются для получения полутонких срезов с окраской по методу Май-Грюнвальда и Романовского-Гимза и для конфокальной КР спектроскопии поперечных срезов волос. Измерения КР спектров проводились на конфокальном КР микроскопе Thermo Scientific Raman DXR, а их обработка осуществлялась с использованием алгоритмов, описанных в работах [2, 3].

По данным гистохимического анализа толщина прокрашиваемого слоя составляет  $0,8 \pm 0,6$  мкм в контрольных и  $1,8 \pm 0,4$  мкм в облучённых образцах ( $p < 0,05$ ). Анализ КР спектров показал, что в облучённых образцах, в отличие от необлучённых, содержание S-S связей на периферии (вблизи кутикулы) меньше, чем в центре (вблизи мозгового вещества). Интенсивность линий C-S и S-H связей в результате облучения уменьшается и увеличивается, соответственно, в обеих зонах. Оценка содержания SH-групп во фракциях слабосвязанных белков, полученных с помощью гель-фильтрации, также выявила рост содержания SH-групп в белках облучённых волос.

Таким образом, показано, что под действием УФ излучения увеличивается содержание SH-групп в корковом веществе волоса, в том числе, во фракции слабосвязанных белков. Химическое изменение кератинов волоса сопровождается увеличением глубины слоя, проницаемого для красителей.

*Работа выполнена с использованием оборудования, приобретённого за счёт средств Программы развития Московского университета.*

1. M.V. Fedorkova, et al. Effects of ultra violet radiation on the soluble proteins of human hair. J. of Photochem. and Photobiol. B: Biology, 2014, v. 140, pp. 390–395.
2. N.N. Brandt, et al. Optimization of the Rolling-Circle Filter for Raman Background Subtraction / Appl. Spectr., 2006, v.60, no.3, pp.288-293.
3. N.N. Brandt, A.Yu. Chikishev, A Method of Comparing Raman spectra, Laser Physics, 2004, v.14, no.11, pp.1386-1392.

## НИЗКОИНТЕНСИВНОЕ ТЕРАГЕРЦОВОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ: ОБЗОР БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ

### Biological effects of low-intensity terahertz radiation

**Федоров В.И.**

Институт лазерной физики СО РАН, 630090, Новосибирск, пр-т академика Лаврентьева, 13/3.

Тел.: +7(383)330-00-92; факс: + 7(383)330-52-18; e-mail: vif41@mail.ru

Терагерцовый диапазон (0,1..10 ТГц) характеризуется наличием собственных частот колебательно-вращательных переходов воды, вращательных переходов малых молекул, колебательных переходов водородных связей и групп атомов больших полимерных молекул, собственных частот коллективных колебательных переходов, что вкупе с модами водородных связей обуславливает межмолекулярные взаимодействия. От всех этих факторов зависит определённое конформационное состояние биомолекулы, которое определяет как её биологическую активность, так и выраженность межмолекулярных взаимодействий. Энергия фотона в терагерцовом диапазоне составляет  $2 \cdot 10^{-22}$ – $1.3 \cdot 10^{-20}$  Дж. Исследования биологических эффектов терагерцового излучения проводят при плотности мощности 60 мкВт/см<sup>2</sup> ... 80 мВт/см<sup>2</sup>.

Терагерцовое излучение инициирует конформационные переходы в молекулах биополимеров (белки, ДНК). В молекуле белка переходу подвержены пептидные и дисульфидные связи. Терагерцовое излучение уменьшает прочность координатных связей в молекулах сложных белков, специфическую активность ферментов, связывающую способность транспортных белков, степень комплексования антитела с антигеном.

Откликом на терагерцовое излучение на клеточном уровне является изменение проницаемости цитоплазматической мембраны и экспрессии некоторых генов. Повышение проницаемости клеточной мембраны сопровождается проникновением в клетку веществ, для которых интактная мембрана не проницаема. Наблюдается дозо-зависимое падение мембранного потенциала, морфологические нарушения мембранных и внутриклеточных структур, вплоть до нарушения целостности мембраны и гибели клеток. Терагерцовое излучение оказывает разнонаправленные влияния на клетки: у одной части облученных клеток происходит ухудшение функционального состояния, у другой – усиление активности. Реакция клеток на облучение зависит от их исходного состояния и стадии биологического процесса.

Излучение влияет на генетический полиформизм микроорганизмов и растений, вызывая индуцирование мутаций. Излучение вызывает фенотипические изменения у дрозофил, проявление которых носит у разных особей противоположную направленность. Излучение снижает частоту как спонтанных, так и индуцированных соматических мутаций у личинок дрозофил, влияет на продолжительность жизни родительских пар и потомков облученных матерей, на выживаемость и соотношение полов у потомков облученных матерей. Излучение стимулирует процесс заживления костного дефекта и повышает активность иммунной системы у крыс, а также вызывает чувство тревоги у лабораторных мышей.

Автор предполагает, что обнаруженные эффекты имеют не прямой характер, а являются отражением некоторых молекулярных и межмолекулярных мембранных и внутриклеточных процессов, развитие которых инициировано терагерцовым излучением. Этот каскад реакций может менять и активность генов. Всё это будет порождать различные внутриклеточные и межклеточные реакции, которые, в конечном счёте, интегрируются в каскад биохимических и физиологических откликов на уровне целого организма. Классическая физика не может предложить ничего для объяснения механизмов вышеописанных феноменов, кроме теплового. Показано, что большинство изученных феноменов носит нетепловой характер. Физики начинают признавать, что «существуют и иные ещё не познанные механизмы, приводящие к разнообразным биологическим эффектам».

**ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЙ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ НОВЫХ НАНОРАЗМЕРНЫХ ПЛЕНОК ZnO:SiO<sub>2</sub> ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С КОМПЛЕКСАМИ ДНК И КРИСТАЛЛИТОВ СОЕДИНЕНИЙ РЕДКОЗЕМЕЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ПОВЕРХНОСТЕЙ БИОСЕНСОРОВ.**

**The study of changes in UV luminescence of new nanoscale films of ZnO:SiO<sub>2</sub> in the interaction with DNA complexes crystallites compounds of rare-earth elements to create sensitive surfaces of biosensors**

***Чудинова Г.К.1,2, Бутусов Л.А.3, Наговицын И.А.1,4, Мошников В.А.5, Кононова И.Е.5, Курилкин В.В.3,***

1 – Центр естественно-научных исследований Института общей физики РАН, 119991, ГСП-1, Москва, ул. Вавилова, 38, корп. 5;

2 – НИЯУ МИФИ, 115409, Москва, Каширское ш., 31;

3 – РУДН, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6;

4 – ИХФ РАН, 119991, Москва, ул. Косыгина, 4;

5 – СПбГЭТУ «ЛЭТИ», 197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 5;

*Тел.: +7(499)503-81-77; e-mail: galkon@list.ru*

Изучено изменение ультрафиолетовой люминесценции (УФЛ) ( $\lambda_{em} = 364$  нм) новых гибридных поверхностей ZnO:SiO<sub>2</sub>, структурированных на наноуровне, при взаимодействии со впервые полученными бионанокompозитными материалами. Последние получали при обработке ультразвуком (40 мин, 42 кГц) раствора ДНК из тимуса теленка (Sigma) и навески одного из соединений: YErVO<sub>4</sub>, YOS<sub>2</sub>, YWO<sub>4</sub>, YMoO<sub>4</sub> в массовых соотношениях 1:1. Взвеси бионанокompозитных материалов (при тщательном перемешивании и последовательном разбавлении до 10<sup>-6</sup>-10<sup>-16</sup> мг/мл ДНК) наносили на ZnO:SiO<sub>2</sub>-поверхности методом спинкоатинга на установке, собранной в лаборатории на основе центрифуги «Элекон» [1]. Спектрально-люминесцентные свойства исследовали с помощью спектрофлуориметра Shimadzu RF-5300pc. Зависимости интенсивности УФЛ от концентрации бионанокompозитного материала в растворе, используемом для приготовления пленки, во всех случаях нелинейны. При  $\lambda_{em} = 260$  нм (максимум поглощения ДНК) наблюдали 10-15 % тушение УФЛ для всех соединений РЗЭ. При  $\lambda_{em} = 330$  нм максимальное тушение УФЛ наблюдали при формировании на ZnO:SiO<sub>2</sub> поверхности пленки ДНК-YMoO<sub>4</sub> в интервале концентраций ДНК 10<sup>-10</sup>-10<sup>-16</sup> мг/мл (32-21%). При низких концентрациях бионанокompозита (10<sup>-10</sup> -10<sup>-16</sup> мг/мл) наблюдали возгорание УФЛ ( $\lambda_{ex} = 330$  нм): для YErVO<sub>4</sub> - 30%, для YOS<sub>2</sub> - 3%; наблюдали тушение для YWO<sub>4</sub> на 12 % и 15 % для YMoO<sub>4</sub>. Монотонные зависимости УФЛ от концентрации ДНК в интервале концентраций 10<sup>-8</sup> – 10<sup>-16</sup> мг/мл позволяют предложить данные системы в качестве биосенсорных для определения низких концентраций ДНК.

1. Чудинова Г.К., Наговицын И.А. и др. / ДАН. 2014, Т.456(2), С.174-176

## **УЧАСТИЕ ПРОЦЕССОВ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК И ДЕАЦЕТИЛИРОВАНИЯ ГИСТОНОВ В РЕАКЦИЯХ НЕЙРОНОВ И ГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК РАКА НА ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ**

### **Involvement of DNA methylation and histone deacetylation in responses of neurons and glial cells to photodynamic impact**

***Шарифулина С.А., Узденский А.Б.***

Академия биологии и биотехнологии Южного федерального университета, 344090, Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1

Тел.: +7(863)-243-31-11; e-mail: auzd@yandex.ru

Фотодинамическая (ФД) терапия основана на фотоиндуцированной генерации синглетного кислорода, последующем окислительном стрессе и смерти окрашенных фотосенсибилизатором клеток, при световом воздействии в присутствии кислорода. ФД эффект используется для разрушения опухолей мозга. Но фотоповреждение окружающих нормальных клеток может привести к нежелательным побочным эффектам. Роль эпигенетических процессов в реакциях нервной ткани на ФД воздействие пока не изучена.

Мы исследовали роль метилирования ДНК и деацетилирования гистонов в ФД-индуцированной инактивации и гибели нейронов и глиальных клеток в изолированном механорецепторе речного рака с помощью ингибиторов ДНК-метилтрансфераз 5-азациитидина и 5-аза-2'-деоксцитидина (децитабин); а также ингибиторов гистондеацетилаз вальпроата натрия (VPA), трихостатина А (TSA) и субергидроксамовой кислоты (SBHA). Фотосенсибилизатором служил сульфированный алюмофталоцианин фотосенс, источником света – полупроводниковый лазер (670 нм, 4 Вт/см<sup>2</sup>).

Ингибирование ДНК-метилтрансфераз 5-азациитидином и децитабином достоверно снижало уровни ФД-индуцированного некроза клеток глии, но не нейронов, в 1,4 и 2,0 раза. Это говорит об участии ДНК-метилтрансфераз и, соответственно, метилирования ДНК в ФД-индуцированном некрозе глии. Известно, что деметилирование ДНК активирует экспрессию молчащих генов через деконденсацию хроматина, что позволяет факторам транскрипции связываться с ДНК промоторами и активировать экспрессию генов. Метилирование ДНК, наоборот, подавляет процессы транскрипции и экспрессии генов.

Ингибирование гистондеацетилаз посредством VPA, TSA и SBHA не влияло на некроз нейронов и глии и апоптоз глиальных клеток в темноте, также на уровень ФД-индуцированного некроза нейрона. Однако оно достоверно снижало уровень некроза фотосенсибилизированных глиальных клеток. Оно также защищало глиальные клетки от ФД-индуцированного апоптоза, снижая его уровень более чем в два раза. Следовательно, деацетилирование ДНК участвует в ФД-индуцированном некрозе и апоптозе глиальных клеток, но не нейронов. Как известно, ацетилирование гистонов способствует разрыхлению хроматина и повышает доступность ДНК для факторов транскрипции и РНК полимераз. Деацетилирование гистонов, наоборот, снижает транскрипционную активность и экспрессию генов. Ингибиторы гистондеацетилаз VPA, TSA, SBHA также демонстрируют нейропротекторные свойства при нейродегенеративных заболеваниях. Нечувствительность механорецепторных нейронов рака к ингибированию метилирования ДНК и деацетилирования гистонов, возможно, свидетельствует о незначительной роли эпигенетических процессов в регуляции их выживания. Можно предположить, что некроз этих нейронов, в отличие от глии, не регулируется эпигенетически. Таким образом, с помощью изученных ингибиторов можно избирательно защищать глиальные клетки от окислительного повреждения.

*Работа поддержана грантами РФФИ № 11-04-01476 и 14-15-00741 и Минобразования России «Организация проведения научных исследований» № 790.*

**УЧАСТИЕ БЕЛКА p53 В СМЕРТИ НЕЙРОНОВ И ГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК, ВЫЗВАННОЙ АКСОТОМИЕЙ И ФОТОДИНАМИЧЕСКИМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ****Involvement of p53 in death of neurons and glial cells induced by axotomy and photodynamic treatment*****Шарифулина С.А., Рудковский М.В., Узденский А.Б.***

Академия биологии и биотехнологии Южного федерального университета, Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1

Тел.: +7(863)-243-31-11; e-mail: auzd@yandex.ru

Фотодинамический (ФД) эффект, повреждение окрашенных клеток при действии света в присутствии кислорода, применяется для разрушения опухолей. Но при его использовании в нейроонкологии также повреждаются окружающие нормальные нейроны и глиальные клетки. Поэтому надо тщательно изучить механизмы влияния ФД воздействия на здоровую нервную ткань. Белок p53 - ключевой регулятор ряда основных клеточных функций, таких как ответная реакция на стрессовое воздействие, репарация ДНК и смерть клетки. Мы исследовали роль p53 в ФД-индуцированной смерти нейронов и клеток глии в простом нейроглиальном препарате - изолированном рецепторе растяжения рака, состоящем из одиночного механорецепторного нейрона, окруженного сателлитными глиальными клетками. Использовались ингибитор p53 пифитрин- $\alpha$  и активаторы p53: нутлин-3, WR-1065, RITA и теновин-1. После 30-минутной инкубации препарата в темноте с фотосенсибилизатором фотосенсом и модулятором активности p53 препараты облучались полупроводниковым лазером (670 нм, 0,3 Вт/см<sup>2</sup>). Визуализация некроза и апоптоза нейронов и глиальных клеток проводилась через 8 часов после облучения с помощью двойного флуорохромирования пропидиум-йодидом, проникающим только в некротические клетки с поврежденной мембраной, и Hoechst-33342, визуализирующим ядерный хроматин и выявляющим апоптозные клетки с фрагментированными ядрами.

В темновых условиях активация p53 теновином-1, нутлином-3 или WR-1065 индуцировала апоптоз глиальных клеток, в то время как ингибитор p53 пифитрин- $\alpha$  достоверно снижал уровень апоптоза глии. Следовательно, p53 участвовал в вызванном аксотомией апоптозе глиальных клеток, удаленных от места повреждения аксона.

При фотодинамическом воздействии активация p53 с помощью теновина-1, RITA, или нутлина-3 повышала уровень ФД-индуцированного апоптоза глии. Следовательно, p53 также участвовал в ФД-индуцированном апоптозе глиальных клеток. Теновин-1, в отличие от других активаторов p53 и от его действия в темноте, снижал ФД-индуцированный некроз нейронов и глиальных клеток. Видимо, антинекротическая активность теновина-1 была p53-независимым эффектом. Итак, p53 участвовал в апоптозе глиальных клеток рака, вызванном аксотомией и фотодинамическим воздействием.

*Работа поддержана грантами РФФИ № 11-04-01476 и 14-15-00741 и Минобразования России «Организация проведения научных исследований» № 790.*

## НОВЫЕ ТЕРАНОСТИЧЕСКИЕ АГЕНТЫ НА ОСНОВЕ ТЕТРААРИЛТЕТРАЦИАНОПОРФИРАЗИНОВ ДЛЯ ЗАДАЧ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

### Novel porphyrazine based theranostic agents for photodynamic therapy

Шилягина Н.Ю.1, Воловецкий А.Б.1, Пескова Н.Н.1, Лермонтова С.А.2, Якиманский А.В.3, Гамаюнов С.В.1,4, Клапшина Л.Г.1,2, Балалаева И.В.1

1 – Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23;

2 – Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, 603137, Нижний Новгород, ул. Тропинина, 49

3 – Институт высокомолекулярных соединений РАН, 199004, г. Санкт-Петербург, В. О. Большой пр. 31

4 – ГБУЗ НО «Нижегородский областной клинический онкологический диспансер», 603126, Нижний Новгород, ул. Родионова, 190;

Тел.: +7(831)462-32-13; факс: +7(831)462-32-02; e-mail: nat-lekanova@yandex.ru

В настоящее время в мире ведется активный поиск новых фотосенсибилизаторов с целью повышения эффективности флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии. Особой актуальностью обладает вопрос об индивидуализации параметров воздействия и возможности раннего контроля эффективности проведенной терапии.

В сообщении рассматривается возможность использования тетраарилтетрацианопорфиразинов в качестве тераностических агентов для задач фотодинамической терапии.

Синтезирована серия тетраарилтетрацианопорфиразинов с различными боковыми заместителями в периферийном окружении макроцикла. Показано, что тетраарилтетрацианопорфиразины обладают высоким коэффициентом поглощения и флуоресценцией в красной области спектра, а также что их флуоресцентные свойства (квантовый выход и время жизни возбужденного состояния) существенно зависят от вязкости среды, что объясняется принадлежностью этих соединений к классу флуоресцентных молекулярных роторов. Гидрофобность исследуемых соединений обуславливает необходимость их перевода в гидрофильную форму. С этой целью осуществлено включение тетраарилтетрацианопорфиразинов в состав различных полимерных наночастиц и произведен сравнительный анализ фотобиологических свойств полученных наночастиц. Зарегистрировано накопление тетраарилтетрацианопорфиразинов в окооядерной области клетки и ядерной оболочке. Показано, что тетраарилтетрацианопорфиразины способны генерировать синглетный кислород и обладают выраженным фотодинамическим эффектом в отношении опухолевых клеток в культуре, сравнимым с фотодинамическим эффектом клинически одобренных препаратов. В экспериментах *in vivo* показано, что исследуемые соединения характеризуются высокой селективностью накопления в опухоли, а также вызывают фотодинамический эффект в ответ на локальное световое воздействие. Показана возможность использования тетраарилтетрацианопорфиразинов для контроля проведения процесса ФДТ по изменению времени жизни их возбужденного состояния, связанному с изменением локальной внутриклеточной вязкости, в экспериментах на животных-опухоленосителях *in vivo*.

Проведенные исследования позволяют сделать вывод, что тетраарилтетрацианопорфиразины являются перспективными тераностическими агентами, обеспечивающими визуализацию опухоли, терапевтическое воздействие и мониторинг эффективности фотодинамической терапии в режиме реального времени.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (проект № 14.Z50.31.0022) и РФФИ (проекты 13-04-40228-Н, 14-03-31130, 14-02-00753).*

# **Медицинская биофизика**

## **ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ ПЛАЗМЫ КРОВИ КРЫС В СИСТЕМЕ ГЕМОГЛОБИН-Н<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – ЛЮМИНОЛ ПРИ ТРАВМЕ ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОГО АППАРАТА В УСЛОВИЯХ МЕТИОНИН ИНДУЦИРОВАННОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ**

**Chemiluminescent assay of rat plasma in the system of Hb-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – luminol with trauma musculo-skeletal system in the methionine induced hyperhomocysteinemia**

**Аллилуев И.А.1, Вечканов Е.М.1, Сорокина И.А.1, Березовский Д.П.2, Внуков В.В.1**

1 – Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского ЮФУ, 344000, Ростов-на-Дону, 2 – ГБОУ ВПО Ростовский государственный медицинский университет, г. Ростов-на-Дону, Россия, 344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29  
Тел.: +79281027441; e-mail: emvechkanov@sfedu.ru

Лидирующее значение среди патологий сердечно-сосудистой системы составляют венозные тромбозы и тромбоэмболии артерий, приводящих к тяжёлой инвалидизации или летальному исходу. Проведение оперативного вмешательства или получения травмы, сопряжённой с нарушением целостности костей, многократно повышает риск развития тромбоза. Независимым фактором в возникновении внутрисосудистого тромбоза является гипергомоцистеинемия (ГГЦ), запускающая механизмы окислительного стресса и дисфункции эндотелия. Является актуальным исследование свободно-радикальных процессов, протекающих в организме, в условиях ГГЦ при травме опорно-двигательного аппарата.

Эксперименты проводились на 64 белых крысах-самцах массой 250–300 г в возрасте 6 месяцев с учетом этических принципов экспериментирования на животных моделях. Хемилюминесцентный анализ проводили на хемилюминометре Lum-5773 (Россия) в системе гемоглобин-Н<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-люминол [1]. Измерение интенсивности хемилюминесценции осуществляли по следующим параметрам: амплитуда хемилюминесценции, латентный период, светосумма. Индукцию ГГЦ у крыс осуществляли путем ежедневного введения 1% раствора метионина в дистиллированной воде из расчета 0,12 г метионина в сутки на крысу [2]. С целью формирования однотипных закрытых переломов костей голени спустя две недели от момента начала эксперимента под наркозом производилась травматизация задней конечности крысы. Животные были рандомизированы в 4 группы: I группа (n=8) – контроль; II группа (n=24) – опытная, животным формировали закрытый перелом костей голени и выводили из эксперимента через 3, 7, и 14 дней; III группа (n=8) – опытная, животным в течение семи недель ежедневно вводили метионин после чего выводили из эксперимента; IV группа (n=24) – опытная, животным в течение шести недель ежедневно вводили метионин, затем формировали закрытый перелом костей голени, продолжая вводить метионин, и выводили из эксперимента через 3, 7, и 14 дней.

Люминол-зависимая хемилюминесценция вызывается окислением люминола активными формами кислорода, азота и хлора, а также окисленной формой металлов переменной валентности и взаимодействием окисленных форм люминола с супероксидным радикалом или пероксидом водорода. В эксперименте была показана умеренная активность показателей хемилюминесценции у животных в условиях травмы и сочетанной травмы на фоне ГГЦ, что указывает на повышенный уровень гидроперекисей липидов (LOOH) и максимальную интенсивность свободно-радикального окисления.

1. Тесёлкин Ю.О., Бабенкова И.В., Любичкий О.Б., Клебанов Г.И., Владимиров Ю.А. Определение антиоксидантной активности плазмы крови с помощью системы гемоглобин – пероксид водорода – люминол. // Вопросы медицинской химии. 1998, Т. 44, №1, С. 70-76.
2. Sanjana Dayal and Steven R. Lentz. Murine Models of Hyperhomocysteinemia and their Vascular Phenotypes //Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2008 September; 28(9): 1596–1605.



**НЕИНВАЗИВНОЕ ИЗМЕРЕНИЕ ЗВУКОВЫХ ПОЛЕЙ, ВОЗНИКАЮЩИХ В УТРОБЕ МАТЕРИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ВНЕШНИХ ЗВУКОВ И ПРИ ПРОВЕДЕНИИ УЗИ****Noninvasive measurement of acoustic field inside mother's uterus produced by external sounds and generated by ultrasound scanning****Антонец В.А. 1,2, Казаков В.В. 1,2**

1 – Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

2 – Институт прикладной физики РАН, 603950, г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46  
Тел.: +7(831)436-56-60; e-mail: E-mail: antonetsva@gmail.com, kazak@appl.sci-nnov.ru

В предлагаемой работе обоснован неинвазивный метод оценки характеристик акустических полей слышимого диапазона, возникающих в утробе матери при действии ее голоса, внешних звуков и вибраций, а также генерируемых вследствие нелинейных эффектов самодетектирования модулированных ультразвуковых волн при проведении ультразвуковых диагностических исследований (УЗИ). Актуальность проблемы обусловлена тем, что в последнее время активно развиваются методы доставки в утробу внешних звуков – музыки, голосов сторонних людей, записей голоса матери и др., осуществляемые с целью психологической и когнитивной поддержки пре- и постнатального развития ребенка, для которого необходима практика восприятия звуков еще на внутриутробной стадии. При этом параметры звуковых сигналов не измеряют и не нормируют, что может быть опасным для плода, а также затрудняет реальную оценку их влияния на развитие ребенка. Создание методов контроля уровня звукового давления, возникающего в утробе, актуально также в связи с проблемой обеспечения медицинской безопасности при проведении УЗИ [1]. Для неинвазивной регистрации звуков, проникающего в утробу матери извне (из воздушной среды), а также звуков, генерируемых при УЗИ, нами разработан фонорегистратор (ФР), представляющий собой небольшую заполненную водоподобной жидкостью мягкую оболочку, внутрь которой помещен гидрофон. В [2] было показано, что если ФР разместить на поверхности заполненной водой мягкой оболочки, имеющий размер близкий к размеру утробы, то для частот ниже 1 кГц регистрируемое ФР давление хорошо совпадает с давлением, регистрируемым гидрофоном, помещенным непосредственно в заполненную водой мягкую оболочку, так как длина звуковой волны больше размеров утробы, и звуковое поле близко к пространственно однородному. Таким образом, внешнее звуковое поле из воздушной среды проникает в утробу практически беспрепятственно. При оценке звукового поля, возникающего в утробе при проведении УЗИ нами также использован ФР [3]. Однако, частоты модуляции ультразвуковых посылок сканера в различных режимах могут составлять от 4 до 15 кГц, что соответствует длинам продольных звуковых волн  $10 \div 30$  см, уже сопоставимых с размером утробы. Это означает, что поле в ней является существенно неоднородным и уровень звукового давления, измеряемого ФР, зависит от места его размещения на поверхности живота. Поэтому его следует рассматривать как нижнюю оценку уровня звукового поля, возникающего при УЗИ. Зарегистрированный нами непосредственно в ходе УЗИ с использованием сканера Accuvix V10 (Samsung Medison) с датчиком для трехмерных абдоминальных исследований, уровень максимальных из спектральных составляющих лежит в диапазоне  $70 \div 80$  дБ. Это соответствует разговору средней громкости или негромкой музыке на фортепиано.

*Поддержано грантами РФФИ № 12-02-01114 и Правительства РФ № 11.G34.31.0066.*

1. Fatemi M., Ogburn P.L., Greenleaf J.F. / J. Ultrasound Med. 2001. V.20. P. 883-889.
2. Antonets V. A. and Kazakov V. V. / Acoustical Physics, 2014, Vol. 60, No. 3, pp. 342–347.
3. Antonets V. A. and Kazakov V. V. / Acoustical Physics, 2015, Vol. 61, No. 4, pp. 494–497.

## **ПРОЦЕССЫ САМООРГАНИЗАЦИИ ПЛАЗМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ КАК КРИТЕРИЙ ЕГО ЭФФЕКТИВНОСТИ**

**The process of self organization of blood plasma of patient with ovarian cancer at various stages of complex treatment as criterion of its effectiveness**

***Арджа А.Ю., Куркина Т.А., Шихлярова А.И.***

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России,  
344037 г. Ростов-на-Дону 14 линия 63  
*e-mil rnioi@list.ru*

Возможности интегральной оценки состояния организма при развитии онкопатологии и противоопухолевом лечении расширены благодаря изучению морфологии биологических жидкостей (В.Н.Шабалин, С.Н. Шатохина, 2001 Цель работы состояла в идентификации морфотипов и характеристике системных, подсистемных и локальных изменений твердотельных пленок плазмы крови больных раком яичников III-IV стадии на этапах хирургического и лекарственного лечения. Использовали метод клиновидной дегидратации, включающий нанесение автоматической пипеткой-дозатором капель плазмы объемом 2 мкл на предметное стекло, высушивание при постоянной температуре 20-22<sup>0</sup>С и влажности в течение 18-24 час. при отсутствии конвекционных потоков воздуха. Исследование структуры пленок осуществляли на микроскопе «Leica DM LS2» с программным обеспечением «Морфотест» и цифровой фотокамерой «Olimpus. При анализе визуального ряда изменений морфоструктуры плазмы крови у 10 больных распространенным раком яичников до начала лечения были выявлены в 60% случаев нарушения I уровня самоорганизации – асимметричное расположение трещин, образующих в 30% случаев циркулярный тип фации, в 10% случаев – иррадиальный тип фации, а также по 10% распределились аморфный тип и двойная фация. Наименьшим отклонением от нормы с радиальной симметрией трещин считается частично-радиальный морфотип, который отмечался в 40% случаев данной выборки пациенток. Различия в формировании системных свойств биожидкости сочетались с единым для всех характером патологических изменений II уровня самоорганизации – отсутствием образования секторов, отдельностей и мономорфных конкреций. Лишь единичные фации включали эти структуры с аномалией формы, размеров и местонахождения. Объединяющим признаком являлось обилие маркеров сопутствующих патологических процессов-воспаления, интоксикации, склерозирования, ангиоспазма, склерозирования, ангиоспазма, кандидомикоза, нарушений функций печени, липидного обмена. После проведения хирургического этапа лечения ситуация изменилась в сторону преобладания циркуляторного типа, наблюдавшегося в 70% случаев, а в остальных случаях формировались аморфные фации, что иллюстрировало развитие операционного стресса и инфузионной нагрузки. В единичных случаях была отмечена манифестация воспаления и интоксикации. На этапе химиотерапии у 80% пациенток фации плазмы крови приобретали черты нормализации структуропостроения с доминированием частично-радиального и радиального типа. Эти позитивные тенденции дополнялись уменьшением частоты встречаемости маркеров воспаления и интоксикации. В остальных 20% случаев наблюдалось усугубление процессов самоорганизации с разупорядочиванием системных и подсистемных признаков – образованием патологически устойчивых фаций иррадиального типа. В таких случаях через 6 месяцев у больных было зафиксировано появление рецидивов. Таким образом, визуализация морфоструктуры плазмы крови у больных раком яичников может служить прогностическим фактором эффективности противоопухолевой химиотерапии.

**БИОМЕДИЦИНСКИЕ ПРОБЛЕМЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИЛЛИМЕТРОВЫХ ВОЛН  
В КОММУНИКАЦИОННЫХ СИСТЕМАХ****Biomedical problems of use of millimeter wave in the communication systems****Астафуров В.И.**

ФГУП НТЦ РХБГ ФМБА России, 123182 Москва, ул.Щукинская, 40

Тел.: +7(499)193-11-02; e-mail: vastafurov@mail.ru

Тенденция использования электромагнитных миллиметровых волн (ММВ) в коммуникационных системах приобрела в последние годы устойчивый характер. По результатам исследований разработчиков беспроводной связи использование ММВ в приемо-передающих системах в помещениях с работающим персоналом будет оказывать менее вредное воздействие на человека по сравнению с системами на основе сантиметровых и дециметровых волн. Однако эти выводы вступают в противоречие с данными о влиянии ММВ на живые системы.

Обширный экспериментальный материал показывает, что излучение миллиметрового диапазона обладает ярко выраженным биологическим действием и оказывает воздействие практически на все известные типы клеток в живых системах любого иерархического уровня. Резонансная зависимость выявленных эффектов свидетельствует о том, что механизм воздействия ММВ затрагивает фундаментальные аспекты гомеостаза живых систем.

Можно предположить, что специфика взаимодействия живых структур с ММВ обусловлена существованием природного генератора данного вида излучения, влияющего на гомеостаз живых структур. Для такого предположения имеются экспериментальные и теоретические основания:

– *экспериментальное основание.* В 1965 году обнаружено космическое радиоизлучение, получившее название реликтового микроволнового излучения (РМИ). Это излучение является изотропным, характеризуется высокой плотностью энергии, максимум в спектре РМИ приходится на частоту ~160 ГГц (длина волны ~2 мм). Параметры РМИ свидетельствуют в пользу того, что это излучение является собственным, непрерывно генерируемым, излучением материального континуума;

– *теоретическое основание.* На основе новой теоретической модели выведено уравнение, связывающее пространственные параметры фундаментальных иерархических структур [1]:

$$\log R_i = \log R_{abc} + f^i \log K_0$$

где  $R_i$  – радиус  $i$ -го фундаментального осциллятора;  $R_{abc}$  – радиус наименьшего природного осциллятора;  $f$  – мерность пространства;  $K_0$  – безразмерный коэффициент;  $i$  – номер осциллятора ( $i = 0, 1, \dots, 5$ ). Значению  $i = 4$  соответствует осциллятор радиусом ~3,9 мм. Согласно расчетным данным, этот осциллятор должен генерировать электромагнитное излучение с длиной волны ~2 мм, что согласуется с данными спектра РМИ. Таким образом, из модели следует, что в Природе существует непрерывный источник миллиметровых волн, формирующий спектр наблюдаемого космического радиоизлучения.

Можно заключить, что неконтролируемое расширение диапазона используемых радиочастот в сторону миллиметровых и субмиллиметровых волн способно привести к непредсказуемым последствиям для высших форм жизни.

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ВЗАИМОСВЯЗЬ ДЕЛЬТОРФИНОВ

### Structure-function relationship of deltorphins

**Ахвердиева Г.А.**

Институт физических проблем, Бакинский Государственный Университет,  
AZ-1148, г. Баку, Азербайджан, ул. З.Халилова 23  
Тел.: (994-12) 510-18-22; факс: (994-12) 498-33-76; e-mail: hagverdiguynara@gmail.com

В настоящее время одной из актуальных задач фармакологии является поиск лигандов опиатных рецепторов — эффективных анальгетиков, используемых в медицине в качестве препаратов лечения. В работе представлены результаты исследования методами молекулярной механики, квантовой химии и молекулярной динамики важных аспектов структурно-функциональных отношений линейных опиоидных пептидов дельторфинов I и II, имеющих высокое родство и избирательность к  $\delta$  - опиоид связывающим местам [1].

Проведенные расчеты показали, что большинство низкоэнергетических конформаций исследованных пептидов имеют полусвернутую или полностью свернутую форму основной цепи, близкую к спиральной. Отметим, что при формировании пространственных структур молекул дельторфинов реализуются оптимальные конформации их физиологически активного N-концевого тетрапептидного фрагмента, обеспечивающие сближение положительно заряженной аминогруппы N-конца с отрицательно заряженной группой атомов боковой цепи остатка в четвертой позиции аминокислотной последовательности. Они стабилизируются соответствующими эффективными электростатическими контактами, а также интенсивными дисперсионными контактами атомов основной цепи, что придает этим молекулам компактность. На основе полученных результатов сделаны следующие выводы:

за анальгетическое действие дельторфинов ответственны стерически вероятные пространственные структуры их N-концевых тетрапептидных фрагментов, характеризующиеся конформационной жесткостью пептидного остова. Эти конформации стабилизируются солевыми мостиками между атомом азота аминогруппы N-конца молекул и атомами кислорода карбонильных групп боковых цепей аминокислотных остатков Asp<sup>4</sup> и Glu<sup>4</sup>, соответственно, в дельторфине I и II;

низкоэнергетические структуры дельторфинов характеризуются свернутостью основной цепи дипептидного сегмента Tyr1-DAla2. Указанное минимальное структурное требование является важным для физиологической деятельности исследованных молекул и подтверждает устойчивость соответствующей химической связи к действию ферментов в процессе метаболизма пептидов;

мобильность ароматических остатков Tyr<sup>1</sup> и Phe<sup>3</sup> дает возможность их фармакофорным группам принимать определенные положения в пространстве, характеризующиеся конформационными и электронными параметрами, необходимыми для оптимальных взаимодействий со структурой биомешени;

связывание молекул дельторфинов с рецепторами может осуществляться посредством водородных связей с участием протонированного атома азота, гидроксильной группы остатка Tyr<sup>1</sup> и карбонильных групп боковых цепей остатков Asp<sup>4</sup> и Glu<sup>4</sup>.

Полученные структурные данные представляют интерес для объяснения на атомно-молекулярном уровне механизма физиологического действия, лежащего в основе анальгетического эффекта опиатоподобных пептидов, а также могут быть использованы при проектировании препаратов, проявляющих устойчивый и сильный анальгетический эффект.

## **ЗОНА ДЕРМО-ЭПИДЕРМАЛЬНОГО КОНТАКТА КОЖИ ЧЕЛОВЕКА В РАЗНЫЕ ВОЗРАСТНЫЕ ПЕРИОДЫ**

**Багаева М.И.1, Брагина Е.Е.2, Гетлинг З.М. 1, Гомберг М.А. 3, Стовбун С.В. 1**

1. Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва

2. НИИ физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва

3. Московский государственный медико-стоматологический университет, Москва

Зона дермо-эпидермального контакта играет важную роль в формировании защитного кожного барьера. Происходящие в процессе жизни изменения проницаемости кожного барьера играют существенную роль при возрастных изменениях кожи, однако процессы, происходящие в зоне дермо-эпидермального контакта, изучены недостаточно.

Проведено электронно-микроскопическое исследование 32 биоптатов кожи практически здоровых лиц 5 возрастных категорий: от 6 мес до 7 лет, от 7 до 19 лет, от 20 до 40 лет, от 41 года до 59 лет, от 60 до 74 лет, от 75 до 89 лет.

Показано, что изменения различных структур кожи начинаются после 40 лет и усиливаются с возрастом. Отмечается появление новых структурно-функциональных элементов и существенная деградация старых. Наиболее выраженные изменения дермо-эпидермального соединения, которые характеризуются истончением и дубликацией базальной мембраны, а также уменьшением количества полудесмосом, отмечаются в более позднем периоде — в пожилом (60-74 года) и старческом (75-89 лет) возрасте.

Морфология и топология вновь образующихся с течением времени структурно-функциональных элементов в зоне дермо-эпидермального контакта позволяют говорить о неполноценности попыток восстановления непрерывности базальной мембраны, что приводит к развитию её несостоятельности, нарушению барьерно-защитных свойств кожи и её старению.

Показано, что в условиях естественного освещения, роль ультрафиолетового излучения в деградации квазиполимерного матрикса базальной мембраны незначительна и, следовательно, существуют иные механизмы данного процесса.

Показана значимость фактора микробиологической нагрузки в возрастной деградации базальных мембран, приводящей к патологическим изменениям в органах и тканях, в том числе, аутоиммунной природы.

## **ВЛИЯНИЕ ЭТАНОЛА НА СТРУКТУРУ И СВОЙСТВА ФИБРИНОВЫХ ПЛЕНОК**

### **Effect of ethanol on the structure and properties of fibrin films**

**Бакирова Д.Р., Файзуллин Д.А., Зуев Ю.Ф**

Федеральное государственное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики  
Казанского научного центра Российской академии наук, 420111, Казань, ул. Лобачевского, 2/31,  
а/я 30

Тел.: +7(843)292-62-88; e-mail: bakirova.dilyafruz@gmail.com

Фибриноген, растворимый белок плазмы крови, под действием фермента тромбина превращается в фибрин. Образующиеся из мономеров фибрина полимерные фибриновые нити при взаимодействии между собой образуют трехмерную сеть, составляющую основу фибринового сгустка, задействованного в свертывании крови и тромбообразовании.

В данной работе комплексом методов (микрогравиметрии, ИК-спектроскопии, атомно-силовой и электронной микроскопии) исследованы структура фибриногена/фибрина, морфология и вязкоупругие свойства моно- и бислоев фибрина на металлической поверхности при обработке низкими концентрациями этанола и взаимосвязь этих параметров. Этанол является естественным метаболитом, входит в состав пищевых продуктов и концентрация его в крови при некоторых условиях может достигать 0.2 об.%.

Результаты исследований показали, что при адсорбции из физиологического раствора фибриноген и мономолекулярный фибрин образуют на поверхности металла монослойные ветвящиеся структуры. Вторичная структура адсорбированного фибриногена/фибрина в отличие от раствора характеризуется повышенным содержанием неупорядоченной структуры и бета-поворотов. При адсорбции и полимеризации второго слоя образуются ветвящиеся фибриллы, в основном повторяющие морфологию первого адсорбированного слоя. По механическим свойствам монослой фибрина характеризуется как жесткий, а полимеризованный бислой – как высоковязкий.

Воздействие водно-спиртовыми растворами с содержанием этанола до 10 об.% не вызывает заметных изменений формы и размера фибриновых волокон, однако увеличивает их микровязкость при пропорциональном уменьшении доли спиральных структур молекул фибрина.

*Исследование осуществлено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Республики Татарстан в рамках научного проекта № 15-44-02230.*

**ОЦЕНКА ПАРАМЕТРОВ М- И Н- ОТВЕТОВ ИКРОНОЖНОЙ МЫШЦЫ КРЫСЫ ПРИ СОЧЕТАНИИ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ РЕАБИЛИТАЦИИ В ХРОНИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА****EVALUATION AND SETTINGS M H ANSWERS gastrocnemius muscle of rats at a combination of different methods of rehabilitation in chronic PERIOD after spinal cord injury.*****М. Э. Балтин, Н. Ф. Ахметов****Казанский федеральный университет, Казань, ул. Кремлевская 18  
baban.bog@mail.ru*

Методы реабилитации, которые сочетали бы в себе лечение, способное предотвратить активацию вторичной травмы и, одновременно, изменить структуру и эффективность синапсов в поврежденной ЦНС, имеют большие перспективы в оптимизации стратегий функционального восстановления. Целью нашего исследования было оценить эффективность комбинированного лечения экспериментальной травмы спинного мозга (ТСМ) у крыс с использованием метилпреднизалона и двигательного научения.

Моделировали дозированную контузионную ТСМ на уровне Th3-Th4 по модифицированной методике Allena (1914). Эксперименты проведены с соблюдением биоэтических норм. Терапевтический протокол состоял из введения 30 мг/кг метилпреднизолона (МП) через 8 часов после травмы, с последующим повторным внутривенным введением через 24 и 48 часов после травмы. С 14 суток после ТСМ проводили ежедневные тренировки крыс на трейдбане с поддержкой веса тела по 20 минут. Проводили электромиографическую оценку состояния нейро-моторного аппарата через 30 суток после травмы.

Использование двигательной тренировки в хроническом периоде после ТСМ оказало положительный эффект на восстановление двигательных функций. Нами показано, что сочетанное применение двигательной тренировки и МП не привело к улучшению двигательных функций. Мы наблюдали при сочетанной терапии ухудшение показателей, хотя и не достоверные. Возможно, что механизмы, лежащие в основе двух моделей лечения не только различны, но и противоположны. В литературе встречаются данные, когда терапия одним методом может помешать производительности другого. Однако оптимальное сочетание комбинации методов лечения, для наилучшей реабилитации остается интересной задачей для будущих исследований.

*Работа поддержана грантом РФФИ №13-04-01746а.*

## «ЭНДОСОРБ» – НОВЫЙ ЭФФЕКТИВНЫЙ СОРБЕНТ ДЛЯ ОЧИСТКИ РАСТВОРОВ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ ОТ ЭНДОТОКСИНОВ

“Endosorb” – new and effective sorbent for purification of pharmaceutical proteins contaminated with endotoxins

**Бессонов И.В., Морозов А.С.1, Копицына М.Н.1, Карелина Н.В.1, Нуждина А.В. 1, Кустов П.А.2, Красоткина Ю. В.2**

1 – МГТУ им. Н.Э. Баумана, 105005, Москва, 2-я Бауманская, д. 5, стр.1

2 – ЗАО «ГЕНЕРИУМ», 601125, Вольгинский, стр. 17

Тел./факс: +7 (49243) 7-25-20 e-mail: ju.krasotkina@generium.ru

Загрязнение растворов фармацевтических белков бактериальными эндотоксинами является серьезной проблемой при производстве инъекционных препаратов. Государственная Фармакопея допускает присутствие на промежуточных этапах производства стерильных лекарств около 100 микроорганизмов в 1 мл растворов (микробиологическая категория 1.2 Б). Такое количество бактерий способны высвободить ~0,1 нг или 1 ЕЭ (единица эндотоксина) эндотоксинов, которые затем могут накапливаться и концентрироваться в процессе очистки целевого белка. Учитывая производственные объемы растворов в сотни и тысячи литров, содержание эндотоксинов в полупродуктах может быть очень высоким ( $>10^2$  ЕЭ/мл), и удаление их из растворов представляет собой серьезную задачу.

Универсального способа очистки от эндотоксинов не существует. Метод удаления определяется физико-химическими свойствами раствора, а также масштабами и экономической целесообразностью. Самым эффективным способом удаления эндотоксинов из фармацевтических растворов являются аффинные или ионообменные сорбенты. Одним из них является новый селективный сорбент «Эндосорб», простота и эффективность использования которого делает его крайне привлекательным для депирогенизации фармацевтических субстанций.

В данной работе разработан метод удаления эндотоксинов из растворов, содержащих кровезаменители – рекомбинантные факторы свертывания крови: фактор VII (FVII) и делетированный по В-домену фактор VIII (BDD-FVIII). Полимерные гранулы «Эндосорб» помещают в раствор белка, загрязненный бактериальными эндотоксинами и перемешивают в течение 30-60 мин. при комнатной температуре, затем раствор декантируют. Происходит практически полное удаление бактериальных эндотоксинов, при этом содержание белков и низкомолекулярных веществ изменяется незначительно. Эффективность «Эндосорба» обусловлена специфичным взаимодействием лиганда, ковалентно привитого к макропористой матрице, с ЛПС. Содержание белков определяли спектрофотометрически, концентрацию бактериального эндотоксина измеряли при помощи ЛАЛ-теста (Limulus Amebocyte Lysate Assay). Результаты исследования представлены в табл.1.

**Табл.1.** Депирогенизация растворов рекомбинантных факторов свертывания с использованием «Эндосорб».

Белок	pI	Буферный компонент/pH раствора	Начальное содержание эндотоксинов, ЕЭ/мл	Конечное содержание эндотоксинов, ЕЭ/мл
FVII	6,09	TRIS/ pH 7, 0	150	<10
BDD-FVIII	6,36	Гистидин/ pH 6,5	150	<10



**ОСОБЕННОСТИ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ В ТКАНЯХ ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОМ СТАРЕНИИ ОРГАНИЗМА****Features of oxidative modification of proteins in tissues at physiological aging organism*****Бондаренко Т.И.1, Кутилин Д.С.1, Михалева И.И.2***

1 – Южный федеральный университет, 344090, Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1,

2 – Институт биогранической химии им. Акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова, РАН, 117997, Москва, ул.Миклухо-Маклая, 16/10

*e-mail: tomabon@yandex.ru*

Старение организма представляет собой возрастзависимое фрактальное увеличение числа отклонений от гомеостаза на молекулярном, субклеточном, клеточно-тканевом и системном уровнях. Нарушение гомеостаза способствует возникновению возрастзависимых патологий (онкогенеза, аутоиммунных, нейродегенеративных заболеваний) (Москалев, 2010). Старение и болезни, ассоциированные со старением, часто обусловлены накоплением с возрастом окислительных повреждений ДНК, белков, липидов и других, существенных для жизни макромолекул (Анисимов, 2008). Свободнорадикальная модификация может приводить к потере функции белка. Для эффективной борьбы со старением нужно системно совершенствовать геропротекторные функции организма. В этом плане несомненный интерес представляет синтетический аналог дельта-сон индуцирующего пептида (ДСИП) со следующей первичной структурой: WAGGDASGE, молекулярные механизмы реализации геропротекторной активности которого при старении не известны и требуют детального исследования.

Целью исследования явилось изучение влияния ДСИП на окислительную модификацию белков в разных тканях крыс при физиологическом старении организма

Эксперимент выполнен на 158 крысах-самцах в возрасте 2-24 мес. Нами показано накопление окисленных белков (по уровню карбонильных, SH-групп и битиразина) в тканях крыс при старении (мозг, печень, скелетные мышцы, сердечная мышца, почки, селезенка, тестикулы). Установлено, что экзогенный ДСИП при подкожном введении крысам разного возраста в дозе 100 мкг/кг массы тела животного курсами по 5 сут ежемесячно защищает белки исследованных тканей от окисления, обеспечивая уменьшение количества дефектных белковых молекул при старении организма. Его действие имеет тканеспецифический и гетерохронный характер и, вероятно, является следствием антиоксидантных свойств ДСИП.

## ИЗМЕРЕНИЯ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК КРОВИ В СОСУДАХ ХОРИОАЛЛАНТОИСНОЙ ОБОЛОЧКИ КУРИНОГО ЭМБРИОНА МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ ДОПЛЕРОВСКОЙ АНЕМОМЕТРИИ

### Quantitative measurement of blood flow dynamics in CAM of chicken embryo using LDA

***Бороздова М.А.1, Федосов И.В.1, Тучин В.В.1,2,3***

1 – Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского, 410012 Саратов, ул. Астраханская, 83

2 – Институт проблем точной механики и управления РАН, 410028 Саратов, ул. Рабочая 24

3 – Лаборатория биофотоники, Томский государственный университет, 634050 Томск

Тел.: +7(917)216-95-51; e-mail: mariabor@mail.ru

Изменения характеристик и структуры потоков в системе микроциркуляции крови несут в себе важную диагностическую информацию так как многие патологические состояния сопровождаются нарушениями микрогемодикуляции и выражаются в несоответствии изменений динамики кровотока с метаболическими потребностями органов, что приводит к нарушению их функции. Измерение количественных характеристик кровотока необходимо для понимания механизмов регуляции местного кровотока в органах и тканях. Метод лазерной доплеровской анемометрии позволяет измерять скорость течения крови и точно оценивать объемный расход крови через отдельные артериолы и венулы. Принцип действия ЛДА основан на измерении величины доплеровского сдвига частоты (ДСЧ) оптического излучения, однократно рассеянного движущимися клетками.

Предложен метод определения величины доплеровского сдвига частоты, основанный на вычислении разностного спектра мощности сигнала ЛДА. Метод был реализован на разработанном нами ЛДА предназначенном для исследования регуляции местного кровотока в артериолах и венулах диаметром 50 – 500 мкм. Схема разработанного нами ЛДА включает оптический модулятор, осуществляющий переключение режимов освещения измерительного объема и позволяющий удалять низкочастотную компоненту из спектра автоматически. Результаты экспериментов, по измерению скорости кровотока в сосудах хориоаллантаисной оболочки куриного эмбриона (ХАО) *in vivo*, демонстрируют преимущества дифференциальной ЛДА (дифЛДА) схемы перед существующими оптическими методами измерения скорости кровотока в сравнительно крупных кровеносных сосудах [1]. Было показано, что при зондировании кровеносного сосуда в направлении, перпендикулярном его оси, результат измерения скорости практически не зависит от величины угла между оптической осью ЛДА и осью сосуда, дифЛДА обеспечивает высокое отношение сигнал/шум при измерении скорости течения сильно рассеивающих жидкостей с высоким коэффициентом экстинкции, таких как кровь в артериолах и венулах животных или человека.

*Работа выполнена в рамках Государственного задания в сфере научно-исследовательской деятельности №2014/203 НИР №1490 «Разработка оптических методов и средств контроля структуры и динамики биологических сред», а также при поддержке Минобрнауки РФ, НИР 3.1340.2014/К конкурсной части Госзадания.*

1. Trasischker W., Werkmeister R.M., Zotter S., Baumann B., Torzicky T., Pircher M., Hitzinger C. K. / Journal of Biomedical Optics, 2013, Vol. 18 (11), 116010

**ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ И КАЧЕСТВЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ МУЖЧИН С ОПУХОЛЯМИ ПРОСТАТЫ**

**The study of thermodynamic parameters of blood plasma and the quantitative and qualitative changes of plasma proteins in the men with prostate tumors**

**Бочоришвили И.А.1, Арцивадзе К.Л.1, Алибегашвили М.Р.1, Рамишвили Л.Р.1, Гордезиани М. В.1, Чигогидзе Т. Г.2, Котрикадзе Н.Г.1**

1 – Тбилисский Государственный Университет им. Ивана Джавахишвили, Факультет точных и естественных наук, департамент биологии, кафедра клеточной и молекулярной биологии

2 – Медицинский факультет, Департамент урологии. Тбилиси, пр.Чавчавадзе 1. ТГУ, I К., 0179  
e-mail: nanuli.kotrikadze@tsu.ge

Несмотря на внедрение ряда новых методов профилактики и лечения, частота рака простаты растет, что обусловлено многообразием причин, способствующих развитию опухолей простаты, и все еще неясной этиологией этого заболевания. Возрастание частоты опухолей простаты наблюдается у мужчин в раннем возрасте (30-40 лет). Ранняя диагностика заболевания пока небезупречна. В результате, при первичном же выявлении заболевания, у 60-80% мужчин отмечается метастазированная злокачественная опухоль.

Цель исследования: Изучить термодинамические параметры белков плазмы крови больных опухолями простаты и оценить специфичность указанных изменений и возможное диагностическое значение метода дифференциальной сканирующей микрокалориметрии. Установить количественные и качественные изменения белков плазмы крови мужчин, больных доброкачественной гиперплазией простаты (ДГПЖ), простатическая интраэпителиальная высокозлокачественная неоплазия (HGPIN) и аденокарциномой простаты (АКПЖ).

Результаты. Изучены термодинамические параметры белков плазмы крови – температура, соответствующая максимуму основного пика на кривой денатурации ( $T_d$ ), наличие пиков и теплота денатурации (Q), а также количественные и качественные изменения белков плазмы крови методом электрофореза в полиакриламидном геле у мужчин с опухолями простаты. По возможности было оценено специфичность указанных изменений. Оказалось, что в плазме крови у мужчин с ДГПЖ, максимум основного пика ( $T_d$ ) соответствует 66-67°C температурному интервалу, тогда как при HGPIN и АКПЖ соответствует  $T_d = 63-64^\circ\text{C}$ . Выявлено наличие плеча в температурном интервале 70-71°C при доброкачественной гиперплазии простаты и HGPIN.

Выводы: Выявлено в плазме крови мужчин с ДГПЖ, максимум основного пика ( $T_d$ ) в температурном интервале 66-67°C тогда, как при HGPIN и АКПЖ  $T_d = 63-64^\circ\text{C}$ . Установлено, наличие плеча в температурном интервале 70-71°C при ДГПЖ и HGPIN. Установлено, что теплота денатурации (Q) изменяется в следующем порядке – самая высокая в случае АКПЖ – HGPIN – ДГПЖ – контрольная группа. Показан рост белковых фракций, соответствующих массе 220kD, при доброкачественных опухолях, по сравнению с контрольной группой и злокачественными опухолями. Появление фракций низкомолекулярных белков (41kD, 38kD, 32kD) можно считать также специфичным для ДГПЖ. Выявлено увеличение белковых фракции с массой 135 kD и 88 kD. Предполагаем, что эти белковые фракции специфичны для опухолей простаты. Обнаружена новая белковая фракция 78kD при АКПЖ. Этот факт должен быть специфичным для злокачественной опухоли простаты.

## МИКРОСОСУДИСТОЕ ШУНТИРОВАНИЕ В НАРУШЕНИИ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ АУТОРЕГУЛЯЦИИ ПРИ ВНУТРИЧЕРЕПНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

### Microvascular shunting in the loss of cerebral autoregulation at intracranial hypertension

**Брагин Д.Е., Немото Э.М.**

University of New Mexico School of Medicine, Albuquerque, NM, USA, 87131.

Тел.: +1(505)272-64-63; факс: +1(505)272-83-06; e-mail: [dbragin@salud.unm.edu](mailto:dbragin@salud.unm.edu)

**Цели:** Церебральная ауторегуляция поддерживает постоянным мозговое кровообращение (МК) независимо от колебаний церебрального перфузионного давления [ЦПД = АД – ВЧД (артериальное и внутричерепное давления, соответственно)]. ЦПД необходимо поддерживать выше критического уровня нарушения ауторегуляции. *Критическое ЦПД* = 50 мм.рт.ст. было определено методом ауторегуляторных кривых – измерении МК Допплером при снижении АД и ЦПД. Однако клинически, ЦПД чаще снижается из-за роста ВЧД при черепно-мозговых травмах, инсультах и других тяжёлых патологиях головного мозга. В этом случае экспериментально определённое *критическое ЦПД* = 30 мм.рт.ст. ление микрососудистого кровотока и «nonnutritive» микрососудистые шунты при высоком ВЧД связаны с развитием патологии мозга и являются причиной ошибочного определения критического ЦПД.

**Методы:** *In-vivo* двухфотонная лазерная микроскопия была использована для измерения микрососудистого кровотока (line scans), насыщения ткани кислородом (никотинамидадениндинуклеотид, NADH) и проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) в коре головного мозга крыс при снижении ЦПД с 70 мм.рт.ст. до 30 мм.рт.ст. с шагом 10 мм.рт.ст. путём снижения АД (кровапускание) или повышения ВЧД позиционированием резервуара с искусственной цереброспинальной жидкостью соединённого с *cisterna magna*. Плазма крови метилась тетраметилпродамин декстраном. Температура мозга, АД, ВЧД и МК непрерывно наблюдались; газовый состав, электролиты, и гематокрит крови определялись ежечасно. Статичная ауторегуляция определялась ауторегуляторными кривыми. Активные ВЧД (iPRx) и цереброваскулярная (iCVRx) реактивности индуцировались спайком АД (10 мм.рт.ст.) вызванным *i.v.* дозой дофаминна;  $iPRx = \Delta ВЧД / \Delta АД$  и  $iCVRx = \Delta ЦК / \Delta АД$ .

**Результаты:** Снижение ЦПД при росте ВЧД вызывало прогрессирующую стагнацию капиллярного кровотока (диам. 3 – 8 мкм, скорость <1 мм/с) и увеличение патологического кровотока через микрососудистые шунты (диам. 8-25 мкм, скорость >1 мм/с), подтверждаемое развитием гипоксии, отека и повреждения ГЭБ. Развитие этих патологий замедлялось при увеличении ЦПД за счёт поднятия АД. Снижение ЦПД методом снижения АД как и ожидалось нарушало кровоток во всех микрососудах. Как мы и предполагали, статичные ауторегуляторные кривые определяют ошибочное критическое ЦПД = 30 мм.рт.ст. при повышенном ВЧД, так как Допплер, усредняющий ток крови в большом объеме ткани, не дифференцирует противоположно направленные изменения стагнирующего капиллярного кровотока и усиливающегося кровотока в микрососудистых шунтах. Реальное критическое ЦПД = 50 мм.рт.ст. при повышенном ВЧД, гарантирующее адекватную церебральную перфузию в поврежденном мозге, можно определить при помощи активных индуцированных iPRx and iCVRx. Описанные результаты могут быть использованы в клинических и лабораторных исследованиях взаимозависимости перераспределения микрососудистого кровотока и потери церебральной ауторегуляции после черепно-мозговой травмы и других нарушений мозгового кровообращения.

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ И КЕТОКИСЛОТ В ПЛАЗМЕ КРОВИ  
МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ****Determination of amino acids and alpha-keto acids in blood plasma using HPLC**

***Буглак А.А., Шурубор Е.И., Зылькова М.В., Клемешова И.С., Красников Б.Ф.***

Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ Биотехнологии РАН, 119071, Москва

Тел.: +7(495)952-34-31; факс: +7(495)954-27-32; e-mail: andreybuglak@gmail.com

В рамках проекта по разработке экспериментальной модели патогенеза нейродегенеративных заболеваний на основе печёночной энцефалопатии стояла задача разработать метод определения содержания некоторых метаболитов в плазме крови крыс. К определяемым соединениям относились: глутамин, метионин, глутамат,  $\alpha$ -кетоглутарат,  $\alpha$ -кетоглутамарат,  $\alpha$ -кето- $\gamma$ -метилтиобутират, пируват, малат, лактат, а также восстановленный глутатион. Данные соединения являются маркерами для оценки активности ферментов глутаминтрансаминаз и  $\omega$ -амидаз при развитии гепатоэнцефалопатии на животных моделях. Целью нашего раздела исследования было разработать простой и надёжный метод определения вышеперечисленных соединений в плазме крови.

Для решения поставленной задачи применяли метод высокоэффективной жидкостной хроматографии. Использовался хроматограф «Стайер» производства фирмы «Аквилон» (Россия) с тремя детекторами: фотометрическим, флуориметрическим и амперометрическим.

Для осаждения белков в биологических образцах и экстракции метаболитов, к образцу плазмы добавляли раствор 10% хлорной кислоты. Полученный раствор тщательно перемешивался и инкубировался в течение 2 минут на льду. Часть образцов нейтрализовали для последующего определения аминокислот. Образцы дважды центрифугировались в течение 1 минуты при 18000 g (4°C). Анализ пула кетокислот проводили на обращенно-фазовой колонке Synergi Hydro-RP C18 фирмы Phenomenex в изократическом режиме элюирования; в качестве подвижной фазы брали 20 mM фосфатный буфер pH 2.9. Перед определением аминокислот проводилась их дериватизация о-фталевым альдегидом с получением флуоресцирующих аддуктов. При анализе флуорисцирующих производных на колонке Luna-C18(2) (Phenomenex) использовали в качестве подвижной фазы 0,1 M фосфатный буфер pH 6.4, дополнительно создавая градиент ацетонитрила. Регистрация  $\alpha$ -кетоглутарата,  $\alpha$ -кетоглутамарата,  $\alpha$ -кето- $\gamma$ -метилтиобутирата, пирувата, малата, лактата, метионина, а также восстановленного глутатиона проводилась на фотометрическом детекторе при длине волны  $\lambda = 210$  нм, флуоресцирующие производные глутамата, глутамина и метионина регистрировали с помощью флуориметрического детектора (длина волны возбуждения  $\lambda_{\text{exc}}=340$  нм, длина волны эмиссии  $\lambda_{\text{exc}}=455$  нм). Также в рамках данной методики возможна регистрация метионина,  $\alpha$ -кето- $\gamma$ -метилтиобутирата и глутатиона на амперометрическом детекторе при потенциале рабочего электрода 1 В.

Таким образом, был разработан метод экстракции маркерных метаболитов из плазмы крови и опробован простой, эффективный метод высокоэффективной жидкостной обращенно-фазовой хроматографии с несколькими детекторами для анализа аминокислот. Метод обладает необходимой точностью и воспроизводимостью для анализа биологических образцов.

*Работа поддержана Министерством образования РФ (соглашение № 14.604.21.0116, уникальный идентификатор прикладных научных исследований (проекта) RFMEFI60414X0116.*

## РОЛЬ О-БОКОВЫХ ЦЕПЕЙ ЛПС В АДГЕЗИИ *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS* К МАКРОФАГАМ, ОЦЕНЕННАЯ МЕТОДОМ ОПТИЧЕСКОЙ ЛОВУШКИ

The role of O-side chains of lipopolysaccharide in the adhesion of *Yersinia pseudotuberculosis* to macrophages, assessed by optical tweezer

**Бывалов А.А.1, Кононенко В.Л.2, Коньшев И.В.1**

1 – Вятский государственный университет, 610000, Киров, ул. Московская, 36; Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН, 167982, Сыктывкар, ул. Первомайская, 50

2 – Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4; ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздрава России, 117997, Москва, Тел.: +7 (8332) 645069; факс: +7(8332)321649; e-mail: byvalov@nextmail.ru

Разработка новых средств профилактики, лечения, диагностики инфекционных заболеваний предполагает знание тонких механизмов взаимодействия возбудителя и макроорганизма, начиная с этапа адгезии микробов к клеткам. Целью работы являлось изучение методом оптической ловушки значимости О-боковых цепей липополисахарида (ЛПС) *Yersinia pseudotuberculosis* в адгезивности возбудителя на модельной системе «макрофаг мыши J774 – полистироловые микросферы, покрытые препаратами ЛПС». Препараты ЛПС получали из культуры *Y. pseudotuberculosis*, выращенной при 10°С (ЛПС-10), и *Y. pestis*, выращенной при 27°С (ЛПС-EV). Для оценки возможности иммунохимического блокирования адгезивности к клеткам pripravивали микросферы, сенсibilизированные ЛПС-10, трех типов: без дополнительной обработки; с обработкой моноклональными антителами к О-боковым цепям ЛПС-10 (МКАт2); с обработкой моноклональными антителами к белковому эпитопу наружной мембраны иерсиний (МКАт7). Аналогично, часть микросфер, покрытых ЛПС-EV, обрабатывали дополнительно противочумной сывороткой к жизнеспособным клеткам *Y. pestis*, штамм EV (ПЧС), а другую часть – МКАт2. Микросферы, служившие контролем неспецифичности сенситина, покрывали бычьим сывороточным альбумином (БСА). Оценка сил связывания между макрофагами, адгезированными к прозрачному дну чашки "Fluorodish" со средой RPMI-640, и сенсibilизированными микросферами выполнена с использованием лазерного пинцета (JPK Nanotracker на основе инвертированного микроскопа с объективом 63х, NA=1.2 и лазера с длиной волны 1.06 мкм). Используя специально разработанную оригинальную методику измерений в условиях «тени» объекта на детекторе, пьезостолик с клеткой подводили к захваченной ловушкой микросфере и после их касания отводили. По амплитуде скачка сигнала на хронограмме сигнала детектора в момент отрыва микросферы от клетки определяли силу их связи. Измерения показали, что микросферы, покрытые ЛПС-10 и обработанные МКАт2, имели существенно меньшую ( $p < 0.01$ ) адгезивность к макрофагам, чем микросферы с ЛПС-10 без обработки или обработанные МКАт7, и практически не отличались по адгезивности от микросфер, покрытых БСА. Средние значения сил отрыва (в пН) составили, соответственно,  $11.0 \pm 6.7$ ,  $17.8 \pm 10.0$ ,  $15.9 \pm 7.1$  и  $9.9 \pm 5.5$ . Микросферы, покрытые ЛПС-EV, имели меньшую силу связывания с макрофагом (возможно, из-за отсутствия в ЛПС-EV О-боковых цепей). Тем не менее, она превышала силу связи с контрольными микросферами, покрытыми БСА ( $p < 0.01$ ). Последнее указывает на участие липида А и (или) коровой области ЛПС во взаимодействии микробной клетки с эукариоцитами. Однако значимость этой составляющей в адгезивности, очевидно, ниже по сравнению с О-боковыми цепями ЛПС. Сила связывания микросфер, покрытых ЛПС-EV, практически не зависела от инкубации с ПЧС и МКАт2. Таким образом, методом оптической ловушки на модельной системе «эукариоцит – сенсibilизированная ЛПС микросфера» показана существенная значимость О-боковых цепей ЛПС *Y. pseudotuberculosis* в адгезии бактерии к макрофагам J774.

**АНТИ-СТАРИН****Anti-aging**

***Векшин Н.Л.1, Фролова М.С.1, Бегунова Е.А.1, Ковалев В.И.1, Браславский А.В.2***

1 – Институт биофизики клетки РАН, 142290, г. Пущино, ул. Институтская-3

2 – БРЛ Лаборатория Инк., Тайбей, Тайвань nvekshin@rambler.ru

Для борьбы со старением не существует панацеи. Лишь комплексные препараты, устраняющие молекулярные дефекты в клетках, способны остановить старение и даже обратить метаболизм стареющего организма клеток вспять, к молодости. Причем, желательно (чтобы не было побочных эффектов), чтобы препарат состоял из природных веществ, а не синтетической химии, губящей защитные силы организма. Для решения этой задачи в ИБК РАН был разработан комплексный биологически активный препарат «Анти-старин», состоящий исключительно из веществ растительного и животного происхождения. Все компоненты были протестированы по механизму действия на клетках и клеточных органеллах лабораторных животных. «Анти-старин» является комплексным биохимическим препаратом, в состав которого входят чистые (марки х.ч. или о.с.ч) биологические вещества природного происхождения: антиоксиданты, метаболиты, незаменимые аминокислоты и витамины, в частности аргинин, АМФ, янтарная кислота, кверцетин, дигидрокверцетин, рибофлавин, селен, витамин А, пиридоксин, никотинамид, триптофан, тирозин, карнозин и др. Все компоненты препарата были испытаны по отдельности и вместе на изолированных митохондриях и клетках в культуре. Ни один из компонентов не оказывал угнетающего действия на энергетический метаболизм. Необходимо было провести испытание препарата на животных – как ветеринарного средства против старости и паркинсонизма у собак и кошек. Была изготовлена пробная партия ветеринарного «Анти-старина» (200 г, расфасовано по 1 грамму). Часть потрачена на испытания на стареющих домашних животных, часть – на лабораторные исследования, часть – оставлена на длительное хранение при 6 и 20 градусах. Препарат «Анти-старина» весом 1 г растворяли в одном стакане воды. Закрывали крышкой и хранили полученную суспензию в холодильнике при 6° С в течение 30 дней, добавляя животному ежедневно один раз в еду или питье (кошке или мелкой собаке – по одной чайной ложечке; крупной собаке – по одной столовой ложке). Испытания «Анти-старина» были проведены на 155 старых животных (собаки и кошки). У старых животных имелись исходно в основном такие симптомы: нарушение координации движений, дрожание туловища или ног, выпадение шерсти, слабость, вялость, плохой аппетит, сонливость, низкая сексуальная активность и т.д. После применения препарата в течение примерно 1-2 месяцев во всех случаях наблюдалось стойкое исчезновение указанных симптомов. Препарат улучшал метаболизм и оказывал общее укрепляющее действие. Ниже приведены некоторые характерные примеры.

Вид животного – такса. Возраст 9 лет. Симптомы до лечения: дрожание ног и туловища, слабость, седой волос. Продолжительность курса лечения 2 мес. Симптомы после лечения: нет.

Борзая. 9 лет. Дрожание задних ног, слабость, вялость, выпадение шерсти. Курс лечения – 2 мес. Симптомы после: нет.

Кошка беспородная, 8 лет. Слабость, вялость, выпадение шерсти, плохой аппетит. Курс – 2 мес. Симптомы после: нет.

Стаффорд – бойцовская собака, 11 лет. Апатия, слабость, вялость, невозможность участия в боях на ринге. Курс – 1 мес. Симптомы после: нет.

Кот домашний беспородный, 10 лет, Вялость, апатия, отсутствие сексуальных проявлений. Курса – 1 мес. Симптомы после: нет.

В настоящее время «Анти-старин» готовится к промышленному выпуску.

## **ЛЮМИНОЛ-ЗАВИСИМАЯ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ ПЛАЗМЫ КРОВИ И СИНОВИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ В ОЦЕНКЕ ИНТЕНСИВНОСТИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ПРИ ГОНАРТРОЗЕ**

**The luminol-dependent chemiluminescence of blood plasma and synovial fluid in evaluation free radicals oxidation in gonarthrosis**

**Внуков В.В.1, Кролевец И.В.2, Плотников А.А.1, Панина С.Б.1, Забродин М.А.2, Милютин Н.П.1**

1 – ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, г. Ростов-на-Дону, просп. Стачки 194/1

2 – ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 344022, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский 29

*e-mail: 89885848412@mail.ru*

Цель исследования – установление особенностей развития свободнорадикального окисления (СРО) при артрозе коленного сустава (гонартрозе) различной этиологии.

Проведено клинико-биохимическое обследование 68 больных гонартрозом (ГА) II-III стадии по шкале Kellgren/Lawrence. Больные были разделены на 2 группы: 1-я – пациенты с диагнозом посттравматический гонартроз (ПТГА), средний возраст  $46,33 \pm 1,44$  лет; 2-я – пациенты с первичным гонартрозом (ПГА), средний возраст  $48,33 \pm 2,34$  лет. В качестве контроля использовали кровь 20 практически здоровых доноров в возрасте  $46,2 \pm 0,7$  лет. Уровень СРО оценивали по интенсивности люминол-зависимой  $H_2O_2$ -индуцированной хемилюминесценции (ЛХЛ), концентрации стабильных метаболитов оксида азота – нитритов/нитратов ( $NO_x^-$ ) и содержанию ТБК-положительных продуктов (ТБКП) в плазме крови и синовиальной жидкости (СЖ). Установлено изменение параметров ЛХЛ в плазме крови и СЖ у больных ГА по сравнению с донорами. При ПТГА амплитуда быстрой вспышки ЛХЛ в плазме крови и СЖ снижается на 35-54%, а у больных с ПГА – на 74-76%, что может отражать снижение уровня гидроперекисей липидов, обусловленное активацией ферментов их утилизации – глутатионпероксидазы, а в СЖ и глутатион-S-трансферазы. Высота медленной вспышки у больных с ПТГА повышается в плазме крови на 138 %, а в СЖ – на 91%, демонстрируя повышенную способность липидов к перекисному окислению. Вместе с тем, в плазме крови и СЖ больных с ПГА высота медленной вспышки ЛХЛ понижается на 56-66%. Светосумма медленной вспышки в плазме крови больных с ПТГА повышается на 88%, а у больных с ПГА понижается на 57%, что может указывать на снижение числа боковых цепей разветвления и количества липидных радикалов. Установлено, что в плазме крови уровень  $NO_x^-$  возрастает при ПГА на 38%, а при ПТГА – на 53%. При этом в СЖ больных ГА наблюдается повышение уровня  $NO_x^-$  на 42-49 % в обеих группах, что отражает повышенную продукцию оксида азота в синовии. Изменение параметров ЛХЛ сопровождается повышением интенсивности перекисного окисления липидов в плазме и СЖ обеих групп больных ГА.

Таким образом, развитие дегенеративного процесса в тканях сустава при ГА сопровождается нарушением свободнорадикального гомеостаза как в синовиальной среде сустава, так и в крови с наибольшей выраженностью изменений при посттравматическом ГА.



**СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ В КРОВИ У БОЛЬНЫХ ИБС, ПЕРЕНЕСШИХ ХИРУРГИЧЕСКУЮ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИЮ МИОКАРДА****The free radicals oxidation and its regulation in blood of patients with ischemic heart disease after chirurgic revascularization of myocardium****Внуков В.В.1, Сидоров Р.В.2, Милютин Н.П.1, Даниленко А.О.1, Гвалдин Д.Ю.1**

1 – ФГАОУ ВПО «Южный федеральный университет», Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, г. Ростов-на-Дону, просп. Стачки 194/1

2 – ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 344022, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский 29

*e-mail: 89dmitry@mail.ru*

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются глобальной медико-социальной проблемой. С каждым годом растет число кардиохирургических вмешательств, а параллельно – частота послеоперационных осложнений, одним из которых является постперикардотомный синдром (ПКТС).

Целью работы являлось исследование уровня свободнорадикальных процессов (СРП) и состояние антиоксидантной системы (АОС) в крови больных, перенесших хирургическую реваскуляризацию миокарда.

Обследовано 50 пациентов с ИБС в возрасте  $58,0 \pm 1,5$  лет, перенесших операцию аортокоронарного шунтирования (АКШ). Больные были разделены на 2 группы: 1 – больные ИБС, у которых в результате клинических исследований в послеоперационном периоде был установлен ПКТС; 2 – больные ИБС, у которых ПКТС не развивался. Биохимические показатели исследованы в динамике: на 1-е, 3-е, 5-е, 7-е и 10-е сутки после операции. В качестве доноров использовали кровь 20 практически здоровых людей обоего пола в возрасте  $46,2 \pm 0,7$  лет.

Уровень СРП оценивали интенсивности  $H_2O_2$ -люминол-индуцированной хемилюминесценции (ЛХЛ), содержанию малонового диальдегида (МДА), диеновых конъюгатов (ДК) и шиффовых оснований (ШО). Для оценки состояния АОС исследовали активность супероксиддисмутазы (СОД), глутатионредуктазы (ГР), глутатионпероксидазы (ГПО), глутатион-S-трансферазы (GST) и содержание восстановленного глутатиона (GSH).

Амплитуда быстрой вспышки у больных без ПКТС в сравнении с донорами заметно снижается с 1-х по 10-е сутки после операции на 53-64%; у пациентов с ПКТС снижение амплитуды на 65-85%. При этом уровень быстрой вспышки с 1-х по 10-е сутки после операции у больных 2-й группы значительно ниже, чем у больных 1-й группы (на 35-85%). Высота медленной вспышки у больных ПКТС заметно снижается на 5-е сутки после операции на 75% в сравнении с донорами. Светосумма медленной вспышки снижается у больных без ПКТС во все исследованные сроки после операции на 47-49%.

Значительно возрастает уровень МДА, ШО и ДК в плазме больных без ПКТС и больных с ПКТС в сравнении с донорами. Происходит активация АОС в крови больных 1-й и 2-й группы относительно доноров. В крови больных повышается активность ГПО, ГР, GST, СОД, растет уровень GSH.

Полученные результаты свидетельствуют об усилении СРП и активации АОС в крови больных ИБС, перенесших АКШ.

## МОДЕЛИРОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СРЫВА ЗАДЕРЖКИ ДЫХАНИЯ

### Simulation of mechanisms and experimental study of breakpoint of breath-holding

Гончаров А.О.1, Дьяченко А.И.1,2,3, Шулагин Ю.А.1.

1 – Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, 123007, Москва, Хорошевское шоссе, 76 А

2 – Московский физико-технический институт (государственный университет), 141700, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский пер., 9

3 – Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 38  
Тел.: +7(499)195-63-91; факс: +7(499)195-63-91; e-mail: [der.spiegel@mail.ru](mailto:der.spiegel@mail.ru)

Проблеме произвольной задержки дыхания и её срыва в последние десятилетия уделяется большое внимание. Однако до сих пор точно не известны все механизмы, препятствующие проведению задержки дыхания до потери сознания. Особый интерес вызывает исследование физиологических механизмов срыва задержки [1,2]. Большинство экспериментальных исследований с участием человека носят феноменологический характер, так как экспериментальное изучение тонких нейрофизиологических процессов проводится только на животных. Поэтому одним из эффективных способов исследования механизмов произвольной задержки дыхания и её срыва у человека является математическое моделирование.

Целью данного исследования являлась разработка модели дыхательной системы человека, включающую в себя как генератор дыхательного ритма, так и газообмен с газотранспортом; сравнение результатов моделирования задержки дыхания с экспериментальными данными и оценка некоторых механизмов срыва задержки дыхания.

Рабочей гипотезой модели являлось предположение о том, что основную роль в формировании стимула, вызывающего срыв задержки дыхания, играют хеморецепторы, реагирующие на изменение газового состава крови. Разработанная модель представляет собой развитие модели [3], описывающей динамику электрической активности дыхательных мышц.

В качестве экспериментальных методик использовались задержки дыхания на вдохе и на выдохе при различных положениях тела (сидя и в антиортостатическом положении (АНОП) с углом наклона  $-12,5^\circ$ ). В исследовании участвовали 7 здоровых добровольцев.

Имитация процесса задержки дыхания на основе разработанной модели показала, что задержка дыхания на вдохе всегда является более продолжительной, чем на выдохе и основной причиной этого различия является больший объём альвеолярного пространства на выдохе, что уменьшает скорость снижения парциального давления кислорода и повышения парциального давления углекислого газа.

Экспериментальные данные хорошо согласуются с модельным расчётом состава воздуха в лёгких в конце задержки дыхания на вдохе. Модельная концепция индивидуального порога объясняет соотношение времён задержки дыхания при манёврах на вдохе и на выдохе. Наблюдается изменение величины порога при переходе в АНОП, которое может быть связано с рецепторами растяжения и изменениями кровотока. Однако вклад хеморецепторного механизма является основным.

1. Бреслав И.С., Бедров Я.А. и Шмелева А.М. / Физиологический журнал СССР им. И.М. Сеченова, 1976. №7. С.997-1005.
2. M.J. Parkes; «Breath-holding and its breakpoint» / Exp Physiol 91.1 pp 1–15.
3. A. Ben-Tal and J.C. Smith / J Theor Biol. 2008; 251(3): pp 480–497.

**ИЗУЧЕНИЕ ДЫХАНИЯ, ИОННОГО ТРАНСПОРТА И ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В МИТОХОНДРИЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ АУДИОГЕННОЙ ЭПИЛЕПСИИ**

**Study of respiration, ion transport and oxidative processes of rat brain and liver mitochondria in experimental audiogenic epilepsy**

***Горбачёва О.С.1,2, Белослудцева Н.В.1, Шигаева М.И.1, Венедиктова Н.И.1, Мурзаева С.В.2, Миронова Г.Д.1,2.***

1 – ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, 142290, Пущино Московской области, ул. Институтская, 3

2 – Пущинский Государственный естественно-научный институт, 142290, Пущино Московской области, просп. Науки, д. 3

Тел.: 8(4967)739329; факс:8(4967)330553; e-mail: office@iteb.ru

Эпилепсия и другие судорожные расстройства относятся к числу наиболее распространенных заболеваний центральной нервной системы. Одним из перспективных подходов к изучению патофизиологических механизмов эпилептиформных состояний является экспериментальное моделирование судорожных расстройств. Эпилепсия характеризуется снижением мембранного потенциала клетки за счёт увеличения внеклеточной концентрации ионов калия. Механизм появления эпилептических припадков не выяснен. Таким образом, исследование таких основных обменов, как энергетического, ионного, особенно калиевого, в тканях при эпилепсии является весьма актуальным. В нашем исследовании были использованы три группы животных: 1 – крысы Крушинского-Молодкиной (КМ), которые предрасположены к судорожным припадкам в ответ на звук; 2 – крысы КМ, которые за два дня до эксперимента были подвергнуты акустическому стрессу; 3 – контрольные крысы. У всех трех групп животных были изучены следующие параметры функционирования митохондрий печени и мозга: скорость дыхания и интенсивность окислительного фосфорилирования,  $Ca^{2+}$  емкость митохондрий, скорость транспорта в них ионов калия, количество калия и количество перекиси водорода. Было установлено, что скорость дыхания митохондрий печени обеих групп крыс КМ при использовании в качестве субстрата сукцината на 20-25% ниже, чем у контрольных. В митохондриях мозга крыс подобных изменений не наблюдалось. Скорости поглощения ионов калия в митохондриях печени крыс обеих групп КМ были ниже по сравнению с контрольными животными (в среднем на 20-30%). Количество калия в митохондриях головного мозга крыс КМ было несколько снижено. Количество перекиси водорода, определяемое по количеству малонового диальдегида, в митохондриях мозга и печени крыс КМ после акустического стресса было выше, чем у КМ и у контрольных крыс. Митохондриальная  $Ca^{2+}$  емкость, определяемая количеством накопленных ионов кальция, снижается как в митохондриях головного мозга, так и печени крыс КМ после предварительного звукового воздействия. Это свидетельствует об увеличении вероятности открытия  $Ca^{2+}$ -зависимой циклоспорин А (CsA) чувствительной поры в митохондриях этих животных по сравнению с интактными животными. На основании полученных данных обсуждается роль митохондриальных калиевых каналов и пор в нарушении клеточного калиевого и кальциевого гомеостаза при аудиогенной эпилепсии.

*Работа поддержана грантами Правительства РФ №14.Z50.31.0028 и ДПННУТ № 2014/281/2495.*

## НЕЙТРАЛИЗАЦИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ ИШЕМИЧЕСКИ/РЕПЕРФУЗИОННОМ ПОРАЖЕНИИ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА

### Oxidative stress neutralization in ischemia/reperfusion-induced damage of small intestine

*Гордеева А.Е., Шарапов М.Г., Темнов А.А., Новоселов В.И.*

Институт Биологии Клетки РАН, 142290, Пущино, ул. Институтская, 3, Россия

Тел.: 89654034159; e-mail: gordeeva1310@yandex.ru

Окислительный стресс играет основную роль в повреждении клеток при ишемически/реперфузионном поражении (И/РП). Среди внутренних органов тонкий кишечник наиболее чувствителен к И/РП, так как имеет очень высокую потребность в кислороде, кроме того, это огромный сосудистый регион с особой микроциркулярной архитектурой. Это позволяет предположить, что экзогенное применение ферментов-антиоксидантов, являющихся ключевыми в организме, может быть использовано для нейтрализации окислительного стресса при ишемически/реперфузионном повреждении кишечника.

В настоящей работе исследовался протекторный эффект внутривенного введения экзогенного пероксиредоксина 6 (Prx6) на сохранность структур тонкого кишечника на модели тотального ишемически/реперфузионного поражения, вызванного лигированием верхней мезентеральной артерии.

Было показано, что через 15 минут после внутривенного введения Prx6 распределяется по кровеносным сосудам кишечника, проходит через стенку сосудов и диффузно распространяется в эпителии кишечника.

И/Р поражение тонкого кишечника приводит к повышению экспрессии генов всех ферментов антиоксидантов, что является критерием окислительного стресса. И/Р поражение сопровождается деструкцией здоровой композиции кишечной стенки, поражением слизистой и подслизистой оболочек и тотальной атрофией эпителиоцитов. Факт деструкции клеток кишечника подтверждается увеличением уровня основного маркера апоптоза – каспазы -3: усиление экспрессии генов данного белка, возрастание количества фермента в ткани.

Внутривенное введение экзогенного пероксиредоксин 6 перед И/Р поражением приводит к нормализации экспрессии генов ферментов антиоксидантной системы и в итоге к снижению выраженности поражения – сохранение здоровой архитектуры кишечной стенки, структур слизистой и подслизистой оболочек. Кроме того, отмечается нормализация уровня экспрессии генов каспазы -3 и снижение содержания уровня этого фермента в ткани в сторону контрольных значений.

Использование мутантного Prx6 (Prx6C47S) не вызывает подобного протекторного эффекта и не снижает выраженность ишемически/реперфузионного поражения. Поэтому способность Prx6 уменьшать повреждение клеток при ишемически/реперфузионном поражении определяется во многом его пероксидазной активностью.

**Таким образом, использование экзогенных ферментов-антиоксидантов при операциях на кишечнике может значительно снизить последствия И/Р поражения.**

Данная работа указывает на то, что пероксиредоксины могут выступать основой для фармакологических препаратов, направленных на восстановление редокс-статуса в поврежденной эпителиальной ткани.

*Работа поддержана грантами РФФИ 13-04-00537, РФФИ 13-04-00763 и Грантом Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».*

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ С ЭРИТРОЦИТАМИ И РЕГУЛЯЦИЯ ИХ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ****Interaction of myeloperoxidase with red blood cells and regulation of their structural and functional properties**

***Горудко И.В.1, Шамова Е.В.1, Григорьева Д.В.1, Соколов А.В.2,3, Васильев В.Б.2, Черенкевич С.Н.1, Панасенко О.М.3***

1 – Белорусский государственный университет, кафедра биофизики, 220030, Минск, пр. Независимости, 2

2 – ФГБНУ «Институт Экспериментальной Медицины», 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12

3 – ФГБУН НИИ физико-химической медицины ФМБА России, 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, 1а; e-mail: irinagorudko@rambler.ru

Структурные свойства мембран эритроцитов во многом определяют реологические характеристики крови, обеспечивают целостность клеток в кровотоке при их значительной деформации. Выявлен ряд факторов, способных изменять структурные свойства эритроцитов, среди которых важная роль принадлежит продуктам секреции нейтрофилов. Одним из основных ферментов, секретируемых лейкоцитами во внеклеточное пространство в очагах воспаления, является белок азурофильных гранул – миелопероксидаза (МПО). Участие МПО в регуляции функциональной активности разных типов клеток обусловлено двумя механизмами: 1) через продукцию гипогалоидных кислот, обладающих высокой галогенирующей и окислительной способностью; 2) непосредственным связыванием фермента с компонентами клеточной поверхности. В данной работе исследовано взаимодействие МПО с поверхностью эритроцитов и ее влияние на структурно-функциональные свойства этих клеток.

С помощью лигандного Вестерн-блоттинга установлено, что МПО связывается на поверхности эритроцитов с белком полосы 3, гликофоринами А и В. Данное взаимодействие имеет электростатическую природу, поскольку зависело от обработки мембранных белков эритроцитов нейраминидазой, которая отщепляет сиаловые кислоты и снижает отрицательный заряд клеточной поверхности, и уменьшалось при повышении ионной силы выше 200 мМ NaCl, а также при pH ниже 6,0 и выше 7,5. При действии МПО концентрационно-зависимым образом снижался индекс ригидности эритроцитов, который определяли методом измерения начальной скорости протекания суспензии клеток через ядерные мембранные фильтры с диаметром пор 3 мкм под действием силы тяжести на приборе ИДА-1 (Россия). Кроме того, после инкубации эритроцитов с МПО уменьшалась устойчивость клеток к кислотному и осмотическому гемолизу.

Используя метод пэтч-кламп в режиме фиксации тока и конфигурации «cell attach» было получено, что МПО инициирует изменение трансмембранного потенциала клетки. Так, после добавления МПО к суспензии эритроцитов наблюдалась небольшая по продолжительности и величине эффекта стадия деполяризации с последующей гиперполяризацией плазматической мембраны эритроцитов. С применением ингибиторов и блокаторов ионных каналов установлено, что в присутствии МПО изменяется проницаемость мембраны эритроцитов для ионов  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Cl^-$  и  $Na^+$ . Важно отметить, что МПО, модифицированная при действии гипохлорита, теряла способность связываться с эритроцитами и изменять их структурно-функциональные свойства. В целом, полученная информация важна для выявления механизмов, способствующих нарушению деформируемости эритроцитов и процессов микроциркуляции при воспалительных заболеваниях.

*Работа поддержана БРФФИ (Б14Р-035) и РФФИ (14-04-900007).*

## МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗОЙ ДЕГРАНУЛЯЦИИ НЕЙТРОФИЛОВ

### Regulation of neutrophil degranulation by myeloperoxidase

**Григорьева Д.В.1, Горудкой В.1, Соколов А.В.2,3, Костевич В.А.2,3, Панасенко О.М.3**

1 – Белорусский государственный университет, кафедра биофизики, 220030, Минск, пр. Независимости, 2

2 – ФГБНУ «Институт Экспериментальной Медицины», 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12

3 – ФГБУН НИИ физико-химической медицины ФМБА России, 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, 1а

*e-mail: dargr@tut.by*

Миелопероксидаза (МПО) – гемсодержащий гликопротеин азурофильных гранул нейтрофилов, высвобождающийся во внеклеточное пространство в очагах воспаления. Генерируемые в результате функционирования пероксидазного и галогенирующего циклов МПО окислители (НОСl, НОВr, свободные радикалы и др.) составляют основу самой эффективной бактерицидной системы лейкоцитов. Однако, МПО способна проявлять регуляторные свойства вне зависимости от своей ферментативной активности, непосредственно связываясь с плазматической мембраной клеток и модифицируя их структурно-функциональные свойства. Целью данной работы явилось выяснение механизмов, участвующих в регуляции дегрануляции нейтрофилов при действии МПО.

Выявлено, что МПО инициирует дегрануляцию азурофильных и специфических гранул нейтрофилов, регистрируемую по выходу во внеклеточную среду эластазы, лактоферрина и лизоцима. Экзоцитоз содержимого гранул нейтрофилов ингибировался в присутствии генестеина – ингибитора тирозинкиназ, а также вортманнина – ингибитора фосфотидилинозитол-3-киназ. Ранее нами было показано, что связывание МПО с CD11b субъединицей  $\beta_2$ -интегрина нейтрофилов вызывает увеличение внутриклеточной концентрации свободных ионов  $Ca^{2+}$  в цитозоле, обусловленное как выходом  $Ca^{2+}$  из внутриклеточных депо, так и входом  $Ca^{2+}$  извне через каналы плазматической мембраны. В данной работе зависимость МПО-индуцированной дегрануляции нейтрофилов от  $Ca^{2+}$ -сигнализации была продемонстрирована с использованием метоксиверапамила – ингибитора потенциал-зависимых  $Ca^{2+}$ -каналов L-типа, который ингибировал выход лактоферрина и эластазы, и  $NiCl_2$  – блокатора  $Ca^{2+}$ -каналов T-типа, который ингибировал выход эластазы из нейтрофилов, стимулированных МПО.

Поскольку индуцированный экзоцитоз содержимого гранул нейтрофилов ассоциирован с перестройкой элементов цитоскелета, нами также было исследовано состояние актинового цитоскелета нейтрофилов после инкубации клеток с МПО. С использованием лазерной конфокальной микроскопии была осуществлена визуализация F-актина с помощью флуоресцентного красителя флуоресцеин-фаллоидина, который избирательно связывается с микрофиламентами. Было установлено, что в присутствии МПО нейтрофилы изменяют свою форму, наблюдались выраженные морфологические изменения в виде образования псевдоподий на поверхности клетки.

Обобщив вышесказанное можно заключить, что МПО, высвобождаемая из азурофильных гранул нейтрофилов в очагах воспаления, связываясь с CD11b субъединицей  $\beta_2$ -интегрина нейтрофилов, через активацию тирозинкиназ, фосфотидилинозитол-3-киназы,  $Ca^{2+}$ -сигнализацию и реорганизацию актинового цитоскелета стимулирует дегрануляцию нейтрофилов с высвобождением МПО во внеклеточное пространство и дальнейшую активацию нейтрофилов в очагах воспаления через аутокринный механизм.

*Работа поддержана РФФИ (гранты 15-34-50014, 14-04-900007) и БРФФИ (Б14Р-035).*

**ФАКТОРЫ СПОСОБСТВУЮЩИЕ И ПРЕПЯТСТВУЮЩИЕ ИНДУКЦИИ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ПРОНИЦАЕМОЙ ПОРЫ И РАЗВИТИЮ ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ ПРИ ДИАБЕТЕ 2 ТИПА****Factors promoting and preventing induction of mitochondrial permeability transition pore and development of cirrhosis at type 2 diabetes****Гришина Е.В.1, Галимова М.Х.1, Джафаров Р.Х.3, Лобанов А.В.4, Сергеев А.И.2, Федотчева Н.И.1, Дынник В.В.1**

1 – Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, РФ, 142290

2 – Институт биофизики клетки РАН, Пущино, РФ, 142290, Московская обл., Пущино

3 – Азербайджанский государственный медицинский университет, AZ-1022, Баку, Азербайджан, ул. Бачиханова, 23

4 – Филиал института биоорганической химии им. Шемякина РАН, Пущино, РФ, проспект Науки, д. 6. E-mail: Dynnik@rambler.ru

Цели работы: в экспериментах на моделях животных с ожирением и диабетом 2 типа (D2T), а также на гомогенатах и изолированных митохондриях печени, в сочетании с анализом математических моделей, исследовать влияние субстратов, образующих АцетилКоА, и иона аммония на индукцию митохондриальной циклоспорин-чувствительной поры (mPTP) в нормальных условиях и в условиях развития цирроза печени и гипераммонемии при D2T; а также выявить факторы, препятствующие или замедляющие образование mPTP. Окисление пирувата, короткоцепочечных и длинноцепочечных жирных кислот в митохондриях разных типов, сопряженное с образованием Acetyl-CoA, может приводить (при избытке этих субстратов) к ингибированию дыхания митохондрий и индукции mPTP в норме, при ожирении и диабете 2 типа (D2T). Как показывает анализ моделей, механизм ингибирования дыхания и цикла Кребса включает две компоненты – прямое ингибирование различных дегидрогеназ избытком образующихся AcylCoA и хорошо известное [1]ацетилирование ряда белков и ферментов (цикла Кребса, цикла мочевины, транспорта аденилатов и др.), которое также приводит к ингибированию их функций. Ацетилирование циклофилина D (CypD)-одного из структурных компонентов поры, как известно, способствует индукции mPTP и гибели клеток по типу некроза или апоптоза. В наших экспериментах пируват пальмитоилкарнитин вызывали обратимое ингибирование дыхания и индуцировали открытие чувствительной к циклоспорину-A mPTP. Индукция mPTP активировалась ионами кальция и ингибировалась донором NO -SNAP и NAD, – коферментом и субстратом реакций деацетилирования. Наличие сукцината и L-аргинина также препятствовало образованию поры. В условиях ожирения и D2T открытие поры стимулировалось меньшими концентрациями L-пальмитоилкарнитина, чем в норме в печени здоровых животных. Ацетилирование и ингибирование ферментов цикла мочевины AcylCoA приводило к развитию гипераммонемии в процессе развития D2T, фиброза и цирроза печени. При этих патологиях активирующее действие на индукцию mPTP оказывали ионы аммония, снижая более чем в 2 раза концентрацию L-пальмитоилкарнитина, необходимую для открытия поры. Анализ математических моделей показал, что благодаря ингибированию киназы пируватдегидрогеназы (PDK) пируватом, фосфорилирование пируватдегидрогеназы (PDH) киназой сильно уменьшается, что делает возможной продукцию ацетил-CoA в большом диапазоне концентраций пирувата. Полученные данные показывают, что при избытке субстратов, продуцирующих ацетил-CoA, возрастает вероятность открытия mPTP, особенно при патологиях, связанных с ожирением и D2T. Возможность ингибирования mPTP посредством NO, NAD указывает на участие реакций фосфорилирования и ацетилирования/деацетилирования в этом процессе и открывает новые возможности для поиска методов фармакологической коррекции таких патологических процессов.

## ДЕТЕКЦИЯ ВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОАКУСТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

*О.И. Гулий<sup>1;2;3</sup>, Б.Д.Зайцев<sup>4</sup>, С.А. Павлий<sup>5</sup>, А.М. Шихабудинов<sup>4</sup>, Л.А. Дыкман<sup>1;3</sup>, С.А. Староверов<sup>1;2;3</sup>, О.В. Игнатов<sup>1</sup>*

1 – Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

2 – Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, г. Саратов

3 – Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт РАН, г. Саратов

4 – Саратовский филиал Института радиотехники и электроники РАН, г. Саратов

5 – Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, г. Саратов

В последние годы активно развиваются исследования в области разработки новых методов детекции вирусов в различных образцах для получения результата за короткое время. Для идентификации вирусов используют различные подходы, такие как микробиологические и биохимические тесты, методы генной инженерии и иммунологические методы. Для анализа биологических взаимодействий широко используются акустические методы, принцип действия которых основан на регистрации биоспецифических реакций в жидкой суспензии, контактирующей с поверхностью пьезоэлектрика. При взаимодействии бактериофагов и специфических АТ происходит изменение вязкоупругих и электрических свойств жидкости. При контакте этой суспензии со свободной поверхностью пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем эти изменения приводят как к сдвигу его резонансной частоты, так и к изменению частотных зависимостей электрического импеданса. Последний параметр является наиболее чувствительным для детекции бактериофагов в суспензии, и именно он использовался при проведении исследований. В экспериментах использовался биологический датчик на основе резонатора с поперечным возбуждающим электрическим полем, разработанный в СФИРЭ им. В.А. Котельникова (г. Саратов), эксперименты проводились совместно с сотрудниками данного института в лаборатории физической акустики. Исследовалась возможность детекции бактериофагов на примере фага М13К07 непосредственно в жидкой фазе при их взаимодействии со специфическими антифаговыми АТ.

Получены антитела, специфичные к бактериофагу М13К07, и с помощью указанного выше акустического биологического датчика проводилось исследование взаимодействия вирусов со специфическими антителами. Информационным сигналом датчика служили частотные зависимости реальной и мнимой частей электрического импеданса, которые измерялись с помощью измерителя LCR-параметров в частотном диапазоне 6-7 МГц. Анализируемая суспензия контактировала со свободной от электрических электродов стороной резонатора. Регистрировали изменения указанных выше зависимостей при взаимодействии бактериофага М13К07 с разным количеством АТ. Установлено, что частотные зависимости реальной и мнимой частей электрического импеданса резонатора, нагруженного суспензией бактериофага со специфическими АТ, значительно отличаются от зависимостей резонатора с контрольной суспензией без АТ. Определен нижний предел возможного определения бактериофагов, который составляет  $\sim 10^6$  фагов/мл при их взаимодействии со специфическими антителами. Установлено, что в присутствии посторонних вирусных частиц, также возможна детекция исследуемого бактериофага в смешанной суспензии с использованием специфичных антител. Полученные результаты показывают перспективность использования пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем и демонстрируют возможность разработки на его основе биологического датчика для определения концентрации вирусных частиц при их взаимодействии со специфическими АТ. Мы полагаем, что полученные результаты могут быть использованы для создания тест-системы детекции вирусных частиц.



**ПОЛУЧЕНИЕ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ HER2-СПЕЦИФИЧНОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ИММУНОТОКСИНА****Preparation of liposomal form of HER2-specific antitumor immunotoxin**

***Гурьев Е.Л.1, Антонова Н.О.1, Юдинцев А.В.1, Третьяков А.А.1, Стрёмовский О.А.2, Деев С.М.1,2, Звягин А.В.1***

1 – ННГУ им. Н.И. Лобачевского – Нижний Новгород, 603950, пр. Гагарина, 23;

2 – ИБХ им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Тел.: +7(831)462-32-13; e-mail: ksonm06@yandex.ru

Ведущим трендом в области разработки новых методов терапии онкологических заболеваний сегодня является персонализированный подход, основанный на использовании таргетных препаратов. Такие препараты специфически связываются с опухолевыми клетками определенного фенотипа, обеспечивая их селективную элиминацию в организме. К таргетным препаратам относятся, в частности, иммунотоксины – рекомбинантные молекулы, состоящие из двухструктурно и функционально независимых модулей: нацеливающего, специфически связывающегося с молекулой-мишенью, и эффекторного (цитотоксического).

Целью данной работы являлось получение липосомальной формы иммунотоксина, специфичного к онкомаркеру HER2. Липосомальная форма призвана улучшить фармакокинетику и увеличить селективную доставку препарата за счет эффекта повышенной проницаемости сосудов опухоли для крупных объектов и их удержания в опухолевой ткани вследствие отсутствия адекватного лимфатического оттока. В работе использован рекомбинантный иммунотоксин DARPIn-ETA, направляющим модулем в котором является высокоаффинный пептид неиммуноглобулиновой природы, DARPIn-29 [1], специфичный к рецептору HER2, а в качестве токсического модуля (ETA) выступает фрагмент природного экзотоксина А из *Pseudomonas aeruginosa*. Однослойные липосомы (100 нм) из смеси фосфолипидов получены методом экструзии. Поверхность липосом была модифицирована полиэтиленгликолем (ПЭГ-2000) путем включения в состав смеси липидов конъюгата ПЭГ с фосфатидилэтаноламином (ФЭ). Для обеспечения возможности визуализировать липосомы, в их состав был включен конъюгат ФЭ с родамином. Присоединение рекомбинантного иммунотоксина DARPIn-ETA к флуоресцентным липосомам проводили с использованием линкера нулевой длины [2]. Конъюгаты отделяли от не связавшегося белка гель-фильтрацией. Продемонстрировано селективное связывание липосом, конъюгированных с DARPIn-ETA, с клетками, экспрессирующими рецептор HER2. С помощью МТТ-теста показано, что DARPIn-ETA в липосомальной форме значительно снижает жизнеспособность HER2-экспрессирующих клеток SKBR-3 и M-HeLa, практически не влияя в тех же концентрациях на жизнеспособность HER2-отрицательных клеток CHO. Предполагается, что липосомальный препарат на основе DARPIn-ETA обеспечит защиту иммунотоксина от клеток иммунной системы в кровотоке за счет покрытия ПЭГ, высокую селективность доставки иммунотоксина в опухоль за счет размера липосом, специфическое токсическое действие по отношению к HER2-экспрессирующим клеткам, а также возможность визуализировать опухоль с диагностическими целями методами флуоресцентного имиджинга за счет родамина. Кроме этого, использование липосом позволяет в дальнейшем включить в состав препарата дополнительные диагностические или терапевтические агенты, увеличив его функциональность и эффективность действия.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки (соглашение RFMEFI57814X0030)*

1. Steiner D., Forrer P. et al. / J. Mol. Biol., 2008. V. 382, №5. P. 1211-27.
2. Hermanson G. Bioconjugate Techniques. Academic Press 2008. P. 219-23.

## НЕСООТВЕТСТВИЕ МЕЖДУ СОДЕРЖАНИЕМ СЕЛЕНА И АКТИВНОСТИ ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗЫ В ЭРИТРОЦИТАХ С ДЕФИЦИТОМ ГЛЮКОЗА-6-ФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ

### DISCREPANCY BETWEEN CONTENT SELENIUM AND GLUTATHIONE PEROXIDASE ACTIVITY IN ERYTHROCYTES WITH GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE DEFICIENCY

*Гусейнов Т.М., Гулиева Р.Т.*

Институт Физики НАН Азербайджан, пр. Г. Джавид 33, AZ-1143

*thuseynov@physics.ab.az*

Врожденный дефицит фермента глюкоза-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФД) широко распространен в Азербайджане. Он характеризуется высокой чувствительностью мембран эритроцитов к окислительному стрессу. Одним из ключевых антиокислительных факторов (АО), предохраняющих от окислительного стресса мембран эритроцитов и гемоглобин является селен, действующий как посредством глутатионпероксидазного (ГП) механизма, так непосредственным включением в Hb. Таким образом здесь интересно изучить роль селена и селенэнзима глутатионпероксидазы. С этой целью мы определяли содержание селена и активность ГП у людей, проживающих в районе Астара Азербайджанской Республики, регион, где эта энзимопатия распространена с высокой частотой.

Содержание селена в эритроцитах с Г-6-ФД энзимопатией всего на 10-15% оказалось меньше, чем в нормальных образцах. Однако активность ГП в эритроцитах с дефицитом Г-6-ФД уменьшена более, чем на 50%. Таким образом, ГП активность в эритроцитах с дефицитом Г-6-ФД не является адекватным показателем, отражающим статус селена. Это очевидное различие может объясняться фактом уменьшения НАДФ в эритроцитах с дефицитом Г-6-ФД. Это в свою очередь приводит к уменьшению восстановленного глутатиона, который является главным субстратом для фермента ГП.

Измерения показывают, что количество восстановленного глутатиона в лизате эритроцитов в норме составляет  $4,8 \pm 0,9$  мкМ/г Hb. Однако, в эритроцитах с дефицитом Г-6-ФД этот показатель уменьшается до  $3,1 \pm 0,6$  мкМ/г Hb. Искусственной коррекцией уровня восстановленного глутатиона, путем добавления химического предшественника глутатиона ( $10^{-3}$  М N-ацетилцистеин) в инкубационную среду, приводящая к увеличению главного субстрата ГП, возможно также увеличение активности ГП. Отсюда следует, возможность нормализации активности ГП увеличением количества его субстрата в эритроцитах с Г-6-ФД дефицитом.

**ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ РАЗЛИЧНЫХ КОМПЛЕКСОВ КАРНОЗИНА И АНЗЕРИНА С ЦИНКОМ****Theoretical study of the spatial structure of various complexes carnosine and anserine with zinc****Демухамедова С.Д.**

Институт Проблем физики, Бакинский Государственный Университет, AZ-1148, Баку, Азербайджан, ул. З.Халилова, 23

Тел.: (994-12) 510-18-22; факс: (994-12) 498-33-76; e-mail: svetlanabest@mail.ru

Карнозин – природный дипептид, содержится в различных тканях организма и выполняет важные физиологические функции. Характеризуется как высокоэффективный антиоксидант, иммуномодулятор и противовоспалительный агент. Природный аналог карнозина анзерин часто оказывается эффективнее карнозина. Карнозин и анзерин образуют комплексы с переходными металлами, от участия которых зависят многие функциональные свойства. Наибольший интерес представляют комплексы с цинком, имеющие перспективные применения в медицине. Экспериментально показано, что комплекс карнозина с цинком существует также в полимерном состоянии.

Данная работа посвящена теоретическому исследованию пространственной структуры мономерных, димерных и полимерных комплексов карнозина с цинком и мономерных комплексов анзерина с цинком в двух таутомерных формах  $N^1H$  и  $N^3H$  имидазольного кольца. Расчеты проводились с использованием метода молекулярной механики ММ+. Полученные координаты ядер положены в основу расчета полуэмпирическим квантово-химическим методом PM3. Нейтральный атом цинка образует координационные связи с атомами кислорода и двумя атомами азота гистидиновой цепочки, образуя координационную полость, состоящую из двух хелатных колец – пяти и шестичленных.

При образовании мономерных комплексов карнозина полная энергия по сравнению с его свободными формами уменьшается на 192.3 и 217.7 ккал/моль в комплексах  $N^1H+Zn$  и  $N^3H+Zn$  соответственно. Мономерные комплексы анзерина с цинком оказываются предпочтительней их свободных форм на 235.7 и 238.8 ккал/моль для комплексов  $N^1H+Zn$  и  $N^3H+Zn$ . В обоих случаях более стабильны комплексы  $N^3H+Zn$ . Сравнительный анализ энергетических параметров анзерина и карнозина показал, что анзерин на 3473.5 и 3472.4 ккал/моль энергетически предпочтительнее карнозина для таутомерных форм  $N^1H$  и  $N^3H$ . Мономерные комплексы анзерина с цинком дают выигрыш в энергии по сравнению с соответствующими комплексами карнозина с цинком на 3516.9 и 3493.5 ккал/моль для форм  $N^1H+Zn$  и  $N^3H+Zn$ . Образование димерных комплексов обеих форм карнозина с цинком уменьшает напряжение координационной полости и выигрыш в полной энергии по сравнению с мономерными комплексами  $N^1H+Zn$  и  $N^3H+Zn$  составляет 64751.4 и 64207.7 ккал/моль соответственно. Полимерные цепочки собирались для различного числа повторяющихся мономерных звеньев карнозина  $N^1H+Zn$  ( $n= 6, 8, 10, 12, 16, 18, 20, 25$ ). Показано, что увеличение длины полимерной цепочки на каждые две повторяющиеся единицы приводит к значительному понижению энергии на  $\sim 129,5 \cdot 10^3$  ккал/моль. Рассмотрены модели с разными углами присоединения каждого последующего звена –  $180^\circ$ ,  $120^\circ$ ,  $60^\circ$  и  $0^\circ$ . Различие в угле поворота, не меняя энергетические параметры, отражается на пространственной укладке цепи. При углах  $180^\circ$  и  $120^\circ$  получаются длинные развернутые цепочки, а при  $0^\circ$  и  $60^\circ$  – свернутые и спиральные. Полученные результаты могут быть полезными при моделировании и синтезе новых лекарственных препаратов на основе комплексов карнозина и анзерина с цинком.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС ПРИ ПОВТОРЯЮЩЕМСЯ СТРЕССОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

### Study of electrokinetic properties of rat erythrocytes at repeating stressful influence

***Дерюгина А.В., 1 Мартусевич А.А. 2***

1 – ФГАОУ ВПО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» 603950, Нижний Новгород, пр.Гагарина, 23

2 – ФГБУ «ПФМИЦ» Минздрава России, 603155, Нижний Новгород, Верхне-Волжская наб., 18/1

Являясь типовой реакцией на раздражитель, стресс-реакция включает как специфический, так и неспецифический компонент и затрагивает все структуры организма, в том числе, его мембранно-клеточный уровень. Однако на сегодняшний день экспериментальные данные относительно влияния длительных стрессовых воздействий на состояние гипофизарно-надпочечниковой системы носят противоречивый характер. Ранее нами при изучении реакции организма на острый стресс было выявлено стереотипное изменение электрофоретической подвижности эритроцитов (ЭФПЭ) связанное с активацией симпатoadреналовой и гипофизарно-надпочечниковой систем. Кроме того, было показано, что изменения ЭФПЭ реализуются через типовые структурные перестройки мембран эритроцитов, в процессе свободнорадикального окисления (Крылов, Дерюгина, Гришина, 2010). Целью данной работы явилось исследование реагирования ЭФПЭ при действии стресса, вызванного повторяющимися в течение нескольких дней однотипными видами воздействия.

*Материал и методы исследования.* Работа проведена на 30 нелинейных белых крысах- массой 200-250 г. Состояние повторяющегося стресса у животных моделировали физической нагрузкой и воздействием пчелиного яда. Животные были разделены на 2 равные группы. Крыс 1-й группы вынуждали плавать 15 мин. в холодной воде с грузом 10% от массы тела животного в течение 7 дней, 2-й группе животных внутрибрюшинно вводили пчелиный яд в дозе 0,5 мг/кг в течение 7 дней. Кровь для анализа брали из подъязычной вены крыс до и через 1 час, 1 сутки и 1 неделю после последнего воздействия. Контролем служили интактные животные. *Результаты.* Исследование действия повторяющегося стресса на ЭФПЭ показало сходную тенденцию изменения показателя с действие острого стресса. Так, ЭФПЭ к 1 часу после последнего воздействия на животных уменьшалась, а возрастала к 1 суткам – 1 неделе эксперимента. Пчелиный яд вызывал более значимые изменения уровня ЭФПЭ (амплитуда колебаний значения параметра была существенно выше при аналогичной для физической нагрузки тенденции изменения). Таким образом, анализ полученных результатов свидетельствует, что повторяющийся стресс, так же как и острый стресс вызывает первоначальную активацию симпатoadреналовой системы, о чем свидетельствует падение ЭФПЭ, с последующей активацией гипофизарно-надпочечниковой системы (рост ЭФПЭ). При этом вторая фаза существенно более продолжительна во времени при повторяющемся стрессе по сравнению с действием острого стресса. По-видимому, усиление второй фазы ЭФПЭ объясняется тем, что при многократном воздействии происходит «суммирование эффектов» в силу того, что в течение суток сдвиги, вызванные воздействием в состоянии гомеостаза организма, не успевают полностью исчезнуть. Продолжительная компенсаторная реакция, связанная с активацией гипофизарно-надпочечниковой системы, приводит к повышению уровня циркулирующих глюкокортикоидов, действие которых направлено на элиминацию патогенного стресс-фактора.

**ИНГИБИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ОКСИБИОЛА НА ПРОЦЕСС МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ РЕАКТИВНЫМИ АЛЬДЕГИДАМИ****The inhibitory action of oxibiol on the protein modification by reactive aldehydes**

***Донцов А.Е., Сакина Н.Л., Кузнецов Ю.В., Островский М.А.***

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4  
e-mail: adontsov@sky.chph.ras.ru

Известно, что реактивные альдегиды, образующиеся в тканях глаза в основном в результате процессов пероксидного окисления липидов, гликирования и фотоокислительной дегградации бисретиноидных флуорофоров, легко взаимодействуют с белками, образуя различные внутри- и межмолекулярные ковалентные аддукты [1]. Модификация белков изменяет их функциональную активность и макромолекулярные взаимодействия, нарушая, таким образом, нормальное функционирование клеток. Накопление модифицированных белков и последующая активация соответствующих рецепторов в клетках ретиального пигментного эпителия и нейральной сетчатки вносит существенный вклад в процесс старения и развития различных возрастных патологий, включая возрастную макулярную дегенерацию, катаракту и диабетическую ретинопатию. Ранее нами был синтезирован и изучен новый водорастворимый антиоксидант гетероароматического ряда – оксибиол (6-гидрокси-2-аминобензотиазола N-ацетил-L-цистеинат) [2], обладающий почти на порядок большей антиоксидантной и антирадикальной активностью, чем известный антиоксидантный препарат мексидол. **Цель** настоящего исследования – выяснение ингибирующей активности оксибиола в отношении процесса модификации белков реактивными альдегидами. Образование модифицированных белков регистрировали по возрастанию интенсивности флуоресценции при 440-460 нм и по увеличению абсорбции при 320 нм. Показано, что оксибиол в миллимолярных концентрациях ингибирует процессы модификации белков наружных сегментов фоторецепторов (НСФ), а также сывороточного альбумина и гемоглобина, индуцированные реакцией белков с редуцирующими сахарами, продуктами пероксидации липидов и реактивными диальдегидами (метилглиоксаль, малоновый диальдегид). Оксибиол был более эффективным ингибитором реакции образования флуоресцирующих продуктов в НСФ, чем известный антигликирующий агент аминогуанидин. Ингибирующая активность оксибиола в отношении модификации белков малоновым диальдегидом была сопоставима с действием пиридоксамина – сильнодействующего антигликирующего препарата. В целом полученные результаты свидетельствуют, что защитное действие оксибиола на процесс модификации белков связано с ингибированием генерации карбонильных соединений в реакции Майяра, а также с непосредственным взаимодействием его с дикарбонильными интермедиями, но не связано с хелатированием ионов металлов переменной валентности и со способностью разрушать уже сформированные продукты позднего гликирования. Обнаруженное свойство оксибиола тормозить накопление поздних продуктов гликирования в фоторецепторных клетках, позволяет говорить о перспективности использования этого антиоксиданта в терапии возрастных заболеваний глаза.

1. Aldini G., Grune T., Bartosz G./ Free Radic Research, 2013, V. 47.

2. Донцов А.Е., Коромыслова А.Д., Кузнецов Ю.В., Сакина Н.Л., Островский М.А. Известия РАН. Серия химическая, 2014, № 5, с.1159-1163.

## СУПЕРОКСИДНЫЕ РАДИКАЛЫ В МИТОХОНДРИЯХ СЕРДЦА И АНТИОКСИДАНТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

### Oxygen free radicals in cardiac mitochondria and antioxidant action of pharmacological compounds

*Дудылина А.Л.1., Рууге Э.К.1,2, Иванова М.В.2, Гречникова М.А.2, Шумаев К.Б.2*

1 – Физический ф-т МГУ имени М.В.Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 2

2 – ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздрава России, 121552, Москва, 3-я Черепковская ул., 15а

Тел.: +7(495)414-67-52; факс: +7(495)414-66-99; e-mail: ruuge@mail.ru

Активные формы кислорода и азота, образуемые в митохондриях сердца, участвуют как в регуляторных и сигнальных событиях, так и в патофизиологических процессах, связанных с нарушением баланса между прооксидантными и антиоксидантными системами клетки. В настоящее время существенный интерес вызывают супероксидные радикалы, генерируемые в комплексе III митохондриальной дыхательной цепи и обладающие возможностью выхода в межмембранное пространство и цитозоль. Нами проведено исследование образования в митохондриях сердца супероксидных радикалов и антиоксидантного действия динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) с тиольными лигандами и ряда полифенольных соединений. В работе использовали методы ЭПР-спектроскопии спиновых ловушек и ЭПР-оксиметрии. В качестве спиновой ловушки применяли TIRON (4,5-диоксибензол-1,3-дисульфонат).

Нами показано, что ДНКЖ с разными лигандами разрушаются под действием супероксидного анион-радикала. На основе ДНКЖ с глутатионом в ФГБУ «РКНПК» Минздрава России создан препарат «Оксаком» для использования в качестве эффективного гипотензивного средства. Мы детально изучали взаимодействие этого препарата с супероксидными радикалами, генерируемыми митохондриями сердца крыс линии Wistar, а также различными модельными системами. Концентрация ДНКЖ в опытах с митохондриями варьировалась от 0,1 мкМ до 100 мкМ, измерения проводились как при комнатной (25°C), так и при нормальной физиологической температуре (37°C). При добавлении 10-100 мкМ ДНКЖ наблюдалось значительное уменьшение сигнала ЭПР от TIRON. При меньших концентрациях ДНКЖ эффект был не столь существенным, а после 5-10 мин инкубации происходило постепенное увеличение сигнала ЭПР спиновой ловушки. Необходимо отметить, что препарат «Оксаком» взаимодействовал эффективно с супероксидными радикалами при разных значениях парциального давления кислорода, включая условия глубокой гипоксии (1-5% O<sub>2</sub>).

Хорошо известно, что полифенольные соединения (флавоноиды и фенольные кислоты), повсеместно присутствующие в овощах и фруктах, традиционно охарактеризуются как природные антиоксиданты. Нами исследовано влияние ряда полифенолов (кверцетина, куркумина, кофейной кислоты и др.) на свободнорадикальные интермедиаты спиновой ловушки TIRON в условиях генерции супероксида изолированными митохондриями сердца, а также на индуцированное супероксидными радикалами разрушение тиольных ДНКЖ. Проведенные эксперименты показали, что максимальный антиоксидантный эффект проявляет кверцетин. Итак, механизм антиоксидантного действия изученных нами фармакологически значимых соединений может быть связан с регуляцией уровня супероксидных радикалов, являющихся предшественниками других активных форм кислорода и азота.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ, гранты 13-04-00967 и 15-04-05211.*

**КИНЕТИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ И ВЛИЯНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ И РАСТИТЕЛЬНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ (ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА)****Kinetic regularities in the development of experimental tumors and the effect of synthetic and plant antioxidants (treatment and prophylaxis)**

***Ерохин В.Н., Семенов В.А., Кременцова А.В., Володькин А.А., Мишарина Т.А., Бурлакова Е.Б.***

Институт биохимической физики им. Н.М.Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4  
Тел.: +7(495)939-71-78; факс: +7(495)939-71-34; e-mail: valery@sky.chph.ras.ru

В связи с ростом онкологических заболеваний важен поиск малотоксичных препаратов, которые могли бы затормозить или полностью предотвратить их развитие. К таким препаратам можно отнести и антиоксиданты. Изучались синтетические антиоксиданты (пространственно затрудненные фенолы):  $\beta$ -(4-гидрокси-3,5-дитретбутилфенил)пропионо-вая кислота (фенозан) (1) и 1-карбокси-1-(N-метиламид)-2-(3',5'-дитретбутил-4'-гидроксифенил)-пропанаты натрия и калия (анфены) (2), а также природный антиоксидант растительного происхождения – эфирное масло чабера садового (*Satureja hortensis*)(3). Изучение противоопухолевой активности указанных соединений проводилось на перевивной асцитной саркоме 37 и спонтанном лейкозе у мышей AKR. Нами были подробно изучены кинетические закономерности развития этих опухолей (4,5) и изменения различных физико-химических параметров (концентрация свободных радикалов в саркоме 37, спектры ЯМР лимфоцитов тимуса и лимфоузлов мышей линии AKR). Анфены в дозе 100 мг/кг приводили к 100% торможению развития саркомы 37. Фенозан в сверхмалой дозе  $10^{-14}$  моль/кг увеличил среднюю и максимальную продолжительность жизни мышей с лейкозом AKR, снизил процент возникновения лейкозов, а в опытах, где наблюдалась аномально низкая продолжительность жизни больных животных, фенозан увеличивал максимальную продолжительность жизни почти в 1.5 раза. При введении эфирного масла чабера с водой (доза  $5 \times 10^{-7}$  моль/кг в сутки) и с кормом (концентрация 2,5 мкг/г) отмечено более позднее начало гибели животных в опыте по сравнению с контролем, а также заметное увеличение средней продолжительности жизни (примерно на 20 %). Применение же препарата с едой увеличило максимальную продолжительность жизни мышей и снизило процент возникновения лейкозов (со 100% до 63%). Полученные результаты позволяют считать перспективным использование антиоксидантов в лечебных и профилактических целях для защиты живых организмов от канцерогенных факторов окружающей среды.

1. Ерохин В.Н., Кременцова А.В и др. /Известия РАН, сер. биол., 2007. №5. С.583-590.
2. Володькин А.А. Ерохин В.Н. и др. /Химическая физика, 2013. Т.32. №2. С.66-72.
3. Бурлакова Е.Б., Ерохин В.Н. и др. /Известия РАН, сер. биол., 2010. №6. С.711-718.
4. Миненкова Е.А., Ерохин В.Н. и др. /Труды МОИП, 1970. Т.32. С.161-167.
5. Ерохин В.Н. и Бурлакова Е.Б. /Радиац.биология. Радиоэкология, 2003. Т.43. №2. С.237-241.

## КВАЗИУПРУГОЕ РАССЕЯНИЕ СВЕТА В БИМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

### Quasi-elastic light scattering in biomedical research

**Иванов А.В., Певгов В.Г.1**

1 – ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», 115478, Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail:

ivavi@yandex.ru

2 – МФТИ (ГУ), 141700, Московская обл., г. Долгопрудный, Институтский пер., 9, e-mail:

pevgov@bk.ru.

Распространение нанотехнологий на биомедицинские разработки неизбежно влечет за собой необходимость измерения параметров наноструктур, контроля их качества, стандартности и динамики изменений. В первую очередь это относится к распределению размеров экзогенных нанометровых объектов как органической, так и неорганической природы, а также к исследованию субфракционного состава нативных биологических жидкостей. Для контроля параметров биологических жидкостей, параметров фармпрепаратов, их стабильности во времени, зависимости параметров от особенностей технологии изготовления наиболее подходит метод квазиупругого (динамического) рассеяния света, лазерная корреляционная спектроскопия (ЛКС). Этот метод позволяет снимать распределение наноразмерных частиц по их подвижности в полярной жидкости, что напрямую связано с их размерами. Диапазон измеряемых размеров наночастиц в растворах от 1 до 10000 нанометров при динамическом диапазоне по концентрации, достигающем нескольких порядков. ЛКС получила широкое распространение в медицинской практике, молекулярной биологии, на фармацевтических производствах и во многих других областях.

Самые первые применения ЛКС в вирусологии показали большую перспективу метода. В силу высокой мутабельности ряда вирусов, в частности ВИЧ, статистические характеристики, средний размер и дисперсия размеров, играют важную роль для метрологической идентификации и паспортизации культуральных штаммов. Размер вириона является ключевым критерием для его надлежащей классификации и имеет определяющее значение для многих практических приложений. Нами проведено определение размеров более 20 различных штаммов вирусов.

Основные направления применения ЛКС в медицине: 1) **Контроль размеров неорганических наноматериалов, используемых в терапии опухолей** (наночастицы золота, кремния, кварца, ферромагнетики, фуллерены и пр., их комплексы с химиопрепаратами), в частности, при гипертермии и термотерапии; 2) **Создание композиционных многофункциональных нанопрепаратов направленного действия** (липосомальные и мицеллярные лекарственные формы; изучение и контроль конъюгатов моноклональных антител и векторных белков с активными химиопрепаратами для создания препаратов направленного действия; контроль и изучение комплексов препаратов с полимерами, меняющими их терапевтическую эффективность, в частности, при фотодинамической терапии; разработка композиционных нанопрепаратов для тераностики опухолей); 3) **Контроль технологических процессов в фармацевтических производствах**, стандартизация качества по заданному эталону; 4) Изучение субфракционного состава нативных биологических жидкостей с целью **разработки новых методик диагностики социально значимых заболеваний**. Метод ЛКС позволяет анализировать нативные жидкости человека (мочу, слюну, плазму/сыворотку крови др.), определяя в них сверхмалые количества внеклеточных везикул с размерами 10–3000 нм, характерных для определенных патологий, что позволяет формировать группы риска при скрининговом обследовании. Получены АСМ изображения внеклеточных везикул, соотнесенные с распределением их по размерам, при ряде заболеваний.



**УЛЬТРАЗВУКОВОЙ МОНИТОРИНГ РАЗВИТИЯ ПРОЦЕССОВ ФИБРИНОЛИЗА ПОД ДЕЙСТВИЕМ РЯДА ПРЕПАРАТОВ В УСЛОВИЯХ ИНТЕНСИВНОГО КРОВОТОКА *IN VITRO*****Ultrasonic monitoring of drug-induced fibrinolysis evolution in flowing blood *in vitro***

***Ивлев Д.А.1,2, Джумаева Ш.Н.1,2, Узлова С.Г.2, Гурия К.Г.1***

1 – Московский физико-технический институт, 141700, МО, Долгопрудный, Институтский пер., 9  
Тел.: +7 (495) 408-45-54 ;

2 – Гематологический научный центр Минздрава России, 125167, Москва, Новый Зыковский пр., д, 4

Тел.: +7 (495) 612 21 23; e-mail: ivlev.d@blood.ru

Заболевания, вызванные нарушениями гемодинамики, обусловленными сменой агрегатного состояния крови, являются одной из основных причин смертности в развитых странах [1]. Существующие методы контроля систем регуляции гемостаза инвазивны и достаточно длительны [2]. Разработка новых методов мониторинга агрегационной способности крови представляет большой интерес.

Ранее в нашей лаборатории для исследования процессов внутрисосудистого тромбообразования успешно применялись ультразвуковые методы [3]. Было показано, что ранние этапы свертывания крови в условиях интенсивного потока *in vitro* надежно регистрируются акустически [4]. Настоящая работа посвящена исследованию развития процессов фибринолиза в потоке под действием ряда препаратов.

Кровоток моделировался *in vitro* в замкнутой системе прозрачных силиконовых трубок. Развитие процессов тромбообразования и фибринолиза регистрировалось в реальном времени оптически и акустически. После появления в потоке первичных микросгустков фибрина специально сконструированный автоматический инжектор осуществлял ввод препарата. В работе использовались фибринолитики: «Стрептокиназа», «Актилизе», «Урокиназа медак». Использование инжектора позволило вводить фибринолитический агент на строго определенных стадиях развития процессов свертывания, «по ходу пьесы».

Эксперименты показали, что используемый акустический метод позволяет успешно производить мониторинг процессов фибринолиза как в плазме крови, так и в цельной крови, и эффективно координировать инъекцию фибринолитиков. Установлено, что своевременное введение каждого из изученных препаратов может приводить к полному очищению экспериментальной системы, ее оптической и акустической «прозрачности».

Полученные в работе результаты и разработанный программно-аппаратный комплекс могут быть использованы в дальнейшем для сравнительного анализа эффективности действия ряда фибринолитических препаратов, а так же для разработки протоколов их введения.

1. <http://www.who.int>

2. Guria K.G., Guria G.Th. Spatial aspects of blood coagulation: Two decades of research on the self-sustained traveling wave of thrombin // *Thrombosis Research*. 2015; 135(3):423-433.

3. Узлова С.Г., Гурия К.Г., Шевелев А.А., Васильев С.А., Гурия Г.Т. Акустически детектируемые внутрисосудистые микросгустки как предвестники послеоперационных осложнений. // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, Сердечно-сосудистые заболевания, 2008; 6, с.55-64.

4. Uzlova S.G., Guria K.G., Guria G.Th. Acoustic determination of early stages of intravascular blood coagulation. // *Philosophical Transactions of Royal Society A*, 2008; 366(1880), p.3649-3661.

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АНТИРАКОВОЙ АКТИВНОСТИ КАРДИОТОКСИНОВ ИЗ ЯДА КОБРЫ *N. NAJA*

### Molecular mechanisms of anticancer activity of *N. naja* cardiotoxins

**Игнатова А.А., Дубовский П. В., Уткин Ю.Н., Феофанов А.В.**

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Тел.: +7(495)727-44-98; факс: +7(495)330-50-33; e-mail: [peter@nmr.ru](mailto:peter@nmr.ru)

Цитолитические пептиды из яда змей, кардиотоксины (или цитотоксины, ЦТ) обладают широкой цитотоксической активностью [1]. Перспективным считается их использование в качестве цитотоксических агентов для антираковой терапии [2]. Известно, что ЦТ – высокомолекулярные полипептиды длиной ~60-ти аминокислотных остатков, обладающие сходной пространственной структурой. Последняя характеризуется трех-петлевой укладкой полипептидной цепи, стабилизированной четырьмя дисульфидными связями [3]. Актуальной задачей является поиск взаимосвязи между молекулярными характеристиками ЦТ и их цитотоксическими свойствами. В данной работе данная задача решена для ЦТ из яда кобры *N. naja* и клеток аденокарциномы легкого человека A549.

Фракционирование яда кобры *N. naja* позволило нам выделить и охарактеризовать пять цитотоксинов: ЦТ2, ЦТ7, ЦТ8, ЦТ9, ЦТ10 и кардиотоксин-подобный основной полипептид (CLBP). Клетки аденокарциномы легкого человека A549 высевали в 96-луночные планшеты (плотность посева  $1 \times 10^4$  кл/лунку) и выращивали в течение суток. Для определения цитотоксичности методом последовательных разведений с шагом в 2 раза к клеткам вносили исследуемые пептиды (диапазон тестируемых концентраций 0,8 – 200 мкМ) и перемешивали. Затем клетки инкубировали с пептидами в течение 3 ч (37°C, 5% CO<sub>2</sub>, 100% влажность). Гибель клеток A549 оценивали при помощи флуоресцентной микроскопии. Для выявления мертвых и живых клеток использовали окрашивание йодистым пропидием (проникает только в ядра мертвых клеток) и Hoechst 33342 (окрашивает все ядра). Долю погибших клеток определяли по флуоресцентным изображениям клеток в синей (Hoechst 33342) и красной (йодистый пропидий) областях спектра, полученным при помощи флуоресцентного микроскопа Axio Observer (Zeiss, Германия).

Анализ измеренных активностей показывает, что её увеличение коррелирует с положительным зарядом молекулы токсина и её гидрофобными свойствами в окончаниях трех петель, так называемым HTL-score [1]. Это указывает на то, что в основе данной активности лежит способность ЦТ взаимодействовать с липидными мембранами и вызывать их лизис. Для ЦТ из яда других кобр показано, что гибель клеток A549 происходит из-за накопления ЦТ в их лизосомах с последующим разрывом мембран лизосом [4]. Это позволяет предположить, что такой же механизм характерен и для ЦТ из яда *N. naja*. Интересно, что CLBP обладает более низкой активностью в отношении клеток A549, по сравнению с ЦТ из этого яда. Это может быть использовано в дальнейшем для идентификации полипептидов этого типа.

*Работа поддержана РФФИ (грант 13-04-02128).*

1. Dubovskii PV, Konshina AG, Efremov RG (2014) *Curr Med Chem* 21 (3):270-287
2. Dubovskii PV, Utkin YN (2015) *Curr Top Med Chem* 15 (7):638-648
3. Konshina AG, Dubovskii PV, Efremov RG (2012) *Curr Protein Pept Sci* 13 (6):570-584
4. Feofanov AV, Sharonov GV, Astapova MV, Rodionov DI, Utkin YN, Arseniev AS (2005) *Biochem J* 390 (Pt 1):11-18

**ОСОБЕННОСТИ ЗАМЕДЛЕННОЙ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ЭРИТРОЗИНА ПРИ ИЗМЕНЕНИИ КОНЦЕНТРАЦИИ КИСЛОРОДА В БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЯХ****Features of erythrosine delayed luminescence at oxygen concentration changes in biological tissues****Ишемгулов А.Т., Сокабаева С.С.**

Оренбургский государственный университет, г. Оренбург, пр. Победы, 13  
+7 (905) 81-06-556, [azamat.ischemgulov@yandex.ru](mailto:azamat.ischemgulov@yandex.ru), [rania.sokabaeva@gmail.com](mailto:rania.sokabaeva@gmail.com)

Сведения о динамике миграции и расходования кислорода в биологических тканях необходимы как для понимания разнообразных процессов в живых системах, так и разработки методов диагностики их состояния и фотодинамической терапии (ФДТ). Наибольшую ценность представляет информация о потреблении кислорода непосредственно в ходе ФДТ. В настоящей работе показано, что такую информацию можно получить, если регистрировать замедленную флуоресценцию (ЗФ), возникающую в результате аннигиляции синглетного кислорода (СК) с триплетными возбуждениями экзогенных фотосенсибилизаторов (ФС).

Исследована длительная люминесценция эритрозина в опухолях и здоровых тканях молочной железы лабораторных мышей. Образцы тканей извлекались в ходе операции и окрашивались путем помещения на 5 мин в водный раствор эритрозина исходной концентрации  $10^{-3}$  М. Источником возбуждения являлся твердотельный импульсный YAG-Nd лазер, данные регистрировались через монохроматор с помощью ФЭУ-84. Изучалась кинетика затухания ЗФ (570 нм) и фосфоресценции (680 нм) эритрозина в тканях при периодическом лазерном возбуждении импульсами длительностью 15 нс с плотностью мощности до  $1,5 \text{ МВт/см}^2$ .

Показано, что после окончания возбуждающего импульса в диапазоне времени от 0 до 20 мкс основной вклад в ЗФ эритрозина в биотканях при комнатной температуре и нормальном атмосферном давлении вносят реакции синглет-триплетной аннигиляции СК с оставшимися непотушенными триплетными возбуждениями красителя [1, 2]. В опухолях обнаружен эффект светового тушения ЗФ эритрозина при импульсно-периодическом возбуждении. Суть эффекта состоит в следующем. При возбуждении ЗФ красителя лазерными импульсами с частотой следования выше 5 Гц наблюдается снижение интегральной интенсивности свечения. Через 5-7 импульсов интенсивность ЗФ уменьшается в среднем на 25%. При этом примерно вдвое увеличивается эффективное время жизни флуоресценции. Через несколько секунд после окончания возбуждения форма кинетической кривой и длительность свечения полностью восстанавливаются и эффект можно наблюдать снова. Постоянная времени восстановления изначальной интегральной интенсивности флуоресценции в наших экспериментах составляла около 5 с. При возбуждении ЗФ с частотой менее 1 Гц эффект светового тушения ЗФ не наблюдается.

Световое тушение ЗФ обусловлено уменьшением концентрации СК в результате его связывания с субстратом. Потребление СК внутриклеточными элементами в ткани происходит быстрее, чем диффузия молекулярного кислорода из атмосферы. Изменения в кинетике ЗФ практически не оказывают влияния на кинетику фосфоресценции эритрозина. Это может быть обусловлено внутритканевой локализацией ФС в опухоли, когда часть красителя накапливается в областях, недоступных для кислорода. В здоровых тканях при аналогичных условиях тушение ЗФ практически не наблюдается. Полученные результаты могут служить основой для диагностики новообразований и мониторинга содержания кислорода в ткани в процессе ФДТ.

1. Letuta S.N. et al. / Russian Journal of Physical Chemistry A, 2013. Vol. 87. P. 1582–1587.
2. Celli J.P. et al. / Chem. Rev., 2010. Vol. 110. P. 2795–2838.

## МОДЕЛИРОВАНИЕ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ НАСЕЛЕНИЯ ЮГРЫ

### Modeling the age-related changes of cardio-vascular system in Ugra population

**Козлова В.В., Соколова А.А., Зимин М.И., Поскина Т.Ю.**

БУ ВО ХМАО-Югры «Сургутский государственный университет», 628415, РФ, ХМАО, Сургут, пр. Ленина, 1;

Тел.: +7(3462)763079; E-mail: kafedra\_bin@mail.ru

Возрастная динамика параметров вегетативной нервной системы (ВНС) женского населения Югры – Обского Севера России изучалась с использованием метода вариационной пульсоинтервалографии. Было обследовано 228 человек трёх возрастных групп по 38 человек в каждой: 1-я группа -18-35 лет; 2-я группа 35-50 лет; 3-я группа – старше 50 лет. Все наблюдаемые женщины были без патологий и жалоб на здоровье (согласно Хельсинской декларации давали добровольное согласие на обследование). Всего было 6 групп по 38 человек, из них 3 группы – аборигены (женщины – ханты) и 3 группы – пришлое население (работницы нефтегазового комплекса г.Сургут и Сургутского района). Регистрация основных параметров ВНС обследуемых производилась в общем пятнадцатимерном фазовом пространстве состояний в виде вектора  $x=x(t)=(x_1, x_2, \dots, x_m)^T$ , где  $m=15$ , которое минимизировалось до пяти:  $x_1$ –SIM–показатель активности симпатического отдела вегетативной нервной системы, у.е.;  $x_2$ –PAR–показатель активности парасимпатического отдела, у.е.;  $x_3$ –SDNN–стандартное отклонение измеряемых кардиоинтервалов, мс;  $x_4$ –INB– индекс напряжения (по Р.М. Баевскому);  $x_5$ –SSS–число ударов сердца в минуту. Динамика реальных и модельных данных возрастных изменений площадей (S) квазиаттракторов (КА) [1,2] кардиоинтервалов женщин ханты описывалась уравнением Ферхюльста-Пирла  $dx/dt=(a-bx)x$  (1), где  $a=0,0000284$ ,  $b=0,0000526$ . В рамках этого же уравнения описывались параметры SIM и PAR. Для пожилых женщин ханты преобладание SIM создаёт некоторую иллюзию их особого физического напряжения, что по Н. Амосову способствует долголетию. Женщины 3-й группы как бы находятся в условиях непрерывной физической нагрузки. Следовательно, другие люди (не долгожители, парасимпатотоники) должны искусственно создавать для себя выраженную симпатотонию, если у них имеется желание стать долгожителем. Простой способ такой динамики – усиление физической нагрузки, что в условиях урбанизированного Севера РФ почти невозможно. Отметим, что пришлое население по своим параметрам динамики квазиаттракторов с возрастом резко отличается от аборигенов. Уравнение (1) уже не применимо, т.к. сама динамика подобна параболической кривой ( $y = ax^2 + bx + c$  (2)). Повышение S для КА у пришлого населения с возрастом – это плохой прогноз на продолжительность жизни и работоспособного возраста. Любая физическая нагрузка сразу и резко снижает объемы квазиаттракторов и тогда у третьей группы мы бы могли получить аналог (нормального распределения) [2]. В целом групповой возрастной анализ динамики КА в фазовом пространстве способен определить нормальное старение (без патологий) и спрогнозировать возможность долгожительства как всей группы, так и ее отдельных представителей. Сейчас мы проводим анализ индивидуальный, т.е. выявляем какие пациенты стареют по закону (1) или (2). С этих позиций становится очевидным роль физических нагрузок в геронтологии: они уменьшают с возрастом КА для кардиоинтервалов, а значения площадей S для КА дают прогноз на долгожительство (положительный или отрицательный).

1. Еськов В.М. и др. // Вестник Московского университета. Серия 3: Физика. Астрономия. – 2014. – № 5. – С. 41-46.
2. Еськов В.М. и др. Филатов М.А. // Метрология. – 2014. – №6. – С. 28-35.

**МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АНТИАНГИОГЕННОЙ ТЕРАПИИ БЕВАЦИЗУМАБОМ****Mathematical modeling of antiangiogenic cancer treatment by bevacizumab*****Колобов А.В.1,2, Кузнецов М.Б.1***

1 – Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН, 119991, Москва, Ленинский проспект, 53

2 – Институт вычислительной математики РАН, 119333, Москва, ул. Губкина, 8

Тел.: +7(967)218-35-96; e-mail: kuznetsovmb@mail.ru

Известно, что когда опухоль достигает размера нескольких миллиметров в диаметре, ее рост замедляется из-за нехватки питательных веществ в ее центре. При метаболическом стрессе опухолевые клетки производят различные химические медиаторы, основным из которых считается фактор роста эндотелия сосудов, или VEGF, стимулирующий процесс образования новых кровеносных сосудов – ангиогенез, что приводит к улучшению снабжения клеток питательными веществами. В 1970м году Дж. Фолкман предложил новый тип лечения онкологических заболеваний – противоопухолевую антиангиогенную терапию (ПАТ). В отличие от традиционных типов лечения, ПАТ нацелена не на убийство пролиферирующих клеток, а на блокировку неоваскуляризации, таким образом, она не приводит к негативным эффектам, характерным для химио- и радиотерапии. Первыми антиангиогенными препаратами, внедренными в клиническую практику, является бевацизумаб, моноклональное антитело к VEGF. Однако, как показывают клинические данные, терапия бевацизумабом не всегда приводит к значительному замедлению опухолевого роста.

Чтобы ответить на вопрос, когда ПАТ будет эффективна, а когда нет, и какую схему назначения бевацизумаба следует использовать, мы разработали пространственно-распределенную математическую модель, описывающую рост опухоли, ангиогенез и терапию бевацизумабом. В модели учитывается собственная подвижность клеток опухоли и их конвекция в плотной ткани. Также учтена деградация капилляров внутри опухоли и отличия в проницаемостях предсуществующих и новообразованных капилляров.

Результаты моделирования адекватно воспроизводят структуру опухоли и сосудистой сети. Было показано, что при высокой собственной подвижности малигнизированных клеток, характерной для высокоинвазивных опухолей, ангиогенез практически не влияет на рост опухоли, так что в этом случае ПАТ будет неэффективна.

В случае низкой собственной подвижности опухолевых клеток показано, что ангиогенез значительно ускоряет рост опухоли. Для этого случая была произведена оценка эффективности терапии бевацизумабом. Показано, что дозировки бевацизумаба, достаточные для успешной блокировки ангиогенеза, на два порядка меньше применяемых в клинической практике. Предложена новая схема назначения бевацизумаба, позволяющая значительно снизить расходы на ПАТ без снижения ее эффективности.

## РОЛЬ ТРОМБОЦИТОВ В ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ГЕНЕРАЦИИ ТРОМБИНА ПРИ СВЕРТЫВАНИИ КРОВИ

### The role of platelets in spatial thrombin generation during blood clotting

***Кольцова Е.М.1, Купраш А.Д.2, Демина И.А.1, Полетаев А.В.1, Кумскова М.А.1, Дашкевич Н.М.4, Карамзин С.С.4, Атауллаханов Ф.И.1-5, Пантелеев М.А.1-5, Баландина А.Н.1,3***

1 – ФГБУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1

2 – Московский Государственный Университет им. Ломоносова, физический факультет, Москва

3 – ЦТП ФХФ РАН, 119991, Москва, ул. Косыгина, 4

4 – ООО «ГемаКор», 117246, Москва, Научный проезд, 20, стр. 2

5 – Московский физико-технический институт, 141700, Московская обл., г. Долгопрудный, Институтский пер., 9

Тел.: +7 (495) 287-65-70 (доб. 5525); e-mail: Ekaterina\_koltsova@bk.ru

Тромбоциты – важные участники процесса свертывания крови: при активации они предоставляют поверхность для сборки ферментативных комплексов плазменных факторов гемостаза и высвобождают из гранул белки и низкомолекулярные вещества, способствующие формированию и ретракции сгустка. В присутствии тромбоцитов основной регуляторный белок – тромбин – распространяется от поверхности с активатором свертывания в виде волны. Однако зависимость пространственной генерации тромбина от конкретных функций тромбоцитов не исследована. Цель работы – изучить влияние тромбоцитов на пространственную генерацию тромбина и рост фибринового сгустка в богатой тромбоцитами плазме. Пространственную генерацию тромбина и фибрина изучали в богатой тромбоцитами плазме здоровых доноров и пациентов. Для исследования был сконструирован прибор и разработан метод Тромбодинамика-4D, в основе которого лежит регистрация возбуждаемой диодами УФ-спектра флуоресценции продукта реакции тромбина и субстрата (7-амино-4-метилкумарин) и сигнала светорассеяния света диодов в области видимого диапазона от фибринового сгустка. Свертывание активируется в тонком слое плазмы от поверхности с иммобилизованным тканевым фактором. Для характеристики состояния тромбоцитов в работе использовали агрегометрию и проточную цитофлуориметрию. Распределение тромбина в пространстве в плазме с тромбоцитами (200 тыс/мкл) представляет собой волну с четко выраженным пиком, которая продвигается от поверхности активатора с постоянной скоростью ( $35 \pm 3$  мкм/мин,  $N=5$ ) и имеет постоянную амплитуду ( $140 \pm 50$  нМ,  $N=5$ ). Волна тромбина преобразовывалась в диффузное распространение при концентрации тромбоцитов ниже 20 тыс/мкл. Скорость роста фибринового сгустка не зависела от концентрации тромбоцитов. В присутствии ингибитора активации тромбоцитов простагландина E1 (10 мкМ) волна тромбина преобразовывалась во фронтное распространение. Снижение активации тромбоцитов подтверждалось данными агрегометрии (снижение агрегации с АДФ с  $49 \pm 19\%$  до  $1,4 \pm 0,5\%$ ,  $N=5$ ) и цитофлуориметрии (снижение количества фосфатидилсерин-положительных тромбоцитов в 5 раз, снижение выхода P-селектина из альфа-гранул в 3,5 раза и выхода мепакрина из плотных гранул в 2 раза). Для выявления роли гранулярной секреции тромбоцитов исследовали образцы, полученные от пациентов с дефицитом плотных гранул ( $N=3$ ) и альфа-гранул ( $N=2$ ). Волна тромбина у пациентов с дефицитом плотных гранул не отличалась от волны тромбина здоровых доноров. У пациентов с дефицитом альфа-гранул формирования волны тромбина не происходило, распространение тромбина осуществлялось в виде фронта. Тромбоциты необходимы для формирования волны тромбина. Итак, наибольший эффект на генерацию тромбина оказывает выход альфа-гранул.

*Работа поддержана грантами РФФИ 14-04-00670 и 15-54-45036, а также грантом Президента РФ для молодых докторов наук МД-6347.2015.4.*

**ОСОБЕННОСТИ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ЗВУКА В ЛЕГКИХ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ПРОСВЕТНОМ ЗОНДИРОВАНИИ СЛОЖНЫМИ СИГНАЛАМИ****Features of sound propagation in human lungs under sounding by complex signals*****Коренбаум В.И., Ширяев А.Д.***

Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН, 690041, Владивосток, ул. Балтийская, 43

Тел.: +7(423)237-56-98; факс: +7(423)231-25-73; e-mail: v-kor@poi.dvo.ru

Физическое понимание механизмов распространения звуковых волн в легких человека является основой для развития акустической визуализации дыхательной системы. Цель работы состояла в экспериментальном исследовании этого биофизического феномена. Системой регистрации [1] служил аппаратно-программный комплекс, состоящий из 16-канального электронного самописца PowerLab (ADInstruments) к которому подключался комплект из 13 акселерометрических датчиков. Зондирующие сигналы подавались с ПК на электродинамический громкоговоритель и поступали в патрубок, сменный мундштук, которого охватывался губами пациента на время подачи звуковых колебаний в респираторный тракт. Для осуществления зондирования с поверхности грудной клетки использовался виброизлучатель 4810 (Брюль и Кьер), устанавливаемый в надключичные области грудной клетки слева и справа. При вычислении взаимно-корреляционной функции (ВКФ) излученного сложного сигнала и принятого отклика с датчика достигается сжатие длинного исходного зондирующего сигнала в короткий импульс, а временное разрешение импульса обратно-пропорционально ширине полосы частот исходного сигнала. В качестве зондирующего сигнала использован фазоманипулированный сигнал [1]. Каждый максимум огибающей ВКФ рассматривался как приход зондирующего сигнала (звуковой волны) к точке регистрации на поверхности грудной клетки. На выборке из 15 молодых здоровых лиц показано, что групповая скорость распространения звука в ротовой полости, глотке и трахее, составляет  $272 \pm 57$  м/с, что меньше скорости звука в неограниченной воздушной среде 354 м/с при температуре тела. Выявлено отражение зондирующего сигнала от удаленных уровней бронхиального дерева. Установлено, что средняя групповая скорость звука в просвете бронхиального дерева не превышает 150–200 м/с, и она убывает от  $272 \pm 57$  м/с (в трахее) по мере удаления вглубь просвета бронхиального дерева. Для этих средних скоростей потенциальная длина хода волны по просвету бронхиального дерева до отражения составляет 18 – 23 см (до 11 – 17 генераций ветвления бронхиального дерева). Выделены группы временных приходов, соответствующие различным механизмам звукопроведения на грудную стенку как при зондировании через рот, так и с поверхности грудной клетки. Подтверждено наличие воздушно-структурного и структурного механизмов проведения зондирующего сигнала для зондирования через рот. Подтверждены оценки [1], свидетельствующие, что звук при воздушно-структурном распространении проходит значительно меньший путь по паренхиме легких, чем по просвету дыхательных путей и, следовательно, механизм воздушно-структурного проведения при зондировании через рот является в большей степени воздушным, чем полагалось ранее.

*Исследования поддержаны грантом РФФИ № 13-08-00010 и стипендией президента РФ для аспирантов и молодых ученых 2015–2017 гг.*

1. Коренбаум В.И., Дьяченко А.И. и др. / Акустический журнал. 2011, Т.57, С. 854–861.

**АКУСТИКО-БИОМЕХАНИЧЕСКИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ ФОРСИРОВАННОГО ВЫДОХА ЧЕЛОВЕКА, ВЫЯВЛЯЕМЫЕ НЕПАРАМЕТРИЧЕСКИМ ДИСПЕРСИОННЫМ АНАЛИЗОМ В ГРУППАХ С РАЗЛИЧНОЙ ВСТРЕЧАЕМОСТЬЮ И ВЫРАЖЕННОСТЬЮ БРОНХИАЛЬНОЙ ОБСТРУКЦИИ**

**Acoustic-biomechanical relationships of human forced exhalation, revealed by non-parametric analysis of variance in the groups with various incidences and degree of bronchial obstruction**

***Коренбаум В.И., Почекутова И.А., Малаева В.В., Костюк А.Е.***

Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН, 690041, Владивосток, ул. Балтийская, 43

Тел.: +7(423)237-56-98; факс: +7(423)231-25-73; e-mail: v-kor@poi.dvo.ru

Шумы форсированного выдоха (ФВ) имеют существенный диагностический потенциал [1]. Цель работы состояла в углубленном исследовании связи этого феномена с биомеханикой дыхания. При акустическом исследовании регистрировали шумы ФВ над трахеей [1]. Вычисляли их продолжительность  $FET_a$  в полосе частот 200 – 2000 Гц, полосовые продолжительности в 200-Гц полосах частот  $t_{200-400}$ , ...,  $t_{1800-2000}$  и полосовые энергии в 200-Гц полосах частот  $A_{200-400}$ , ...,  $A_{1800-2000}$ . При спирометрии регистрировали индекс Генслера  $FEV_1/FVC$ . При бодиплетизмографии регистрировали бронхиальное сопротивление выдоха  $R_{ex}$  и всего дыхательного цикла  $R_{tot}$ , остаточный объем легких  $RV$ , общую емкость легких  $TLC$  и их отношение  $RV/TLC$ , а также величины этих параметров в % к должным значениям. Обследовано 218 добровольцев обоего пола, в возрасте от 16 до 68 лет. Выборка разделена на пять групп: 1 – здоровые, 2 – лица с факторами риска развития бронхиальной астмы (БА) и хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), 3 – больные БА без спирографически подтвержденной обструкции, 4 – больные БА со спирографически подтвержденной обструкцией, 5 – больные ХОБЛ. Встречаемость и выраженность бронхиальной обструкции возрастает от группы 1 к группе 5. Таким образом, «встречаемость и выраженность бронхиальной обструкции» может быть рассмотрена как фактор на 5 различных уровнях статистической модели, представленных выделенными группами. В качестве инструмента исследования использован непараметрический дисперсионный анализ на основе теста Jonckheere-Terpstra. Выявленная значимая тенденция к убыванию индекса  $FEV_1/FVC$  – основного индикатора бронхиальной обструкции, в порядке нумерации групп подтверждает адекватность статистической модели. Напротив, для бодиплетизмографических параметров прослеживается значимая тенденция к росту в порядке нумерации групп. Это не удивительно, поскольку  $R_{ex}$ ,  $R_{tot}$  характеризуют сопротивление дыхательных путей, а  $RV$  и  $RV/TLC$  называются индексами «воздушных ловушек» – легочной гиперинфляции. Эти параметры часто увеличиваются при бронхиальной обструкции и прямо коррелируют с ее выраженностью. Для продолжительности шумов ФВ  $FET_a$  отмечается значимая тенденция к возрастанию в порядке нумерации групп. Аналогично ведут себя и большая часть 200-Гц полосовых продолжительностей ( $t_{200-400}$  ...  $t_{1000-1200}$ ) и энергий ( $A_{200-400}$  ...  $A_{1200-1400}$ ). Следовательно, увеличение указанных акустических показателей ФВ представляет собой некую меру, как бронхиальной обструкции, так и легочной гиперинфляции. Это умозаключение согласуется с развитыми ранее представлениями [1] о том, что увеличение  $FET_a$  может быть вызвано как повышением общего сопротивления бронхиального дерева, преимущественно в крупных бронхах, что соответствует увеличению  $R_{ex}$ ,  $R_{tot}\%$ , так и замедлением опорожнения легочных единиц, вентилируемых более мелкими бронхами, что отражается ростом  $RV\%$ ,  $RV/TLC\%$ .

*Исследования поддержаны грантом РФФИ № 14-04-00048.*

1. Korenbaum V.I., Pochekutova I.A. / J. Biomechanics, 2008. V.41. P. 63-68.



**ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНОВ НА ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ МИШЕНИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА****Physico-chemical action mechanisms of water-soluble derivatives of fullerenes on therapeutical targets of Alzheimer disease**

**Котельникова Р.А.1, Смолина А.В.1, Григорьев В.В.2, Файнгольд И.И.1, Рыбкин А.Ю.1, Ванькин Г.И.2, Замойский В.Л.2, Трошин П.А.1, Котельников А.И. 1, Бачурин С.О.2**

1 – Институт проблем химической физики РАН, 142432 Московская область, г. Черноголовка, проспект Академика Н.Н. Семенова, 1

2 – Институт физиологически активных веществ РАН, 142432, Московская область, Ногинский район, г. Черноголовка, Северный проезд, д. 1, Россия

Тел.: +7(496) 522-16-45; Факс: (496)5223507. E-mail: kotel@icp.ac.ru

Болезнь Альцгеймера (БА) является одной из важнейших медико-социальных проблем современности. У людей, подверженных БА, наблюдается неуклонное прогрессирование деменции вплоть до полной дегградации памяти и интеллекта. В настоящее время БА подвержены более 35 млн. человек по всему миру. В России число больных БА оценивается в 1.8 млн. человек. До сих пор не разработаны лекарственные препараты, позволяющие излечить это заболевание.

Известно, что фуллерен C<sub>60</sub> и ряд его производных обладают широким спектром биологической активности: являются эффективными антиоксидантами, проявляют нейропротекторное действие: они способны ингибировать каталитическую активность ацетилхолинэстеразы, процесс агрегации β-амилоидных белков, предупреждать гибель нейронов, предотвращать нарушение долговременной памяти, оказывать выраженное стимулирующее действие на центральные дофаминовые рецепторы, а также могут выступать носителями биологически активных группировок и доставлять их к терапевтическим мишеням для лечения различных патологий.

Были исследованы физико-химические механизмы нейропротекторной активности водорастворимых производных фуллерена C<sub>60</sub> (ВРПФ), синтезированных авторами предлагаемой работы. Показано, что ВРПФ оказывают влияние на терапевтические мишени болезни Альцгеймера: с помощью абсорбционной спектрофотометрии установлено, что они ингибируют каталитическую активность моноаминоксидазы В, методом хемилюминесценции обнаружено, что они снижают содержание свободных радикалов *in vitro*, электрофизиологическим методом patch-clamp показано, что ВРПФ являются позитивными модуляторами АМРА рецепторов нейронов Пуркинье мозжечка крыс. В поведенческих экспериментах установлена когнитивно-стимулирующая активность ВРПФ.

*Исследования поддержаны Программой ОХНМ РАН № IV.5.9 «Медицинская химия»*

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЭНДОГЕННОГО И ЭКЗОГЕННОГО ПЕРОКСИРЕДОКСИНОВ В ТКАНЯХ И ОРГАНАХ КРЫС

### The distribution of endogenous and exogenous peroxiredoxin in the tissues and organs of rats

**Кочкина А.В., Мубаракшина Э.К., Карадулева Е.В., Волкова А.Г., Новоселов В.И.**

ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, 142290, г. Пущино, ул. Институтская 3  
e.mail: lina9191@bk.ru

Пероксиредоксины – это семейство тиол-специфических белков-антиоксидантов, обладающих пероксидазной активностью. Пероксиредоксин 6 (Prx 6), единственный секреторный пероксиредоксин, широко представлен в организме млекопитающих и его максимальное количество наблюдается в обонятельном эпителии, трахеи, бронхах, эпидермисе кожи, так же присутствует в почках, кишечнике, кровеносных сосудах сердца.

Ранее в нашей лаборатории была показана высокая эффективность применения экзогенного Prx 6 при лечении ряда патологий (ожоги, резаные раны, ишемически/реперфузионные поражения почки и кишечника). С целью выявления механизмов защитного действия Prx 6, было проведено исследование распределения экзогенного Prx 6 пероксиредоксина при разных способах его введения в разные органы. Для выявления распределения экзогенного Prx 6 при введении был использован рекомбинантный Prx 6, содержащий His-tag домен, его выявление проводили с помощью антител к His-tag домену. Эндогенный Prx 6 выявляли с помощью поликлональных антител к данному белку.

Иммуногистохимические исследования тканей сердца и легкого показали, что эндогенный Prx 6 локализуется в наружной оболочке сосудов, которая примыкает непосредственно к клеткам миокарда или альвеол, что свидетельствует о том, он защищает сосуды сердца и легкого от окислительного стресса. При реперфузии изолированного сердца средами, содержащими Prx 6-His-tag, последний локализуется в тех же местах, что и эндогенный Prx 6. [1]. Аналогичные результаты были получены на тканях легких при внутривенном введении Prx 6-His-tag. Наконец, при внутрикожном введении Prx 6-His-tag, последний, диффузно распределялся в эпидермисе кожи, однако максимальное его количество наблюдалось в железах волосяных фолликул, где локализован в большом количестве и эндогенный пероксиредоксин.

Таким образом, как свидетельствуют полученные данные, при разных способах введения экзогенного Prx 6, последний концентрируется в местах, где наблюдается повышенное содержание экзогенного Prx 6, т.е. осуществляется направленный транспорт Prx 6 в эти области. В этом отношении следует отметить, что открытый в нашей лаборатории секреторный белок 45 кДа, являющийся гомологом белков – переносчиков гидрофобных соединений, локализован в тех же местах, что и Prx 6, причем в эквимолярных соотношениях [2]. Функция белка 45 кДа пока не определена, однако внимание привлекает, что возможно данный белок осуществляет транспорт Prx 6 в соответствующее место.

1. Карадулева и др. 2015, Биофизика, т. 60, №5
2. Merkulova et al. 1999. FEBS Lett., 450, 126-130

**ИНГИБИТОР 5-ЛИПОКСИГЕНАЗ ЗИЛЕУТОН ПОДАВЛЯЕТ ЭФФЕКТ ГЛУТОКСИМА И МОЛИКСАНА НА ВНУТРИКЛЕТОЧНУЮ КОНЦЕНТРАЦИЮ  $Ca^{2+}$  В МАКРОФАГАХ****5-lipoxygenase inhibitor zileuton suppresses glutoxim and molixan effect on intracellular  $Ca^{2+}$  concentration in macrophages****Крутецкая З.И., Миленина Л.С., Наумова А.А., Бутов С.Н., Крутецкая Н.И., Антонов В.Г.**

Кафедра биофизики Санкт-Петербургского государственного университета, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9

Тел.: +7(812) 328-94-65; e-mail:zk@bio.spbu.ru

Ранее нами было впервые обнаружено, что фармакологические аналоги окисленного глутатиона (GSSG) иммуномодуляторы глутоксим (динатриевая соль GSSGcd-металлом в нано-концентрации, ФАРМА-ВАМ, Санкт-Петербург) и моликсан (комплекс глутоксима и нуклеозида инозина ФАРМА-ВАМ, Санкт-Петербург), увеличивают внутриклеточную концентрацию  $Ca^{2+}$ ,  $[Ca^{2+}]_i$ , вызывая мобилизацию  $Ca^{2+}$  из тапсигаргин-чувствительных  $Ca^{2+}$ -депо и последующий депо-зависимый вход  $Ca^{2+}$  в перитонеальные макрофаги крысы. Макрофаги отвечают на воздействие разнообразных агонистов, быстро гидролизуют мембранные фосфолипиды, что приводит к генерации большого числа внутриклеточных и экстраклеточных мессенджеров. Так, активированные фагоциты продуцируют большое количество арахидоновой кислоты (АК) -- полиненасыщенной жирной кислоты (20:4,  $\omega 6$ ), освобождаемой из мембранных фосфолипидов при действии фосфолипазы  $A_2$ . Свободная АК легко окисляется с образованием широкого спектра биологически активных соединений – эйкозаноидов: простагландинов, тромбоксанов, лейкотриенов и различных гидроксикислот. В связи с этим представлялось целесообразным исследовать влияние избирательного блокатора 5-липоксигеназ противоастматического агента zileuton на  $Ca^{2+}$ -ответы, вызываемые глутоксимом и моликсаном в перитонеальных макрофагах крысы.

Для измерения  $[Ca^{2+}]_i$  использовали флуоресцентный  $Ca^{2+}$ -зонд Fura-2AM. Опыты проводили на автоматизированной установке для измерения  $[Ca^{2+}]_i$  на базе флуоресцентного микроскопа LeicaDM 4000B (Leica Microsystems, Германия).

Впервые показано, что предварительная инкубация макрофагов с 1 мкМ zileuton в течение 5 мин до введения 200 мкг/мл глутоксима вызывает практически полное подавление мобилизации  $Ca^{2+}$  из депо и существенное подавление входа  $Ca^{2+}$ , индуцируемых глутоксимом. Аналогичные данные получены с использованием 200 мкг/мл моликсана. Кроме того, показано, что добавление 4 мкМ zileuton на фоне развившегося входа  $Ca^{2+}$ , индуцированного глутоксимом или моликсаном, вызывает значительное подавление входа  $Ca^{2+}$  в макрофаги.

Полученные результаты подтверждают наши более ранние данные об участии 5-липоксигеназ в комплексном сигнальном каскаде, запускаемом глутоксимом или моликсаном, и приводящем к увеличению  $[Ca^{2+}]_i$  в макрофагах. Данные о подавлении zileuton развившегося входа  $Ca^{2+}$  свидетельствуют об участии 5-липоксигеназ в поддержании депо-зависимого входа  $Ca^{2+}$  в макрофагах. Кроме того, полученные данные указывают на нежелательность совместного применения в клинической практике глутоксима или моликсана и противоастматического агента zileuton.

## СЕРДЕЧНЫЕ ГЛИКОЗИДЫ ОБЛАДАЮТ ПРОТИВОПОЛОЖНЫМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ НА ГИБЕЛЬ КЛЕТОК ПРИ СОВМЕСТНОМ УПОТРЕБЛЕНИИ С ЦИСПЛАТИНОМ ИЛИ ЭТОПОЗИДОМ

**А.В. Куликов<sup>1</sup>, Е.А. Слободкина<sup>1</sup>, А.В. Алексеев<sup>3</sup>, В.Г. Гогвадзе<sup>1,2</sup>, Б.Д. Животовский<sup>1,2</sup>**

1 – Факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

2 – Институт Медицины Окружающей Среды, Каролинский Институт, Стокгольм, Швеция

3 – ФГУП «ВИАМ», Москва, Россия

Сердечные гликозиды (СГ) являются ингибиторами Na/K-АТФазы и имеют широкое распространение при лечении сердечной недостаточности, сердечных фибрилляций и подобных заболеваний. СГ не только ингибируют функцию Na/K-АТФазы как протонной помпы, но также способны активировать внутриклеточные сигнальные каскады, регулирующие процессы пролиферации и клеточной гибели. Эпидемиологические данные свидетельствуют, что СГ могут обладать противоопухолевой активностью, а данные *in vitro* показали их цитотоксическое действие на различных линиях опухолевых клеток. В настоящее время СГ рассматриваются как новое средство противоопухолевой терапии, при их комбинации со стандартными противоопухолевыми препаратами для преодоления резистентности и создания аддитивного эффекта для более эффективной элиминации опухолевых клеток.

Мы изучали влияние СГ убаина, дигоксина и дигитоксина на гибель клеток рака кишечника в комбинации с цисплатином или этопозидом – препаратами, широко используемыми для лечения этого вида рака. Само действие СГ вызывало умеренную гибель клеток НСТ116, НТ29 и RKO, при этом дигитоксин был наиболее токсичен для клеток. Важно, что эти СГ снижали гибель клеток, вызванную действием цисплатина и существенно потенцировали их к действию этопозида. Эффекты действия СГ совместно с цисплатином или этопозидом были оценены различными методами: по количеству популяции аннексинV-FITC-пропидий иодид позитивных клеток с помощью проточной цитометрии, по уровню каспазной активности при измерении расщепления флуорогенного субстрата, по появлению расщепленной формы белка ПАРП при анализе методом вестерн-блоттинга. Противоположные эффекты СГ с цисплатином и этопозидом были подтверждены различным уровнем выхода цитохрома с в цитоплазму. Проверая различные гипотезы механизмов совместного действия СГ и противоопухолевых препаратов мы обнаружили, что резистентность к действию цисплатина не связана с откачкой этого препарата через P-gP каналы, а также не связана с активацией аутофагии, как было показано в других экспериментальных условиях. Однако мы обнаружили, что ингибитор МАРК PD98059 частично отменял вызванную СГ резистентность к цисплатину на клетках НСТ116 и НТ29, что предполагает участие этой протеинкиназы в механизмах воздействия на гибель клеток. Кроме того, усиленная гибель клеток, вызванная совместным действием СГ и этопозида может быть снижена при добавлении кальциевого хелатора ВАРТА-ам. Известно, что кальций необходим для работы топоизомеразы II – фермента, который ингибируется этопозидом. Вероятно, опосредованное увеличение уровня внутриклеточного кальция сердечными гликозидами приводит к более эффективному ингибированию топоизомеразы II, что и служит причиной высокой гибели клеток при их совместном действии с этопозидом. Таким образом, полученные данные частично раскрывают механизмы противоположного действия СГ совместно с цисплатином и этопозидом и указывают на участие в этих процессах протеинкиназы МАРК и ионов кальция. Отметим перспективность возможного использования сердечных гликозидов в комбинированной противоопухолевой терапии, принимая во внимание возможное возникновение резистентности при использовании стандартных противоопухолевых препаратов.

**ВЛИЯНИЕ ЛИЗИСА КЛЕТОК ЭРИТРОЦИТОВ НЕКОТОРЫХ ЖИВОТНЫХ НА СПЕКТРЫ ПОГЛОЩЕНИЯ ОКСИГЕМОГЛОБИНА****Effect of cell lysis of erythrocytes some animals on the absorption spectra of oxyhemoglobin*****Н.Л.Лаврик<sup>1</sup>, Т.Н.Ильичёва<sup>2</sup>***<sup>1</sup> - Институт химической кинетики и горения им. В.В.Воеводского СО РАН, Новосибирск<sup>2</sup> - Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Новосибирск

Тел.: +7(383)333-23-86; факс: +7(383)330-73-50; e-mail: lavrik@kinetics.nsc.ru

Гемоглобины, и частности оксигемоглобин, является одним из важнейших компонентов клеток эритроцитов крови. Изучению его структурных модификаций, деструкции и функциональных свойств различными физико-химическими методами, и, в частности, абсорбционным, посвящено множество работ и монографий (см. напр. [1]). В спектрах поглощения оксигемоглобин имеет три наиболее интенсивные полосы с максимумами на  $\sim 415$  нм (полоса Soret), на  $\sim 545$  нм и на  $\sim 580$  нм. Не смотря на многочисленность работ по изучению спектров поглощения оксигемоглобина, систематическая информация об изменении их спектральных свойств при лизисе клеток эритроцитов практически отсутствует. В частности, отсутствует количественная информация об изменении положения максимумов полос и эффективности поглощения оксигемоглобина при лизисе эритроцитов. Лишь в недавней работе [2] приведены спектры поглощения лизированных и не лизированных образцов эритроцитов из крови крыс. Изучение вопроса о влиянии лизиса на спектральные параметры оксигемоглобина представляется актуальным, поскольку эта информация могла бы служить простым неинвазивным способом определения степени лизирования эритроцитов, что представляется важным для мониторинга гемолиза. Целью настоящей работы было изучение влияния лизиса эритроцитов из крови гуся, петуха и морской свинки на спектральные параметры полосы Soret. Изменений в спектре поглощения оксигемоглобина при лизисе клеток априори можно было ожидать, поскольку процесс лизирования может сопровождаться изменением структуры белка и, соответственно, структуры белковых полостей, в которых находятся гемы. Этот процесс может приводить, например, изменению расстояния координационной связи гем - белок. Изменение этого расстояния может приводить к изменению величины межмолекулярного взаимодействия гем - окружение. Соответственно, изменение энергии взаимодействия молекулы гема с окружением может приводить к изменению параметров электронного спектра поглощения оксигемоглобина (положение максимумов и коэффициенты молярного поглощения). Природа спектра поглощения оксигемоглобина в видимой области определяется электронными переходами в порфириновых кольцах гема.

В результате проведённых экспериментов было установлено, что для лизированных относительно не лизированных образцов эритроцитов положение максимумов полос Soret заметно смещается в коротковолновую область спектра. Полученные данные позволили обсудить вопросы о природе зависимости положения максимума полосы Soret от вида животного и о природе изменения спектральных параметров полосы Soret при лизисе. Сделано заключение, что наиболее вероятными причинами коротковолнового сдвига полосы Soret при лизисе клеток эритроцитов, являются изменение структуры глобина, приводящее к увеличению длины координационной связи гем - белок и окисление иона железа  $Fe^{2+}$  до иона железа  $Fe^{3+}$  с образованием метгемоглобина, полоса Soret которого находится в более коротковолновой области спектра, чем для молекулы оксигемоглобина.

1. Л.А.Блюменфельд. / Соросовский образовательный журнал. Химия. 1998. №4, С.33-38
2. Н.Л.Векшин, М.С.Фролова и др. / Биофизика. 2015. Т.60. С.129-135.

## **ПРИРОДНЫЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ ДИКАРБОНИЛЫ КАК МОДИФИКАТОРЫ ЛИПИД-БЕЛКОВЫХ НАДМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСОВ**

### **Natural low molecular dicarbonyls as a modifier of lipid-protein supramolecular complexes**

***Ланкин В.З., Тихазе А.К., Мелькумянц А.М.***

ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздрава РФ,  
121552, Москва, 3-я Черепковская, 15а

*e-mail: lankin@cardio.ru*

Липопротеиды низкой плотности (ЛНП) плазмы крови представляют собой природные липид-транспортирующие наночастицы. Обогащенные холестерином ЛНП накапливаются в клетках стенки сосудов, принимая активное участие в формировании липофиброзных бляшек при атеросклерозе, причем накопление ЛНП в стенке сосудов усиливается при их окислительной модификации. Нами установлено, что не перекисное окисление полиеновых ацилов фосфолипидного монослоя частиц ЛНП, а альдегид-зависимая модификация апопротеина В-100, входящего в состав ЛНП, ответственна за опознание и поглощение частиц ЛНП клетками. Реакционно активные дикарбонилы могут накапливаться в организме в качестве вторичных продуктов свободнорадикального окисления полиеновых липидов (малоновый диальдегид, МДА), а также в качестве продуктов автоокисления глюкозы (глиоксаль) и ее окислительных превращений по триозофосфатному пути (метилглиоксаль). Показано, что глиоксаль и метилглиоксаль являются более активными атерогенными модификаторами ЛНП, чем МДА. Кроме того показано, что модификация концевых аминогрупп белков при реакции с метилглиоксалем приводит к генерированию супероксидного анион-радикала. Соокисление полиеновых липидов частиц ЛНП в присутствии глюкозы сопровождается одновременным образованием глиоксаля (Spiteler, 2008) и, как показано нами, супероксидных радикалов. В соответствии с этими данными установлено, что окисленность частиц ЛНП у больных сахарным диабетом с гипергликемией значительно выше, чем у больных атеросклерозом с гиперлипидемией. Обнаружено, что снижение активности эритроцитарных антиоксидантных ферментов при диабете связано с модификацией активного центра природными дикарбонилами, как видно из изменения кинетических характеристик гомогенных ферментных препаратов в процессе инкубации с МДА, глиоксалем и метилглиоксалем. Показано, что МДА увеличивает жесткость культивируемых эндотелиоцитов, тогда как глиоксаль, напротив, существенно уменьшает ригидность этих клеток. Полученные результаты свидетельствуют о едином молекулярном механизме повреждения стенки сосудов при атеросклерозе и сахарном диабете, что согласуется с известным фактом манифестирования атеросклероза при наличии сахарного диабета.

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АНТИЭНДОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ХИТОЗАНА****Molecular mechanisms of chitosan action against septic shock**

**Лихацкая Г.Н.1, Давыдова В.Н.1, Соловьева Т.Ф.1, Трифонов Е.В.2, Тарасов Г.В.2, Нурминский Е.А.2**

1 – Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, 690022, Владивосток, проспект 100 лет Владивостоку, 159

2 – Институт автоматизации и процессов управления ДВО РАН, 690041, г. Владивосток, ул. Радио, 5  
Тел.: +7(423)231-99-32; факс: +7(423)231-40-50; e-mail: galinlik@piboc.dvo.ru

Основной компонент наружных мембран грамотрицательных бактерий липополисахарид (ЛПС) является одной из ключевых молекул, ответственных за развитие сепсиса и септического шока. Экспериментами *in vitro* и *in vivo* показано, что хитоолигосахариды ингибируют воспалительные эффекты, вызванные ЛПС. Ингибирование токсического действия ЛПС хитозаном и хитоолигосахаридами может быть обусловлено взаимодействием хитозанов с ЛПС, TLR-4 и MD-2. В настоящее время атомные структуры комплексов хитозанов с этими потенциальными мишенями не установлены. Для выяснения молекулярных механизмов антиэндоксического действия хитозана методами структурной биоинформатики и молекулярного докинга получены модели пространственных структур хитоолигосахаридов и хитозана, ЛПС с различным размером О-антигенных цепей в мономерной и агрегированной формах и их комплексов. Построены модели комплексов хитоолигосахаридов с внеклеточным доменом рецептора TLR-4 и с корецептором MD-2. Пространственные структуры хитозана и алкилированного хитоолигосахарида получены с помощью программы MOE 2014.09. Модели пространственных структур ЛПС с различными размерами О-антигенных цепей построены с использованием кристаллической структуры Ra-формы ЛПС *E. coli* (код PDB 3FXI), Структуры молекул сольватированы и оптимизированы методом молекулярной динамики с помощью программы MOE 2014. Фрагменты внешней поверхности агрегатов ЛПС построены из оптимизированных структур ЛПС в виде гексагонально упакованных структур. Анализ 3D моделей комплексов, показал, что хитозан взаимодействует с ЛПС как в мономерной, так и в агрегированной форме. Показано, что хитозан локализован, как на поверхности агрегатов ЛПС, так и внутри коровой области, что хорошо согласуется с экспериментальными данными по взаимодействию хитозана с ЛПС. Взаимодействие хитозана с поверхностью агрегатов ЛПС изменяет электростатический потенциал ЛПС и может влиять на взаимодействие ЛПС с клетками. Предполагается, что ингибирование токсического действия ЛПС хитозаном может быть обусловлено экранированием функционально важных групп ЛПС, необходимых для связывания с рецептором и запуска сигнального каскада. Анализ структур комплексов показал, что в комплексах с наиболее низкой энергией во взаимодействии хитоолигосахарида с ЛПС участвуют фосфатные группы липида А и остатки внутреннего кора. Структура комплекса стабилизируется контактами, в которых участвуют группы ЛПС важные для взаимодействия с рецептором TLR-4 и с корецептором MD-2. В образовании комплексов MD-2 с хитоолигосахаридом участвуют аминокислотные остатки, которые являются ключевыми при образовании полярных контактов с ЛПС в комплексе TLR4:MD-2. Результаты получены с использованием оборудования ЦКП «Дальневосточный вычислительный ресурс» ИАПУ ДВО РАН.

Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-00786.

## О МАТЕМАТИЧЕСКОМ МОДЕЛИРОВАНИИ ТРЕПЕТАНИЯ И МЕРЦАТЕЛЬНОЙ АРИТМИИ ПРЕДСЕРДИЙ И ИХ КАРДИОХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ МЕТОДОМ РАДИОЧАСТОТНОЙ АБЛЯЦИИ

On the mathematical modeling of atrial and atrial fibrillation and cardiac surgery treatment using radiofrequency ablation

**Мазуров М.Е.1, Ардашев А.В.2., Желяков Е.Н.2., Калюжный И.М**

1 – МГУЭСИ, Москва, Нежинская ул., д.7

2 – ФГУЗ КБ №83 ФМБА России, Москва, Ореховый бульвар, д.28

mazurov37@mail.ru

Радиочастотная катетерная абляция (РЧА) фибрилляции предсердий типа трепетания и мерцательной аритмии является как наиболее перспективным и стремительно развивающимся, так и наиболее противоречивым в отношении эффективности метода лечения этой аритмии[1]. Установлено, что предикторами положительного результата являются длительность эпизода фибрилляции предсердий (ФП) менее 2 лет и длина цикла фибрилляции предсердий (ФП) в ушке ЛП более 161 мс.

В работе проведено сравнение теоретических возможностей элиминации длительно-персистирующей ФП (на модели шестиволнового ре-ентри) в условиях математического моделирования с использованием численного метода сканирования при выполнении циркулярных и линейных воздействий, имитирующих лечебные РЧ-повреждения у больных.

На первом этапе математического моделирования и вычислительного эксперимента реализовался заданный автоволновый процесс возбудимой ткани левого предсердия, и производилось моделирование ФП с использованием модели с двумя переменными, известной как модель ФитцХью-Нагумо.

$$\frac{dx_1}{dt} = x_1 - \frac{x_1^3}{3} - x_2 + I + D_1 \Delta x_1; \quad \frac{dx_2}{dt} = \varepsilon(a - x_1 + bx_2),$$

На втором этапе с помощью процедуры, реализуемой с использованием метода сканирования, производилось компьютерное моделирование радиочастотных воздействий, соответствующих методике РЧА, использовавшейся у пациентов, включенных в клинический этап данного исследования. Фрагментация левого предсердия на неоднородные области в вычислительном эксперименте достигалась в результате использования вычислительного метода сканирования, что позволяло создать компьютерную модель шестиволнового ре-ентри с различными частотами. Проведение абляционного форматирования, соответствующего методике РЧА, позволяло трансформировать шестиволновое ре-ентри в четырехволновое. Следующим шагом проводилось моделирование наружной электроимпульсной терапии -кардиоверсии, в результате которой происходила элиминация оставшегося ре-ентри и восстановление синусового ритма. Кардиоверсия осуществляется путем подачи на всю область импульса тока, вызывающего максимальное по амплитуде электрическое возбуждение во всей области. После прекращения кардиоверсирующего импульса тока, длительностью около 50 мсек, происходит полное подавление оставшихся ре-ентри и восстановление синусового ритма. Были сделаны выводы о том, что математическое моделирование мерцательной аритмии в реальных условиях кардиохирургической операции позволяет производить операцию с меньшим травмированием предсердий, уменьшить время кардиохирургической операции.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 13-02-01307 а.*

1. Ардашев А.В., Мазуров М.Е., Калюжный И.М., Желяков Е.Г., Беленков Ю.Н.. Кардиология 2012; 7:55-60.



**ВЛИЯНИЕ ДОФА В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ОБРАЗОВАНИЕ  
МЕТГЕМОГЛОБИНА ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА**

**The effects of the DOPA in conditions of oxygen stress on the formation of methemoglobin of the patients with Parkinson's disease**

***Маклецова М. Г.1, Рихирева Г.Т. 2, Полещук В.В.1, Вакуленко М.Ю. 3, Стволинский С.Л. 1, Тимербаяева С.Л. 1, Федорова Т.Н. 1***

1 – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр неврологии», 125 367 Москва, Волоколамское шоссе, 80

2 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт химической физики им. Н.Н. Семенова» РАН (Москва)

3 – Ростовский государственный медицинский университет (Ростов-на-Дону)

*E-mail: mgm52@bk.ru*

Болезнь Паркинсона (БП) – одно из наиболее распространенных хронических системных и мультифакторных заболеваний, в патогенезе которого важную роль играет окислительный стресс (ОС). При БП наблюдаются значительные нарушения в антиоксидантном статусе организма, что связано как с генетической предрасположенностью, так и с развитием ДОФА-индуцированного ОС. Известно, что ОС сопровождается ростом АФК и NO, которые вызывают окисление гемоглобина с образованием метгемоглобина (MetHb). В последнее время активно изучается роль MetHb в развитии нейродегенеративных заболеваний. С целью оценки дозозависимого влияния ДОФА на образование MetHb в условиях ОС с последующей оценкой эффективности коррекции данного патологического процесса антиоксидантами нами проведено исследование в опытах *in vitro*. Определение содержания MetHb в эритроцитах (Э) пациентов с БП проводили с помощью метода электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) по интенсивности сигнала ЭПР с *g*-фактором в области 6.0. Спектр ЭПР измеряли при 77 К на радиоспектрометре ER-220 D фирмы Bruker (Германия) с использованием стандартной методики накопления и анализа спектров ЭПР на мини ЭВМ Аспект-2000. ОС в модельных опытах с последующим образованием MetHb индуцировали акролеином. В качестве протектора использовали природный антиоксидант – карнозин ( $\beta$ -аланил-L-гистидин). Э инкубировали с исследуемыми соединениями в течение 1 часа при комнатной температуре по описанной схеме: контроль (1) – интактные Э; опыт – инкубация Э в присутствии 10 мкМ акролеина (2); 1,5 мМ ДОФА (3); 15 мМ ДОФА (4); 15 мМ ДОФА+ 10 мкМ акролеина (5); 10 мкМ акролеина (6); 5 мМ карнозина (7); 5 мМ карнозина+10мкМ акролеина (8); 5 мМ карнозина+15мМ ДОФА (9). При инкубации Э пациентов с БП с 1,5 мМ ДОФА не наблюдалось изменений в содержании MetHb, однако при увеличении дозы ДОФА в 10 раз (15 мМ) происходило резкое увеличение содержания MetHb в 2 раза по сравнению с исходным уровнем. Введение в инкубационную среду акролеина приводило к увеличению образования MetHb в 3 раза относительно контроля, в то время как сочетание ДОФА и акролеина вызывало 10 кратное увеличение содержания MetHb. Введение в инкубационную среду карнозина предотвращало избыточное образование MetHb, индуцированное акролеином; в то же время карнозин не оказывал влияния на ДОФА-индуцированное образование MetHb. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности определения содержания MetHb в Э крови пациентов с БП в условиях длительного приема ДОФА-содержащих препаратов для прогнозирования риска развития осложнений, связанных с метгемоглобинемией. Показана эффективность введения антиоксиданта карнозина в базовую терапию БП.

*Работа поддержана грантом РФФИ 14-04-00829.*

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ, КЛЕТОЧНЫХ И СИСТЕМНЫХ ЭФФЕКТОВ ИНГАЛЯЦИЙ ОКСИДА АЗОТА

### Experimental study of molecular, cellular and systemic effects of nitric oxide inhalations

***Мартусевич А.К.1,2, Соловьева А.Г.1, Мартусевич А.А.1, Плеханова А.Д.2***

1 – ФГБУ «ПФМИЦ» Минздрава России, 603155, Нижний Новгород, Верхне-Волжская наб., 18/1;

2- ФГБОУ ВПО «НГСХА», 603097, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 97

*e-mail: cryst-mart@yandex.ru*

Биология оксида азота является одной из наиболее динамично развивающихся направлений современной биомедицины. В то же время основной акцент данных исследований смещен в сторону оценки биологического действия оксида азота, синтезируемого эндогенно в норме и при различных физиологических и патологических состояниях [1]. Напротив, сравнительно мало сведений об эффектах экзогенного, в первую очередь – газообразного NO [2]. Это обуславливает отсутствие систематических представлений о действии последнего на различные биологические системы. В связи с этим, целью работы служила комплексная оценка влияния ингаляций оксида азота на функционально-метаболический статус здоровых крыс. *Материал и методы исследования.* Исследование выполнено на 20 половозрелых крысах-самцах линии Вистар, разделенных на 2 равные по численности группы. Животным 1 (контрольной) группы не наносили каких-либо воздействий, тогда как крысы 2 (основной) группы получали ежедневные ингаляции оксида азота в течение 10 дней. Продолжительность ингаляционного воздействия составляла 10 минут, концентрация соединения в газовой смеси – 20 ppm. По завершении курса ингаляций у крыс, как и у представителей контрольной группы, однократно получали образцы крови, оценивали параметры вариабельности сердечного ритма и состояние микроциркуляции. В образцах крови животных определяли показатели окислительного (интенсивность перекисного окисления липидов, общая антиоксидантная активность, активность супероксиддисмутазы эритроцитов) и энергетического (активность лактатдегидрогеназы эритроцитов в прямой и обратной реакциях, плазменный и эритроцитарный уровни лактата и глюкозы), ферментных детоксикационных систем (альдегиддегидрогеназа). Статистическую обработку результатов производили с использованием программы Statistica 6.1 for Windows. *Результаты.* Установлено, что ингаляции NO-содержащей газовой смеси способствуют многогранному изменению функционально-метаболического статуса животных. В частности, после курса исследуемых воздействий отмечали смещение окислительного метаболизма в сторону превалирования прооксидантов. Это проявилось в умеренном нарастании интенсивности липопероксидации по сравнению с крысами контрольной группы, протекающем на фоне минимального снижения общей антиоксидантной активности плазмы крови и активации супероксиддисмутазы эритроцитов. Отчетливые сдвиги имели место и для энергетического обмена. Так, наблюдали стимуляцию прямой реакции лактатдегидрогеназы без существенного изменения активности фермента в обратной реакции с сохранением плазменного и эритроцитарного уровня лактата. Кроме того, после завершения ингаляций NO регистрировали активацию альдегиддегидрогеназы. Таким образом, курс ингаляций NO в низкой концентрации (20 ppm) оказывает модулирующее действие на метаболизм и функциональное состояние организма здоровых крыс не вызывая значимых токсических эффектов.

1. Ванин А.Ф. / Вестник РАМН. 2000. №4. С. 3.

2. Martusevich A.K., Peretyagin S.P., Soloveva A.G., Vanin A.F. / Biophysics. 2013. Vol. 58. P. 689.

**ВЛИЯНИЕ ПРЕДНИЗОЛОНА НА ЭФФЕКТ ГЛУТОКСИМА И МОЛИКСАНА НА ВНУТРИКЛЕТОЧНУЮ КОНЦЕНТРАЦИЮ  $Ca^{2+}$  В МАКРОФАГАХ**

**The influence of prednisolone on glutoxim and molixan effect on intracellular  $Ca^{2+}$  concentration in macrophages**

**Миленина Л.С., Крутецкая З.И., Наумова А.А., Бутов С.Н., Крутецкая Н.И., Антонов В.Г.**

Кафедра биофизики Санкт-Петербургского государственного университета, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9

Тел.: +7(812) 328-94-65; e-mail: cozy@mail.ru

Синтетические аналоги окисленного глутатиона (GSSG) препараты глутоксим (динатриевая соль GSSGcd-металлом в наноконцентрации, ФАРМА-ВАМ, Санкт-Петербург) и моликсан (комплекс глутоксима и нуклеозида инозина, ФАРМА-ВАМ, Санкт-Петербург) относятся к группе лекарственных средств тиопозитинов, влияющих на процессы редокс-регуляции в клетках используются как иммуномодуляторы и гемостимуляторы широкого спектра действия. Однако механизмы клеточного и молекулярного действия этих препаратов далеки от полного понимания.

Ранее нами впервые обнаружено, что глутоксим и моликсан увеличивают внутриклеточную концентрацию  $Ca^{2+}$ ,  $[Ca^{2+}]_i$ , вызывая мобилизацию  $Ca^{2+}$  из тапсигаргин-чувствительных  $Ca^{2+}$ -депо и последующий депо-зависимый вход  $Ca^{2+}$  в перитонеальные макрофаги крысы. Кроме того, с использованием ингибиторов циклооксигеназ и липоксигеназ нами было впервые показано участие циклооксигеназного и липоксигеназного путей окисления арахидоновой кислоты (АК) в действии глутоксима и моликсана на  $[Ca^{2+}]_i$  в макрофагах. Поскольку запуск каскада метаболизма АК – одно из ключевых событий в активации макрофагов, представлялось также целесообразным исследовать участие ключевого («стартового») фермента каскада – фосфолипазы  $A_2$  (ФЛА<sub>2</sub>) – в действии глутоксима и моликсана на  $[Ca^{2+}]_i$  в перитонеальных макрофагах крысы.

ФЛА<sub>2</sub>, экспрессирующиеся в различных типах клеток, ингибируются глюкокортикостероидами. В связи с этим в качестве ингибитора ФЛА<sub>2</sub> был использован синтетический глюкокортикостероидный препарат преднизолон.

Для измерения  $[Ca^{2+}]_i$  использовали флуоресцентный  $Ca^{2+}$ -зонд Fura-2AM. Опыты проводили на автоматизированной установке для измерения  $[Ca^{2+}]_i$  на базе флуоресцентного микроскопа LeicaDM 4000B (LeicaMicrosystems, Германия).

Впервые показано, что предварительная инкубация макрофагов со 100 мкг/мл преднизолона в течение 15 мин до введения 200 мкг/мл глутоксима вызывает практически полное падение как мобилизации  $Ca^{2+}$  из депо, так и последующего входа  $Ca^{2+}$ , индуцированных глутоксимом. Аналогичные данные получены с использованием 200 мкг/мл моликсана.

Таким образом, нами впервые показано, что преднизолон вызывает значительное падение обеих фаз  $Ca^{2+}$ -ответа, индуцированного глутоксимом или моликсаном в макрофагах. Полученные данные свидетельствуют об участии ФЛА<sub>2</sub> и каскада метаболизма АК в действии глутоксима или моликсана на  $[Ca^{2+}]_i$  в макрофагах. Результаты указывают также на нежелательность совместного применения препаратов глутоксим и моликсан и глюкокортикостероидов. Результаты, полученные в этой работе и ранее, свидетельствуют о том, что глутоксим и моликсан, не способные проникать через плазмалемму, вызывают в макрофагах комплексный сигнальный каскад, приводящий к увеличению  $[Ca^{2+}]_i$  и активации макрофагов, одним из ключевых событий в котором является запуск каскада метаболизма АК.

## **ВОЗДУДИМОСТЬ МОТОНЕЙРОНОВ В УСЛОВИЯХ ТРАВМАТИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ СПИННОГО МОЗГА КРЫСЫ**

### **Excitability of motor neurons during the traumatic injury of rat spinal cord**

**Милицкова А.Д., Балтина Т.В.**

Казанский федеральный университет, Казань, ул. Кремлевская 18

e-mail: [fata.morgana2010@yandex.ru](mailto:fata.morgana2010@yandex.ru)

Травма позвоночника с повреждением спинного мозга является одной из актуальных медико-социальных проблем, так как встречается довольно часто, определяется высокой летальностью и глубокой инвалидизацией. Известно, что при травматическом повреждении спинного мозга нарушается баланс возбуждения и торможения в мотонейронах. Исследования механизмов возникновения реакций мотонейронов на афферентные воздействия в условиях травмы спинного мозга могут иметь значение при анализе двигательных расстройств и способствовать разработке новых подходов к поиску эффективных методов восстановления при двигательных нарушениях. Исследовать импульсные свойства мотонейронов позволяет методика отведения потенциалов одиночных двигательных единиц.

Целью нашей работы являлось определение характера реакции импульсирующих двигательных единиц икроножной мышцы крысы на афферентный стимул в условиях контузионной травмы спинного мозга.

Моделировали дозированную контузионную травму спинного мозга на уровне Th3-Th4 по модифицированной методике Allena (1914). Применяли электронейромиографические методы регистрации импульсной активности мотонейронов спинного мозга крысы при стимуляции афферентов седалищного нерва. Производили оценку активности мотонейронов на 1, 3, 7, 14, 21, 30, 60, 90 сутки после операции. Для определения изменения межимпульсного интервала на афферентное влияние использовали метод унификации значений межимпульсного интервала. По результатам исследования были выявлены некоторые особенности активности мотонейронов в остром и хроническом периоде. В остром периоде после травмы спинного мозга в импульсной последовательности регистрировались эпизодические двойные разряды (1-4 дуплета), чередующиеся с одиночными разрядами.

Показано, что существует линейная зависимость между величиной межимпульсного интервала и характером реакции мотонейрона: если афферентный залп заставлял двигательную единицу импульсировать с высокой частотой в постстимульном периоде чаще отмечали ее снижение, если же частота импульсации двигательной единицы была невелика – увеличение. На первые сутки после травмы спинного мозга происходит сдвиг фоновой частоты импульсации ДЕ в сторону повышения. Однако это изменение связано, вероятнее всего, с наблюдаемым увеличением следовой деполяризации. На 3, 7 сутки и в хроническом периоде после травмы спинного мозга проявляли более выраженную “тормозную” реакцию, вполне соответствующую изменению фона. Число тестов, в которых была зарегистрирована высокая частота фоновой импульсации, сокращалось, однако сама частота увеличивалась. Предполагается, что причиной этого может быть повышение активности мотонейронов (последнее обнаруживается при повреждающих воздействиях).

Таким образом, полученные результаты показывают, что определяющим фактором характера реакции мотонейронов на афферентную посылку является его фоновая частота импульсации, характеризующая его возбудимость и определяемая собственными свойствами мотонейрона и не зависит от контузионной травмы спинного мозга.

*Работа поддержана грантом РФФИ №13-04-01746а.*

**СОПРЯЖЁННЫЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ЭФФЕКТЫ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ХЛОРИНА И КАТИОННОГО ЗОНДА ДСМ В НАТИВНОЙ КРОВИ ОНКОБОЛЬНЫХ ДО И В ПРОЦЕССЕ ФДТ****Conjugate fluorescent effects of photosensitizer Chlorin and cationic probe DSM innative blood of cancer patients beforeand during PDT**

***Морозова Г.И., Борисов В.А.***

1 – Российский Университет Дружбы Народов, 17198, Москва, ул. Орджоникидзе, д.3;

2 – Центр хронофототерапии, 107014, Москва, Попов проезд, д.4;

Тел.: +7(495)955-08-38; +7 917 595 3033; e-mail: gimorozova@mail.ru

В Центре хронофототерапии при диагностике опухолей и метастазов пациентам внутривенно вводятся небольшие количества фотосенсибилизатора хлорина  $e_6$  (Хл). Наблюдаемым фактом является то, что лазерное излучение с длиной волны  $\lambda = 662$  нм вызывает флуоресцентное свечение из мест накопления Хл с глубины порядка 1см; исходя из наблюдаемой динамики накопления Хл с помощью специальной аппаратуры определяют время и мощность облучения, требуемое для реабилитации онкобольных (ОБ) [1], в частности, при иммунокоррекции. В данной работе продемонстрированы возможности флуоресцентного цитофизического метода анализа периферической крови, флуорохромированной зондом-катионом ДСМ *in vitro* [2], для динамического контроля за накоплением и фотодинамической активностью Хл в опухолевых тканях (*in vivo*) и одновременно за энергетической активностью (ЭА) иммунных клеток в процессе ФДТ. Люминесцентно-микроскопические исследования исходных мазков крови с ДСМ, взятой у разных ОБ (15 чел. в постоперационном периоде) помимо митохондриальной флуоресценции ДСМ в иммунных клетках [2] выявляют диффузную желто-зелёную флуоресценцию ДСМ в микрофрагментах разрушенных тканей (МФ) (типа микроэмболий) различной формы и размеров (30 -200 мкм). В мазках крови, взятой у ОБ этой группы, через 2 часа после внутривенного введения Хл обнаружены аналогичные МФ, но среди них выявлены МФ с красной флуоресценцией по периферии (с  $\lambda_{max} = 650$  нм, характерной для Хл). Через 1 час и более после однократного лазерного облучения ОБ (в опухолевых зонах с Хл) по методу [1] в мазках крови этих ОБ наблюдали ярко-красную флуоресценцию Хл в виде агрегатов мелких частиц, локализованных в разных зонах МФ-ов на фоне диффузной желтой флуоресценции ДСМ. Одновременно в этих же мазках крови с ДСМ оценивали энергетическую активность (ЭА) лейкоцитов по методу [2]. Установлено, уже через 30 мин после внутривенного введения ХЛ в препаратах крови ОБ по флуоресценции ДСМ регистрируется достоверный рост ЭА нейтрофилов и Т-супрессоров, а после сеанса ФДТ (облучения) наблюдается помимо этого усиление атаки лейкоцитов на МФ-ы, содержащие остатки выгоревшего Хл. Важно отметить, что в присутствии катионов ДСМ резко снижается скорость фотодинамического тушения флуоресценции Хл (анионов) в мазках крови. Такой эффект может быть сопряжен с миграцией энергии при взаимодействии этой катион-анионной пары в липопротеиновых центрах их связывания внутри МФ. Из анализа флуорометрических данных следует, что в случаях эффективной тактики ФДТ интенсивность флуоресценции Хл в МФ и количество этих МФ в крови ОБ сначала возрастают в течение суток, а затем снижаются в течение 3-х суток и более, т.е. кровь постепенно очищается.

1. Борисов В.А., Загускин С.Л. /Онкохирургия, 2009. Т.1. .№ 2 .С.19 -21

2. Морозова Г.И., Онищенко Н.А., Оржеховская И.Г. и др./Гематология и трансфузиология 1997.Т.42. С 43 -47

## СТРУКТУРНЫЕ АНАЛОГИ ХЛОРАМИНА ТАУРИНА – РЕГУЛЯТОРЫ ФУНКЦИЙ ТРОМБОЦИТОВ

### Structural analogs of taurine chloramine are regulators of platelet functions

**Мурина М.А.1, Рощупкин Д.И. 2,1, Сергиенко В.И.1**

1 – ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства» Москва, 119435, ул. Малая Пироговская 1А

2 – ГБОУ ВПО "Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова" Минздрава, 117997, Москва, ул. Островитянова 1

*e-mail: marina\_murina@mail.ru*

В предупреждении внутрисосудистых тромбозов важную роль играют ингибиторы функций тромбоцитов (антиагреганты) и компонентов коагуляции плазмы крови (антикоагулянты) [1-3]. Нами обнаружено [4], что эффективными антитромботическими средствами являются хлорамины аминокислот и таурина, образующиеся в организме при активации фагоцитов [5]. Были созданы новые N-ацильные и N-алкильные аналоги N-хлортаурина, обладающие повышенной устойчивостью. Изучены физико-химические характеристики и биологические свойства, определяющие их антитромботическую активность. Некоторые характеристики, в частности, парциальные заряды Малликена для хлораминовой части и смежных атомов, рассчитаны непараметрическим квантовомеханическим методом B3LYP [6]. Определены константы скоростей реакций структурных аналогов N-хлортаурина с серосодержащими соединениями. Получена количественная корреляция реакционной способности исследуемых хлораминов с их молекулярными расчетными характеристиками. Показано, что два варианта аналогов хлорамина таурина обладают разной избирательностью взаимодействия с серосодержащими группами белков. N-Ацильные аналоги хлорамина таурина характеризуются повышенной реакционной способностью по отношению к сульфгидрильной группе цистеина, а N-алкильные – к сульфидной группе метионина. Установлено, что антиагрегантный и антикоагулянтный эффекты аналогов хлорамина таурина зависят от их структуры. Наибольшая антиагрегантная активность в суспензии изолированных тромбоцитов характерна для ацильных аналогов хлорамина таурина. Алкильный аналог вызывает многократное увеличение периода коагуляции плазмы, активируемой контактным способом или тромбином [7]. Данное различие в свойствах исследуемых аналогов хлортаурина может определяться их хемоселективными реакционными особенностями. Выраженное антиагрегационное действие хлораминов таурина, скорее всего, обусловлено модификацией сульфгидрильных и сульфидных групп в белках – рецепторах плазматической мембраны. Было установлено, что модификацию тромбоцитарных рецепторов АДФ P2Y<sub>12</sub> и фибриногена (интегрин GP IIIa-IIb) можно обнаружить турбидиметрическим методом, путем исследования зависимости начальной скорости агрегации тромбоцитов от концентрации агониста АДФ. Проведено сравнение антиагрегационного действия хлораминов с действием АТФ и интегрилина, соответственно конкурентных ингибиторов рецептора АДФ и фибриногена.

1. Kluge A. F., Petter R. C. /Current Opinion in Chemical Biology, 2010. V.14. P.421-427.
2. Undas A., Brummel-Ziedins K. E., Mann K. G. / Blood, 2007. V.109. P.2285-2292.
3. Guerra D.R., Tchong J. E. /Adv. Ther., 2009. V. 26. P. 999-1011.
4. Мурина М.А., Рощупкин Д.И. и др. /Биофизика, 1997. Т. 42. С.1279-1285.
5. Thomas E.L., Grisham M.B., Melton D.F., Jefferson M. M. /J. Biol. Chem., 1985. V. 260. P. 3321-3329.
6. Рощупкин Д.И., Кондрашова К.В., Мурина М.А. /Биофизика, 2014. Т. 59. С.1045-1050.
7. Мурина М.А., Рощупкин Д.И. и др. / Бюлл. exper. биол. мед., 2014. Т. 157. С.169-179.

**ОБ ОБЩИХ ФИЗИЧЕСКИХ АСПЕКТАХ ЗАДАЧИ ЭФФЕКТИВНОГО ПОИСКА, ВЫЯВЛЕНИЯ И УНИЧТОЖЕНИЯ МАЛИГНИЗИРОВАННЫХ КЛЕТОК IN VIVO И IN VITRO**

**About the general physical aspects of a problem of effective search, exposure and destruction of malignant cell *in vivo* and *in vitro***

***Намиот В.А. 1, Коган Е.А. 2, Филатов И.В. 3, Полищук М.С. 4, Туманян В.Г. 5, Есипова Н.Г. 5***

1 – Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Научно-

исследовательский институт ядерной физики, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 1

2 – Московская Медицинская Академия им. Сеченова, 119881, Москва, Малая Трубецкая, 8

3 – Московский физико-технический институт, 141700, Московская обл., г. Долгопрудный, Институтский пер., 9

4 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, 119991, Москва, ул. Губкина, 3

5 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32

*e-mail: vnamiot@gmail.com*

Предложен принципиально новый способ выявления малигнизированных клеток, «уходящих из под надзора иммунной системы». Распознавание таких клеток должно осуществляться единым комплексом, состоящим из нескольких соединённых друг с другом антител, для каждого из которых на поверхности имеется своя мишень связывания. Выбор мишеней определяется специфическим профилем антигенов, экспрессируемых на таких клетках (Surface-antigen expression profiling). При этом эффективность распознавания оказывается во много раз выше, чем, если молекулярные группы действуют по отдельности. Эффективность распознавания можно характеризовать величиной  $\nu_1$ , которая представляет собой отношение вероятности распознающему объекту связаться с раковой клеткой к вероятности связаться с нормальной. Можно показать, что для успешного излечения от опухоли, требуется  $\nu_1 \geq (500-1000)$ . Так как раковые клетки обычно не имеют на поверхности специфических антигенов, для выполнения требуемых для величины  $\nu_1$  условий надо к распознающему нано-устройству «пришить» не одну распознающую молекулярную группу, а сразу несколько. Причём каждая из них должна комплементарно связываться со своей мишенью, присутствующей на поверхности малигнизированной клетки, и входящей в группу так называемых «несовместимых» мишеней, которые отличаются тем, что на нормальных клетках одновременно не встречаются. Если все эти молекулярные группы свяжутся каждая со своей мишенью, то полная энергия связи нано устройства с этой клеткой  $E'_s$  действительно будет существенно выше, чем с нормальной.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проекты 14-04-90034-Бел\_a и 15-04-99605a.*

## **БИОКАТАЛИТИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ПОЛУЧЕНИЮ ГИДРОЛИЗАТОВ МАТРИКСА ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНЕЙ СУСТАВОВ**

**Biocatalytic approach for obtaining hydrolysates of cartilage tissue matrix to prevent and treat joint diseases**

***Николаева Т.И. 1, Молчанов М. В. 1, Лауринавичюс К. С. 2, Шеховцов П.В. 1***

1- ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, 142290, г. Пущино Московской обл., просп.Науки, 3

2- ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов Российской академии наук, 142290, г. Пущино Московской обл., просп.Науки, 5

*e-mail: tomivnik@yandex.ru*

Болезни хрящей: артриты и артрозы суставов, разрушения межпозвонковых дисков в позвоночнике являются распространенными хроническими заболеваниями. Фармакологическими средствами болезни опорно-двигательного аппарата с трудом поддаются лечению. Одна из проблем рационального поиска природных лекарственных средств, способных оказывать биофармацевтическое действие на суставы, может быть решена разработкой нутрицевтиков из компонентов соединительных тканей животных и гидробионтов. Получение аминокислот, пептидов, гликозаминогликанов биокаталитическим методом способствует сохранению структуры ингредиентов матрикса. Мы исследовали гидролиз белков гиалиновых хрящей, выделенных из трахей крупного рогатого скота и свиней. Как правило, для гидролиза белков, содержащихся в соединительных тканях, используют не отдельные протеазы, а комплексы ферментов. Эти ферменты обладают выраженным специфичным действием, разрывая определенные связи в белках. Мы применяли следующие комплексы ферментов: протепсин, фитобаин, химопсин, папаин, панкреатин, коллагеназу. Степень гидролиза (DH) является наиболее значимой характеристикой глубины гидролиза. Индекс DH коррелирует с распределением длин молекулярных цепей и с молекулярной массой пептидов. В результате проведенных экспериментов мы определили, что параметрами процесса гидролиза, существенно влияющими на степень гидролиза, являются температура, величина pH, продолжительность процесса, концентрация ферментных препаратов. Нами показано, что наибольшая степень гидролиза наблюдается под действием фитобаина при следующих условиях: pH 6,0; T=55°C, 10% фитобаина, время гидролиза 3 часа. Для оценок качественного состава гидролизатов мы использовали ЯМР- и масс-спектрометрию. На спектрах ЯМР обнаружены пептиды, содержащие до 50 аминокислотных остатков. Результаты масс-спектрометрии подтверждают данные ЯМР и показывают наличие пептидов молекулярной массы от 2000 до 4000 D. В гидролизатах хрящевой ткани найдены также расщепленные низкомолекулярные фрагменты гиалуроновой кислоты и хондроитин-4-сульфата. Таким образом, мы получили гидролизаты хрящевой ткани с молекулярно-массовым распределением структурных элементов матрикса хрящевой ткани, изменяющиеся от 100 до 4000 D. Для активации ферментативного гидролиза мы использовали разные физические и химические методы. Обработка гомогената при T=0°C ультрафиолетовым светом, который стимулирует разрушение коллагеновых фибрилл и генерирует образование супероксидных радикалов в присутствии катионов меди и марганца, активизирует последующий ферментативный гидролиз. Выход низкомолекулярной фракции в гидролизатах увеличивается на 40 % по сравнению с образцами, не обработанными ультрафиолетовым светом. Найдено, что значения параметров гидролиза отечественного ферментного препарата фитобаина выше значения параметров гидролиза отечественных ферментных препаратов протепсина, химопсина, коллагеназы, зарубежного аналога папаина и зарубежного ферментного препарата панкреатина.



**ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ СОЭ К ПИЩЕВЫМ ПРОДУКТАМ И КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ ЭРИТРОЦИТОВ****Sensitivity the erythrocyte sedimentation rate for foodstuff and transmissivity RBC -membranes for oxygen**

***Новиков В.Э. 1, Ражнова Н.В. 1, Розенталь В.М. 2***

1 – Московская Государственная Академия Ветеринарной Медицины и Биотехнологии им. К.И.Скрябина, 109273, Москва, ул. Акад.Скрябина, 23

2 – Институт экологической Реабилитации, , 115093, Москва, Люсиновская ул., 53/12, стр. 2  
e-mail : laizzza@rambler.ru e-mail: info@diptest.ru

Реакция скорости оседания эритроцитов человека широко используется как тест-система в самых различных случаях. Кратковременная инкубация крови с экстрактами различных продуктов может резко увеличить СОЭ в случае, если данный продукт реактогенен (продукт «красного списка») для донора от которого получена кровь и не повлиять или слабо повлиять на СОЭ, если продукт из «зеленого списка» (R-тест) [1].

С помощью ранее разработанной методики и соответствующей аппаратуры [2], определяли параметры кислородтранспортной функции эритроцитов:  $r_{50}$  – характеризующее свойство эритроцитарного гемоглобина к кислороду и  $KZ$  – константу скорости выхода кислорода из эритроцитов, характеризующую проницаемость мембран эритроцитов по кислороду [2]. Материалом исследования служила венозную кровь донора, разделенная на 6 порций, 5 из которых предварительно инкубировали с экстрактами из разных пищевых продуктов, с разной степенью выраженности R-теста для данного донора. В контроле СОЭ равнялось 5 мм/час, в самом реактогенном случае СОЭ ускорялось до 28 мм/час.

В результате было обнаружено, что величина  $r_{50}$  во всех случаях не отличается от контроля и составляет  $(26 \pm 1,5)$  Торр. Иная картина оказалась в отношении величины  $KZ$ : в образце, где СОЭ поднялось до 28 мм/час, величина  $KZ$  упала относительно контроля: от значения  $(0,65 \pm 0,04) \text{ с}^{-1}$  до значения  $(0,23 \pm 0,05) \text{ с}^{-1}$ . Построенная (по 6 точкам) зависимость  $KZ$  от СОЭ носит монотонный характер. Регрессионной моделью зависимость приближенно описывается как  $KZ = 0,6 * (\text{СОЭ} - 5)^{-0,295}$  (без контрольного образца). Обнаруженный эффект можно объяснить экранированием мембраны сорбированными продуктами.

1. Розенталь В.М., Новиков В.Э. /Патент на изобретение № 2256917 «Способ определения динамики изменения скорости оседания эритроцитов и устройство для его осуществления. Зарегистрировано в Гос.реестре изобретений РФ 20 июля 2005г.

2. В.Э.Новиков, В.М.Розенталь/ Измерение проницаемости мембран эритроцитов для кислорода/ LAP LAMBERT Academic Publishing/2014/ 120с

## **«СКРЫТЫЙ» ГЕМОЛИЗ И ПОВЫШЕНИЕ БАКТЕРИЦИДНОСТИ ПЛАЗМЫ КРОВИ IN VITRO И ВОЗМОЖНАЯ ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ЭФФЕКТА**

**Veiled erythrolysis and increase of bactericidal action blood plasma in vitro and possible pathophysiological part this effect**

***Новиков В.Э. 1, Ражнова Н.В.1, Розенталь В.М.2***

1 – Московская Государственная Академия Ветеринарной Медицины и Биотехнологии им. К.И.Скрябина, 109273, Москва, ул. Акад.Скрябина, 23

2 – Иинститут экологической Реабилитации, , 115093, Москва, Люсиновская ул., 53/12, стр. 2  
e-mail. : laizzza@rambler.ru

Инкубировали цельную кровь доноров-мужчин при 37<sup>0</sup>С в вакутейнерах с гепарином. При этом, осуществлялось неполное перемешивание крови с помощью ротамикса. Контроль – та же кровь , но при +4<sup>0</sup>С. Через сутки инкубации в образцах крови развивался визуально хорошо-видимый гемолиз. Исследование части образцов, взятых через 2 -4 часа от начала инкубации показало отсутствие спектрально-выявляемых признаков гемолиза в плазме, отсутствие ( в пределах погрешности методов) снижения гематокрита и концентрации эритроцитов. Однако, при этом имели место небольшие сдвиги кислотной и осмотической эритрограмм в сторону повышения резистентности, за счет исчезновения частей соответствующих наименее устойчивых клеткам.

Исследование люминол-зависимой хемилюминесценции этих образцов показало достоверное увеличение (рост АФК?) относительно контроля.

Далее, плазму образцов крови (2 -4 часа инкубации) подвергли исследованию на бактерицидность по способности подавлять рост *E.colli*. по стандартной методике, сравнение по левомицетину: культура по  $0,2 \times 10^9$  кл/мл в 5мл пробирках с МПБ, 1 мл различных разведений плазмы, инкубация 24 часа в термостате. Затем разлив по 0,1 мл в чашки Петри с МПА (d=55мм LUX Miles) и термостатирование 24 часа опять при 37<sup>0</sup>С; подсчет колоний. Повторность высева- 3-кратная. Сравнение испытуемого материала с левомицетином: разведение плазмы 1/32 соответствует 16мкг/мл левомицетина. В контроле столь выраженный эффект отсутствовал даже на уровне неразведенной плазмы.

Возможно, что первичная реакция организма на инфекцию – повышение темепературы тела, сопровождающаяся некоторым повышением уровня внутрисудистого гемолиза, является первой защитной реакцией – через рост АФК, вызванный кратковременным повышением концентрации свободного гемоглобина в крови. Лейкоцитарный ответ развивается позже на 12 -24 часа.

**СРОДСТВО ГЕМОГЛОБИНА И ПРОНИЦАЕМОСТЬ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ К СИНГЛЕТНОМУ(?) КИСЛОРОДУ****The measurements of oxygen transport function RBC for ROS*****Новиков В.Э. 1, Ражнова Н.В.1, Розенталь В.М.2***

1 – Московская Государственная Академия Ветеринарной Медицины и Биотехнологии им. К.И.Скрябина, 109273, Москва, ул. Акад.Скрябина, 23

2 – Институт экологической Реабилитации, , 115093, Москва, Люсиновская ул., 53/12, стр. 2  
*e-mail. : laizzza@rambler.ru; e-mail: info@dietest.ru*

Одна из возможных, причин тканевой гипоксии при метаболическом синдроме - нарушение кислородтранспортной функции эритроцитов. В соответствии с ранее разработанной методикой [1], определяли сродство гемоглобина к кислороду и проницаемость мембран эритроцитов по кислороду . В качестве критерия сродства гемоглобина к кислороду использовали величину  $p_{50}$  (в соответствии с моделью Хилла), критерия проницаемости – константу –  $KZ$  [1]. Модификация методики , позволила измерять  $HbO_2$  % при  $pO_2$  ( $0 \div 200$ )Торр.

В исследовании использовали венозную кровь донора. Для оксигенации эритроцитарного гемоглобина, путем барботажа суспензии, использовали воздух, активированный безэлектродным электрическим разрядом. Воздух продували через 3 последовательно соединенные трехгорлые колбы. В основную горловину каждой из колб, вставлен аппарат Дарсонваля. Колбы стоят на заземленном металлическом листе. Контроль результатов активирования воздуха - 10-минутный барботаж водно-метанольного раствора (1/1)  $10^{-5}$  М ДФБФ (дифенилбензидиновый фиолетовый (дифенилдифенохинондиимин )), приводит к обесцвечиванию раствора. Значения калибровки полярографа по газовым смесям с использованием такого воздуха не отличаются от обычных. В результате установлено:

1) увеличение сродства гемоглобина к кислороду для активированного воздуха (для неактивированного воздуха  $p_{50} = (26 \pm 1)$ Торр, для активированного –  $p_{50} = (19 \pm 2)$  Торр);

2) проницаемость мембран эритроцитов для кислорода при этом не изменилась;

3) изменение сродства к кислороду носило полностью обратимый характер – повторная оксигенация суспензии эритроцитов обычным воздухом давала значения  $p_{50}$  как в контроле.

При использованном способе активирования воздуха, помимо синглетного кислорода, могут образовываться и другие активные формы кислорода и различные окислы, прежде всего азота, которые также могут влиять на сродство гемоглобина и кислорода.

1. В.Э.Новиков, В.М.Розенталь/ Измерение проницаемости мембран эритроцитов для кислорода/ LAP LAMBERT Academic Publishing/2014/ 120с

## **ЭФФЕКТЫ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ФЕРМЕНТОВ-АНТИОКСИДАНТОВ ПРИ НЕЙТРАЛИЗАЦИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ТКАНЯХ**

**Effects of modified antioxidant enzyme in the neutralization of oxidative stress in epithelial tissues**

**Новоселов В.И.**

ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, 142290, г. Пущино, ул. Институтская 3

*e.mail: novoselov-vi@rambler.ru*

Экспериментально доказано, что различные по происхождению воспалительные патологии у человека сопровождаются мощным окислительным стрессом, являющимся одним из основных поражающих факторов, в первую очередь в эпителиальных тканях. Для нейтрализации образующихся при этом активных форм кислорода (АФК) существует набор ферментов – супероксиддисмутаза и набор пероксидаз (каталаза, глутатионпероксидаза, пероксиредоксины). Это позволило предположить, что экзогенное применение ферментов-антиоксидантов может быть использовано для существенного ускорения лечения многих воспалительных процессов. Действительно, в модельных экспериментах на животных нами было показана высокая эффективность представителя класса пероксиредоксинов – Ргхб - при лечении резаных ран, поражений верхних дыхательных путей при термическом и химическом ожогах, ишемически/реперфузионном поражении тонкого кишечника, почки и изолированного сердца. В этих моделях была продемонстрирована важность нейтрализации в первую очередь гидропероксидов при окислительном стрессе, сопровождающим перечисленные патологии.

Другим перспективным направлением является создание химерных белков-антиоксидантов с сопряженной супероксиддисмутазной и пероксидазной активностями, что будет проявляться в синергизме по нейтрализации всех видов активных форм кислорода, так как одна и та же молекула использует продукт одной составляющей (СОД) в качестве субстрата для другой ее составляющей (пероксидаза). В нашей лаборатории создание первого такого рекомбинантного химерного белка-антиоксиданта было проведено генно-инженерными методами путем комбинации генов пероксиредоксина и супероксиддисмутазы (белок PSH). Высокая эффективность полученного рекомбинантного химерного белка была продемонстрирована в экспериментах по химическим ожогам трахеи, ишемически/реперфузионном поражении почки и при радиационном поражении при сублетальной дозе облучения.

Важной проблемой является также разработка способов адресной доставки препаратов в пораженную ткань, особенно учитывая белковую природу ферментов-антиоксидантов. В этом отношении очень привлекательным является использованием клеток-продуцентов нужных ферментов, которые будут локализованы в пораженном органе. В качестве таких клеток-продуцентов могут выступать стволовые клетки, в которые генно-инженерными методами вводятся гены соответствующих факторов и системы, активирующие их секрецию. Фиксация таких клеток-продуцентов на определенное время в пораженном органе осуществляется с помощью введения в эти клетки магнитных частиц с последующим их удерживанием с помощью внешнего магнитного импланта.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ОТЛИЧИЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ И ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ ПРИ СПЕКТРАЛЬНОМ И ТЕРМИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ****Study of serum differences between patients with multiply myeloma and healthy donors by FTIR-spectrometry and thermal analysis*****Носенко Т.Н.1, Плотникова Л.В.1, Успенская М.В.1, Олехнович Р.О.1, Поляничко А.М.2, Волошин С.В.3, Гарифуллин А.Д.3***

1 – Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий механики и оптики, Международный научно-исследовательский институт «Биоинженерия», г. Санкт-Петербург, 197101, Кронверкский, 49

2 – Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб. 7/9, г. Санкт-Петербург, 199034, Российская Федерация

3 – Российский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови, 2-я Советская улица, д. 16, г. Санкт-Петербург, 191024, Российская Федерация

Множественная миелома (ММ) составляет около 1% от всех злокачественных новообразований и чуть более 10% гемобластозов. Одним из критериев диагностики и оценки эффективности лечения больных ММ является определение уровня патологического протеина в сыворотке крови и/или моче. Метод электрофореза белков сыворотки крови позволяет выявить одиночный узкий пик или локализованный бенд (М-компонент) патологического белка, вырабатываемого клональными плазматическими клетками, у 80% больных ММ. При этом в сыворотке крови развивается выраженная диспротеинемия. Гипогаммаглобулинемия присутствует только в 10% случаев ММ, в то время как у оставшихся 90% пациентов имеются более сложные нарушения соотношения белков сыворотки крови.

В нашем исследовании мы применили комбинацию электрофоретического разделения, спектральных подходов и термального анализа для выявления ключевых различий белкового состава сыворотки, ее термального поведения и вторичной структуры белков в образцах, полученных из сывороток крови больных ММ и здоровых доноров.

Основываясь на рефрактометрическом анализе, мы подтвердили, что общее количество белка в сыворотке крови больных ММ существенно выше, чем у здоровых доноров. Анализ данных, полученных методом дифференциальной сканирующей калориметрии выявил качественные различия между образцами, полученными у больных ММ и здоровых доноров. Используя спектроскопию поглощения в инфракрасной области, мы оценили основные параметры вторичной структуры белков сыворотки крови. В работе обсуждается применимость использованных экспериментальных подходов для диагностики ММ.

Часть исследований была выполнена с использованием оборудования ресурсного центра оптических и лазерных методов исследования вещества Санкт-Петербургского государственного университета.

## **КАЛЬЦИЕВАЯ СИГНАЛИЗАЦИЯ И КОЛЛАПС МИТОХОНДРИЙ В СУБПОПУЛЯЦИЯХ АКТИВИРОВАННЫХ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ АКТИВАЦИИ**

### **Calcium signaling and mitochondria collapse in platelet subpopulations during activation**

**Обыденный С.И.1, 2, Свешникова А.Н.1, 2, 3, Атауллаханов Ф.И.1, 2, 3, 4, Пантелеев М.А.1- 4**

1 – Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, 119334, Москва, Ленинский пр., 38, корп. 1

2 – ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, 117997, Москва, ул.СаморыМашела, д.1

3 –Физический факультет МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 2

4–Факультет биологической и медицинской физикиМФТИ, 141700, Москововская область, г. Долгопрудный, Институтский переулок 9

*e-mail: mapanteleev@yandex.ru*

**Введение.** Активированные тромбоциты состоят из двух субпопуляций, одна из которых называется прокоагулянтной и отличается высокими концентрациями внутриклеточного кальция, падением мембранного потенциала митохондрий и наличием фосфатидилсерина на внешнем слое мембраны. Однако, динамика этих процессов, их временная и причинно-следственная связь плохо изучены.

**Цель.** Исследовать последовательность событий, ведущих к экспозиции фосфатидилсерина в активированных тромбоцитах.

**Методы.** Гель-фильтрованные тромбоциты загружались низкомолекулярными флуоресцентными маркерами на внутриклеточный кальций Fura Red и тетраметилпродаминол, избирательно накапливающимся в митохондриях и чувствительным к изменению потенциала митохондриальной мембраны. Тромбоциты инкубировались на фибриногеновой подложке для адгезии, а затем активировались при помощи тромбина или SFLLRN в присутствии флуоресцентно меченного аннексинаV для определения момента выхода фосфатидилсерина. Процесс активации регистрировался с помощью съемки в режиме реального времени на микроскопе Zeiss Cell Observer с конфокальной приставкой Yokogawa. Для планирования и анализа экспериментов была разработана математическая модель кальциевой сигнализации в PAR1-активированных тромбоцитах, которая описывает взаимодействия между цитозолем, плотной трубчатой системой и митохондриями. Система обыкновенных дифференциальных уравнений решалась программным обеспечением COPASI ([www.copasi.org](http://www.copasi.org))

**Результаты.** Стимуляция PAR1 запускала колебания концентрации цитоплазматического кальция, которые со временем затухали. В некоторых тромбоцитах эти колебания приводили к накоплению кальция в митохондриях посредством его забора митохондриальным унипортером. Это приводило к открытию митохондриальной поры, потере мембранного потенциала митохондрий и выходу фосфатидилсерина. Все три процесса развивались параллельно, без выраженной временной задержки. Потенциал падал в разных митохондриях не одновременно, а с короткими интервалами (1-5 секунд). Интересно, что тромбоциты, ставшие после активации прокоагулянтными, имели в среднем изначально более высокие концентрации внутриклеточного кальция, чем те тромбоциты, которые оставались на протяжении эксперимента без фосфатидилсерина.

**Вывод.** Прокоагулянтные тромбоциты формируются в результате перегрузки митохондрий кальцием, набираемым в ходе кальциевых колебаний, вызванных активацией тромбоцита. Тромбоциты с более высоким начальным уровнем кальция имеют большую вероятность стать прокоагулянтными.

*Работа проведена при поддержке грантов РФФИ 14-04-00670 и 15-54-45036.*

**МОДЕЛЬ ТРАНСПОРТА ФИБРИНОГЕНА В ПЛОТНОМ ГИДРОГЕЛЕ С СОДЕРЖАНИЕМ КОЛЛАГЕНА В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ****Model of fibrinogen transport in dense collagen hydrogel at physiological range of concentrations*****Осидак М.С.1, Ахманова М.А.1, Домогатский С.П.2***

1 – ООО фирмы Имтек, 121552, Москва, ул. 3-я Черепковская, д. 15а

2 – ФГБУ Российский Кардиологический Научно-Производственный Комплекс МЗ РФ, 121552, Москва, ул. 3-я Черепковская, д. 15а

Тел: +7(4967)31-19-85; e-mail: mariaosidak@gmail.com

В организме человека состояния острого и хронического воспаления часто сопровождаются увеличением проницаемости сосудов, что приводит к экссудации жидкости, содержащей фибриноген и другие факторы свертывания крови, в ткани. Локальное накопление полимерного фибрина детектируется патологоанатомами в различных типах ткани(1). Однако, механизмы, регулирующие внесосудистое свертывание в тканях недостаточно изучены. Внесосудистое свертывание может ограничиваться низкой концентрацией высокомолекулярных факторов свертывания – таких как фактор VIII и V (2). Доступность внутренних слоев внеклеточного матрикса для транспорта фибриногена и других факторов свертывания определяет локализацию возможного образования полимерного фибрина в ткани.

В данной работе исследовалось влияние состава искусственных коллагеновых гидрогелей, имитирующих внеклеточный матрикс тканей физиологически значимых концентрациях коллагена (основного структурного компонента внеклеточного матрикса тканей), на скорость диффузии фибриногена и макромолекул плазмы крови размером 40-900 кДа. Измерение скорости диффузии фибриногена в коллагеновом геле проводили по методике (3) с помощью диффузионной камеры Бойдена. Исследуемый образец гидрогеля толщиной 500 мкм формировал разделяющий барьер для перемещения макромолекул между ячейками. В результате было показано, что увеличение содержания с 0,5 до 4,5% фибриллярного коллагена в гидрогеле, заметно влияет на скорость диффузии макромолекул более 150 кДа. Для самого плотного геля скорость диффузии фибриногена снижается не более чем в 6 раз, тогда как для более крупных макромолекул размером 900 кДа(IgM) – до 20 раз.

Полученные экспериментальные данные были использованы при проверке расчетов математической модели, описывающей заполнение матрикса макромолекулами размером 40-900 кДа, поступающими за счет диффузии из омывающей жидкости. Показано, что концентрация макромолекул плазмы крови в глубине матрикса снижается обратно пропорциональна их молекулярной массе. На глубине до 200 мкм минимальная концентрация фибриногена через час после начала инкубации для 1% гидрогеля составляет не менее 40% , а иммуноглобулина IgM не менее 29% от их нормальной концентрации в плазме крови, но снижается до 19% для фибриногена и 1,3% для высокомолекулярного IgM в плотном 4,5% геле.

Можно сделать вывод, что плотный коллагеновый матрикс, полученными из нативного коллагена в условиях, приближенных к физиологическим, не является барьером для проникновения факторов свертывания крови на глубину до 200 мкм в концентрации достаточной для образования фибрина(не менее 5% от их уровня в плазме крови). Полученные результаты имеют большое значение в области тканевой инженерии, где коллагеновые гидрогели используются в качестве носителя для клеток при имплантации, так как определяют возможность модификации структуры импланта путем включения фибринового полимера.

1. Brown L.F., Van De Water L., Harvey V.S., and Dvorak H.F./Am.J. Pathol.1988.130: 455-465

2. Chang P., Aronson D.L., Borenstein D.G., Kessler C.M./ Am J Hematol. 1995. 50(2):79-83

3. Engberg K., Frank C.W./ Biomed Mater. 2011. Oct;6(5):055006.

## **РОЛЬ ФОСФОЛИПАЗЫ D В ИНДУКЦИИ ПЕРОКСИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ЦИТОХРОМА C**

### **Involvement of phospholipase D in the acquisition of peroxidase activity by cytochrome C**

**Осипов А.Н.1, Степанов Г.О.1, Симончик А.П.1, Владимиров Ю.А.1,2**

1 – Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, 117997 Москва, ул. Островитянова, д.1

2 – Факультет фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, 119991 Москва, Ленинские горы 1

Тел.:495-434-1174, e-mail:anosipov@yahoo.com

Хорошо известно, что цитохромС является одним из ключевых белков, участвующих в развитии апоптотических процессов в клетке. Именно образование мегапор в митохондриальной мембране и последующий выход цитохрома С из митохондрий знаменует собой переход апоптоза в необратимую стадию. В основе процесса выхода цитохрома С из митохондрий является приобретение последним пероксидазной активности при взаимодействии с анионными фосфолипидами: кардиолипином, фосфатидилсеринем, фосфатидной кислотой и другими. Одним из факторов контролирующим скорость появления пероксидазной активности у цитохромаС является количество анионных липидов в составе митохондриальных мембран.

В работе показано, что в присутствии фосфолипазыD, образующей фосфатидную кислоту, происходит существенное увеличение пероксидазной активности цитохромаС в случае, если фосфатидная кислота содержит остатки ненасыщенных жирных кислот. Кроме того, увеличение пероксидазной активности цитохромаС является причиной образования пор в мембранах липосом. Полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что фосфолипазаD может являться важным участником апоптотических процессов.

1. Firsov AM, Kotova EA, Korepanova EA, Osipov AN, Antonenko YN. Peroxidative permeabilization of liposomes induced by cytochrome c/cardiolipin complex. *BiochimBiophysActa*. 2015;1848(3):767-774.
2. Puchkov MN, Vassarais RA, Korepanova EA, Osipov AN. Cytochrome c produces pores in cardiolipin-containing planar bilayer lipid membranes in the presence of hydrogen peroxide. *BiochimBiophysActa*. 2013;1828(2):208-212.
3. Vladimirov YA, Proskurnina EV, Demin EM, Matveeva NS, Lubitskiy OB, Novikov AA, Izmailov DY, Osipov AN, Tikhonov VP, Kagan VE. Dihydroquercetin (taxifolin) and other flavonoids as inhibitors of free radical formation at key stages of apoptosis. *Biochemistry (Moscow)*. 2009;74(3):301-307.



**РЕГУЛЯЦИЯ ПРО- И АНТИ-ГАЛОГЕНИРУЮЩИМИ ФАКТОРАМИ АТЕРОГЕННОЙ МОДИФИКАЦИИ ЛИПОПРОТЕИНОВ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ****The regulation of atherogenic modification of low-density lipoproteins by pro- and anti-halogenative factors**

***Панасенко О.М.1, Соколов А.В.1,2, Костевич В.А.1,2, Чеканов А.В.1, Рунова О.Л.2, Горудко И.В.3, Черенкевич С.Н.3***

1 – ФГБУН НИИ физико-химической медицины ФМБА России, 119435, Москва,

2 – ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12

3 – Белорусский государственный университет, 220030, Минск, пр-т Независимости, 4

*e-mail: o-panas@mail.ru*

В организме человека присутствуют ферменты семейства гемсодержащих пероксидаз млекопитающих (донор:  $H_2O_2$ -оксидоредуктазы, КФ 1.11.1.7), среди которых, миелопероксидаза (МПО), пероксидаза эозинофилов и др. Эти ферменты катализируют реакции образования активных форм галогенов (АФГ:  $HOCl$ ,  $NOBr$  и др.) – сильных окислителей и галогенирующих агентов. С одной стороны, благодаря этой способности, пероксидазы осуществляют антимикробную функцию, с другой – участвуют в целом ряде событий, вовлеченных в повреждение клеток и тканей организма-хозяина, что приводит к развитию галогенирующего стресса [1]. Одной из мишеней АФГ являются липопroteины низкой плотности (ЛНП) крови, модификация которых в условиях галогенирующего стресса придает им атерогенные свойства, что способствует накоплению холестерина в субэндотелиальных клетках и развитию ранних стадий атеросклероза. В то же время, в организме имеются анти-галогенирующие агенты, снижающие галогенирующую активность пероксидаз и перехватывающие АФГ. От того, насколько сбалансирована работа про- и анти-галогенирующих систем, зависит судьба течения воспалительного процесса, возникновения галогенирующего стресса и развития атеросклероза. Цель работы – выявление роли про- и анти-галогенирующих систем организма в развитии галогенирующего стресса, приводящего к модификации ЛНП и развитию ранних стадий атеросклероза. Показано, что МПО связывается с поверхностью ЛНП за счет электростатических взаимодействий. Фосфолипиды на поверхности ЛНП в этом не участвуют. Антитела против апоВ-100 и пептид  $^{445}EQIQDDCTGDED^{456}$  (P445-456), имитирующий аминокислотную последовательность 445-456 апоВ-100, полностью предотвращают связывание МПО с ЛНП, свидетельствуя о том, что участок апоВ-100 445-456 является сайтом связывания МПО на поверхности ЛНП. Связанная с поверхностью ЛНП функционирующая МПО модифицирует их и превращает в атерогенную форму. Такие комплексы ЛНП-МПО захватываются моноцитами/макрофагами, приводя к накоплению в них холестерина и трансформации их в пенистые клетки. Ингибиторы/модуляторы галогенирующей активности МПО: церулоплазмин, гидразид 4-аминобензойной кислоты, тиоцианат и др., равно как и P445-456 препятствуют окислительной/галогенирующей модификации ЛНП, что уменьшает их захват клетками и снижает аккумуляцию внутриклеточного холестерина. Таким образом, связывание МПО с поверхностью ЛНП является ключевым звеном в их модификации под действием АФГ, образующихся в реакциях с участием МПО, трансформации ЛНП в проатерогенную форму, накоплении холестерина в моноцитах/макрофагах и их превращении в пенистые клетки. Разобщение комплекса МПО-ЛНП тем или иным способом может быть основой для разработки перспективных новых средств и подходов, направленных на профилактику и лечение атеросклероза.

*Работа поддержана РФФИ (14-04-00807), БРФФИ (Б14Р-035).*

1. Панасенко О.М., Горудко И.В., Соколов А.В. / Успехи биол. химии. 2013. Т.53. С.195-244.

## **АКТИВАЦИЯ НЕЙТРОФИЛОВ ЛИПОПРОТЕИНАМИ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ, МОДИФИЦИРОВАННЫМИ ГИПОХЛОРИТОМ. ВЛИЯНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ И ПЕРЕХВАТЧИКОВ ГИПОГАЛОИДНЫХ КИСЛОТ**

**Activation of neutrophils by hypochlorite-modified low-density lipoproteins. Effect of antioxidants and traps of hypohalous acids**

**Панасенко О.М.1, Михальчик Е.В.1, Горудко И.В.2, Григорьева Д.В.2, Соколов А.В.1,3, Костевич В.А.1,3, Черенкевич С.Н.2**

1 – ФГБУН НИИ физико-химической медицины ФМБА России, 119435, Москва,

2 – Белорусский государственный университет, 220030, Минск, пр-т Независимости, 4

3 – ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», 197376, Санкт-Петербург,

*e-mail: o-panas@mail.ru*

Липопротеины низкой плотности (ЛНП) являются основной транспортной формой холестерина в крови человека. Их модификация, происходящая под действием активных форм хлора (АФК) и галогенов (АФГ), образующихся при активации нейтрофилов в очаге воспаления, придает им атерогенные свойства, что способствует накоплению холестерина в клетках сосудов и развитию ранних стадий атеросклероза. На роль вероятного модификатора ЛНП претендует фермент миелопероксидаза (МПО), секретирующийся нейтрофилами и катализирующий образование АФГ и АФК (НОСl, НОВr, свободные радикалы и др.). В то же время, в организме имеются анти-галогенирующие агенты, препятствующие секреции МПО во внеклеточное пространство, снижающие ее галогенирующую активность и перехватывающие АФГ. От того, насколько сбалансирована работа про- и анти-галогенирующих систем, зависит судьба возникновения окислительного/галогенирующего стресса, течения воспалительного процесса и развития атеросклероза. Целью данной работы было выяснить, как соединения, обладающие антиокислительными свойствами и способностью перехватывать АФГ (церулоплазмин (ЦП), альбумин сыворотки крови человека (ЧСА), глутатион, таурин, цистеин, метионин), влияют на активацию нейтрофилов под действием ЛНП, модифицированных в условиях, моделирующих окислительный/галогенирующий стресс (м-ЛНП). Условия возникновения стресса моделировали путем воздействия на ЛНП гипохлорита (НОСl/ОСl<sup>-</sup>) в мольном соотношении 1:100 (30 мин при 37°C). Активацию изолированных из донорской крови нейтрофилов регистрировали 1) методом люминол-зависимой хемилюминесценции (ХЛ) в ответ на добавление ЛНП или м-ЛНП и последующее добавление активатора – форбол-12-миристан-13-ацетата (ФМА); 2) по продукции H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> флуоресцентным методом с использованием скополетина в качестве субстрата пероксидазной реакции. Показано, что м-ЛНП увеличивают по сравнению с нативными ЛНП скорость продукции нейтрофилами H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в ~1,5 раза. Это сопровождается увеличением ХЛ нейтрофилов, особенно в ответ на последующее после м-ЛНП добавление ФМА (в ~2,7 раза), что может свидетельствовать о праймирующем эффекте м-ЛНП в отношении окислительного взрыва нейтрофилов. Эффективные перехватчики НОСl: метионин (100 мкМ) и таурин (1 мМ), а также ЧСА (500 мкг/мл) и природный ингибитор МПО – ЦП (300 мкг/мл) снижали продукцию H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> нейтрофилами, стимулированными м-ЛНП на 37, 32, 63 и 41%, соответственно. В то же время, цистеин (33 мкМ), метионин (1,3 мМ), таурин (2,4 мМ), ЧСА (100 мкг/мл) и ЦП (360 мкг/мл) снижали ХЛ нейтрофилов, праймированных м-ЛНП, в ответ на ФМА на 57, 36, 12, 42 и 38%, соответственно. Полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что природные антиоксиданты и перехватчики гипогалоидных кислот препятствуют активации нейтрофилов в ответ на м-ЛНП, снижая тем самым вероятность возникновения окислительного/галогенирующего стресса.

*Работа поддержана РФФИ (гранты: 14-04-00807 и 14-04-90007), БРФФИ (Б14Р-035).*

**САМОИНАКТИВАЦИЯ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ В УСЛОВИЯХ  
ОКИСЛИТЕЛЬНОГО / ГАЛОГЕНИРУЮЩЕГО СТРЕССА****Self-inactivation of myeloperoxidase under oxidative/halogenative stress**

**Панасенко О.М.1, Вахрушева Т.В.1, Григорьева Д.В.2, Горудко И.В.2, Соколов А.В.1,3,  
Костевич В.А.1,3, Черенкевич С.Н.2**

1 – ФГБУН НИИ физико-химической медицины ФМБА России, 119435, Москва,

2 – Белорусский государственный университет, 220030, Минск, пр-т Независимости, 4

3 – ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», 197376, Санкт-Петербург,

*e-mail: o-panas@mail.ru*

Миелопероксидаза (МПО) – фермент, содержащийся главным образом в азурофильных гранулах нейтрофилов и высвобождающийся во внеклеточное пространство в очагах воспаления. МПО катализирует реакцию образования активных форм галогенов (АФГ), способных модифицировать биологически важные молекулы (белки, липиды, нуклеиновые кислоты и пр.), вызывать тем самым цитотоксичность, что приводит к развитию окислительного/галогенирующего стресса [1]. При этом МПО, находясь в очаге воспаления, сама становится мишенью для АФГ. Цель работы – в условиях, моделирующих возникновение окислительного/галогенирующего стресса, изучить особенности модификации ароматических аминокислотных остатков фермента, а также изменение его пероксидазной и галогенирующей активности, сопоставить результаты с бактерицидной активностью МПО. Условия возникновения окислительного/галогенирующего стресса моделировали: 1) путем воздействия на фермент АФГ, образующихся в МПО-зависимых реакциях:  $\text{HOCl}$ ,  $\text{HOBr}$ , хлор- и бромамины; 2) самоинактивацией фермента в присутствии  $\text{H}_2\text{O}_2$  и субстратов цикла галогенирования:  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$  или  $\text{SCN}^-$ . В качестве хлор- и бромаминов использовали хлор- и бромамины таурина, синтезированные в реакции таурина с  $\text{HOCl}$  и  $\text{HOBr}$ , соответственно. Показано, что инкубация МПО при 23°C в течение 1 ч в присутствии  $\text{HOCl}$ ,  $\text{HOBr}$  или бромамина таурина (МПО:АФГ=1:100, моль/моль) приводила к существенному снижению интенсивности собственной флуоресценции МПО ( $\lambda_{\text{возб.}}=285$  нм,  $\lambda_{\text{исп.}}=340$  нм), что свидетельствовало о разрушении, соответственно, 45, 45 и 38% остатков триптофана. Хлорамин таурина в аналогичных условиях не оказывал заметного влияния на интенсивность собственной флуоресценции МПО. Самоинактивация фермента в присутствии 140 мМ хлорида или 100 мкМ бромида сопровождалась разрушением, соответственно, 87 и 88% остатков триптофана. При самоинактивации МПО в присутствии 120 мкМ  $\text{NaSCN}$  интенсивность собственной флуоресценции МПО не изменялась. После инкубации МПО с  $\text{HOCl}$ ,  $\text{HOBr}$  или бромамином таурина снижалась как пероксидазная, так и хлорирующая активность фермента, начиная с мольного соотношения МПО:АФГ=1:50 и выше. Хлорамин таурина незначительно снижал активность МПО только при высоких концентрациях (МПО:АФГ=1:1000, моль/моль). Инактивация МПО при функционировании цикла галогенирования снижалась в ряду субстратов:  $\text{Br}^- > \text{Cl}^- > \text{SCN}^-$ . Модификация остатков триптофана и инактивация фермента сопровождалась снижением бактерицидной активности МПО (тестировали на лабораторном штамме кишечной палочки *E. coli* DH52). Полученные результаты свидетельствуют о том, что модификация аминокислотных остатков МПО в условиях окислительного/галогенирующего стресса, приводящего к развитию патологических реакций, характерных для очагов воспаления, снижает ее ферментативную активность, что сопровождается угнетением бактерицидной способности МПО.

*Работа поддержана РФФИ (14-04-90007) и БРФФИ (Б14Р-035).*

1. Panasenko O.M., Gorudko I.V., Sokolov A.V. *Biochemistry (Moscow)*. 2013.V.78. P.1466-1489.

## АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ И АПОПТОЗ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК КРОВИ ПРИ ГОНАРТРОЗЕ

### The activity of antioxidant enzymes and apoptosis of mononuclear cells in knee osteoarthritis

***Панина С.Б. 1, Кролевец И.В. 2, Плотников А.А. 1, Забродин М.А. 2***

1 – ФГАОУ ВПО Южный федеральный университет, 344006 Ростов-на-Дону, ул. Б. Садовая, 105/42

2 – ГБОУ ВПО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава РФ, 344022 Ростов-на-Дону, Нахичеванский пер., 29

*e-mail: tailana703@gmail.com*

Гонартроз(ГА) – артроз коленного сустава; является системным возраст-ассоциированным заболеванием, от которого в мире страдают более 251 млн человек [1]. Цель работы заключалась в исследовании взаимосвязи между активностью антиоксидантных ферментов в мононуклеарных клетках крови и интенсивностью их апоптоза при ГА.

Было обследовано 89 пациентов с диагнозом первичный ГА I-IV стадии по шкале Kellgren/Lawrence. Группа I включала 17 пациентов I стадии (возраст  $37,47 \pm 4,81$ ); группа II- 30 пациентов II стадии (возраст  $41,40 \pm 3,21$ ); группа III- 42 пациента III-IV стадий (возраст  $62,57 \pm 1,59$ ). В контрольную группу было включено 25 человек (возраст  $36,6 \pm 2,5$ ).

Установлено, что активность супероксиддисмутазы в мононуклеарах повышена во II-III группах на 66% и 93% ( $p < 0,001$ ), в I группе – не отличалась от контроля. Для каталазы показана аналогичная направленность изменений, ее активность повышается во II-III группах на 27% ( $p = 0,003$ ;  $p = 0,03$ ). Активность глутатионпероксидазы в мононуклеарах I и III групп пациентов не отличалась от нормы, во II группе наблюдалась тенденция к ее увеличению ( $p = 0,064$ ). Показано возрастание конъюгирующей активности глутатион-S-трансферазы во всех группах пациентов: в I – на 63% ( $p = 0,013$ ), во II – на 85% ( $p = 0,041$ ), в III – на 101% ( $p < 0,001$ ). Активность глутатионредуктазы превышала норму на 145% ( $p = 0,003$ ) и 151% ( $p = 0,004$ ) во II и III группах, соответственно. Активность ксантиноксидоредуктазы, которая выполняет двойственную роль и участвует в образовании как супероксидного анион-радикала (ксантиноксидаза), так и антиоксиданта мочевой кислоты, была увеличена во всех группах: в I – на 30% ( $p = 0,009$ ), во II – на 33% ( $p = 0,048$ ), в III – на 134% ( $p < 0,001$ ), что коррелировало со стадией ГА. Таким образом, при ГА (особенно на поздних стадиях) в мононуклеарных клетках крови наблюдается дисбаланс и напряженность функционирования ферментативных антиоксидантов. Исследование уровня апоптоза лимфоцитов крови у больных с первичным ГА методом проточной лазерной цитофлуориметрии с помощью FITC-меченого аннексина-V свидетельствует, что количество лимфоцитов на стадии раннего апоптоза составляет 8,51 (6,15-10,08)% от общего числа клеток, что на 53% ( $p = 0,013$ ) выше нормы. Это свидетельствует о значительной интенсификации апоптоза лимфоцитов при ГА и согласуется с нарушением редокс-состояния мононуклеарных клеток.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (Базовая часть госзадания № 213.01-11/2014-32).*

1. Anderson A.S., Loeser R.F. / Best Pract. Res. Clin. Rheumatol., 2010. Vol. 24. P. 15-26.

**ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ АНТИКОАГУЛЯНТОВ ПРЯМОГО ДЕЙСТВИЯ НА ПЛАЗМЕННОЕ ЗВЕНО СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ ПРИ ПОМОЩИ МЕТОДА ТРОМБОДИНАМИКА-4D****Investigation of mechanisms of action of direct oral anticoagulants on plasma clotting by thrombodynamics-4d assay**

***Пивоварова Е.И.1, Дашкевич Н.М.2, Атауллаханов Ф.И.1-4***

1 – МГУ им. М.В. Ломоносова, Физический факультет, Москва, Россия, Ленинские Горы, 1, стр.2,

2 – ООО ГемаКор Лабс, Москва, Россия, Научный пр-д, 20, стр. 2, 117246

3 – Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, Россия,

4 – ФНКЦ Детской гематологии, онкологии и иммунологии им Д. Рогачева, Москва, Россия,

*e-mail: kation31@yandex.ru*

Тромбоэмболические осложнения являются одной из основных причин смертности. В настоящее время применяются антикоагулянты, являющиеся прямыми ингибиторами ключевых белков свертывания крови. Антикоагулянты прямого действия широко применяются в клинической практике, но стандартных методов для их мониторинга на данный момент нет, также механизм их действия на систему гемостаза в целом на данный момент изучен неполно. Новый метод Тромбодинамика-4D позволяет напрямую исследовать процесс генерации тромбина в процессе образования фибринового сгустка и является перспективным методом мониторинга антикоагулянтной терапии.

В данной работе исследовано влияние одного из новых антикоагулянтов – дабигатрана – на параметры теста Тромбодинамики-4D в сравнении с нефракционированным гепарином. Дабигатран является прямым ингибитором тромбина. Наблюдение осуществлялось методом Тромбодинамика-4D, который позволяет наблюдать за распространением тромбина параллельно с ростом фибринового сгустка. Тромбин распространяется от места повреждения как бегущая волна [1], в ходе эксперимента фиксируется скорость её распространения (соответствует скорости роста сгустка), амплитуда, задержка роста сгустка и суммарное количество сгенерированного в ходе эксперимента АМС.

Для каждого антикоагулянта выполнены титровки на  $n=10$  здоровых донорах в диапазоне концентраций, полностью покрывающем терапевтический: НФГ от 0 Ед/мл до 2.4 Ед/мл (терапевтический диапазон 0-0.5 Ед/мл), дабигатран от 0 мкМ до 2.4 мкМ (терапевтический диапазон 0-0.5 мкМ).

Для дабигатрана: во всем измеренном диапазоне с ростом концентрации задержка времени роста сгустка возрастает в 8 раз, начальная скорость роста сгустка падает на 19%, стационарная скорость роста сгустка падает на 28%. Общее количество сгенерированного АМС уменьшается на 90%.

Для НФГ: во всем измеренном диапазоне с ростом концентрации задержка времени роста сгустка не изменяется, начальная скорость роста сгустка падает на 50%, стационарная скорость роста сгустка падает на 70%. Общее количество сгенерированного АМС уменьшается на 82%.

Выводы. Тромбодинамика-4D обладает высокой чувствительностью, что позволяет наблюдать значительные различия в механизмах воздействия разных антикоагулянтов.

1. Dashkevich NM, et al. "Thrombin activity propagates in space during blood coagulation as an excitation wave" *Biophys J.* 2012 103: 2233–40.

## **ПРИМЕНЕНИЕ НОВОГО МЕТОДА ТРОМБОДИНАМИКА-4D ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ АНТИКОАГУЛЯНТНОГО ДЕЙСТВИЯ ИНГИБИТОРОВ ФАКТОРА СВЕРТЫВАНИЯ Ха**

**Using a novel assay Thrombodynamics-4D for investigation of anticoagulant action of coagulation factor Xa inhibitors**

***Пивоварова Е.И.1, Дашкевич Н.М.2, Атауллаханов Ф.И.1-4***

1 – МГУ им. М.В. Ломоносова, Физический факультет, Москва, Россия, Ленинские Горы, 1, стр.2, 119991

2 – ООО ГемаКор Лабс, Москва, Россия, Научный пр-д, 20, стр. 2, 117246

3 – ФНКЦ Детской гематологии, онкологии и иммунологии им Д. Рогачева, Москва, Россия, ул. Саморы Машела, 1, 117997

4 – Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, Россия, ул Косыгина 4, 119991

*e-mail: n.dashkevich@hemacore.com*

Ингибиторы фактора свертывания Ха, такие как ривароксабан, в настоящее время получили широкое применение в клинической практике для предотвращения тромботических осложнений при различных патологиях. Механизм действия данного препарата основан на прямом ингибировании активного фактора X во время образования сгустка крови. Несмотря на простоту принципа, механизм влияния ингибитора одного фермента на сложный каскад системы плазменного свертывания в целом, до конца не ясен. Кроме того, применение антикоагулянтных препаратов требует развития чувствительных методов мониторинга терапии для достижения наилучшего терапевтического эффекта.

Свертывания крови является пространственно-неоднородным процессом, так как его активация локализована на поврежденных стенках сосудов, в то время как в результате образуется трехмерный сгусток, закрывающий место повреждения. Новый метод Тромбодинамика-4D, принцип которого был ранее описан в [1], позволяет наблюдать рост фибринового сгустка от локализованного на поверхности активатора и получать пространственно-временное распределение концентрации тромбина в процессе свертывания. Образование тромбина в такой системе происходит в две фазы – быстрая наработка высоких концентраций тромбина вблизи активатора и распространение в пространстве пика концентрации меньшей амплитуды, что обеспечивает рост фибринового сгустка.

Исследование действия ривароксабана проводилось *in-vitro* при добавлении в плазму здоровых доноров (N=8) различных концентраций ривароксабана от 0 до 0,5 мкМ, что соответствует терапевтическому диапазону концентраций. Ривароксабан вызывал значительное увеличение времени задержки роста сгустка от  $0,6 \pm 0,2$  мин до  $2,3 \pm 0,5$  мин. Также ривароксабан значительно снижал количество тромбина, производимое в системе. Максимальный эффект наблюдается для фазы распространения тромбина: амплитуда движущегося пика снижается с 50-100 нМ до нуля в то время, как приактиваторная генерация тромбина снижается в среднем на 50%.

Таким образом было показано, что основное антикоагулянтное действие ривароксабана проявляется в фазе распространения процесса свертывания в пространстве, а Тромбодинамика-4D является чувствительным методом, отражающим эффект ингибиторов фактора Ха на систему свертывания крови.

1. Dashkevich NM, et al. "Thrombin activity propagates in space during blood coagulation as an excitation wave" *Biophys J.* 2012, 103: 2233–40.

**ИЗМЕНЕНИЕ ЛИПИДНОГО СОСТАВА МЕМБРАН ПОВРЕЖДЕННЫХ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ НЕРВОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПЛЕНОК НА ОСНОВЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ И РЕСВЕРАТРОЛА****The lipid composition change in the membranes of damaged peripheral nerves with the use of films bacterial cellulose and resveratrol**

***Пиняев С.И., Исакина М.В., Морозова А.А., Ревин В.В.***

ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва», Факультет биотехнологии и биологии. 430032, Республика Мордовия, г. Саранск, ул. Ульянова, д.26Б  
Тел.: +7(8342)32-45-54; e-mail:komrad.pinyaev2009@yandex.ru

В связи с ростом различного типа травматизма наблюдается тенденция к увеличению повреждений периферических нервов. Однако, эффективность восстановления поврежденных нервных стволов остается довольно низкой, даже с применением различных лечебных мероприятий. Данный факт побуждает ученых к поиску новых веществ для улучшения восстановления поврежденных нервов. Ресвератрол-это фитохимическое вещество природного происхождения. [1]. В научной литературе имеется большое количество данных о самых разнообразных эффектах этого полифенола, а именно-нейропротекторный, антиоксидантный, противовоспалительный, антибактериальный. Целью нашей работы явилось исследование влияния ресвератрола в составе пленок из бактериальной целлюлозы на изменение липидного состава мембраны при повреждении соматических нервов крысы. Объектом исследования служили седалищные нервы белой беспородной крысы. Для создания модели патологии у животных на один из седалищных нервов наносили лигатуру, после чего накладывали на него бактериальную целлюлозу с ресвератролом в концентрации  $10^{-3}$  и  $10^{-5}$  М. Эффективность регенерации оценивали по изменению липидного состава и изменению состояния мембран поврежденных соматических нервов крысы. Липиды экстрагировали из нервной ткани по методу Блайя и Дайера, далее проводили их разделение с помощью микротонкослойной хроматографии в системе растворителей. Состояние мембран оценивали с помощью метода спектроскопии комбинационного рассеяния. В результате проведенных нами экспериментов было установлено, что травма седалищного нерва крысы сопровождается изменением содержания отдельных фосфолипидных фракций. Так, на начальном периоде денервации наблюдается увеличение фракций фосфотидилинозитола и фосфатидилэтаноламина, а также снижение уровня фосфатидилхолина. Кроме этого, в результате развития дегенерационных процессов в нерве происходит накопление лизофосфатидилхолина и лизофосфатидилэтаноламина. С увеличением послеоперационных сроков наблюдается нормализация фосфолипидного состава, однако он по-прежнему достаточно сильно отличается от контрольных значений. Исследования показали, что ресвератрол в составе пленок из бактериальной целлюлозы оказывают стабилизирующее действие на содержание фосфолипидов и приводит к менее заметному накоплению лизофосфолипидов на протяжении всего эксперимента. Однако следует отметить, что ресвератрол в концентрации  $10^{-3}$  М оказывает гораздо более выраженное действие по сравнению с концентрацией  $10^{-5}$  М. Кроме этого установлено, что травма нерва сопровождается снижением упорядоченности мембраны нервного волокна и увеличением соотношения белок/липид. При использовании пленок из бактериальной целлюлозы с добавлением ресвератрола наблюдается увеличение вязкости мембраны поврежденного миелинового нервного волокна, что выражается в нормализации состояния мембран поврежденного седалищного нерва крысы.

1. Baur J.A., Sinclair D.A. / Nature reviews Drug discovery, 2006. V. 5. №. 6. P.493-506.

**ПУТИ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОТЕРАПИИ ГИПЕРБИЛИРУБИНЕМИИ  
НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ В СВЕТЕ СОВРЕМЕННЫХ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ  
О ФОТОНИКЕ БИЛИРУБИНА**

**Methods to improve the efficacy of phototherapy for neonatal hyperbilirubinemia from viewpoint of bilirubin photonics**

***Плавский В.Ю., Третьякова А.И., Микулич А.В., Леусенко И.А., Плавская Л.Г.***

Институт физики имени Б.И. Степанова НАН Беларуси, 220072, Минск, пр-т Независимости, 68  
Тел.: + (375)17 284-09-58; факс: +(375)17 284-08-79; e-mail: v.plavskii@ifanbel.bas-net.by

Хорошо известно, что повышенное накопление билирубина в крови новорожденных детей опасно для младенца, так как может вызвать поражение центральной нервной системы в виде билирубиновой энцефалопатии, нарушения слуха, ингибирование активности иммунной системы и другие, не менее опасные осложнения и последствия. Цель настоящей работы – рассмотрение с позиций фотобиофизики возможных путей повышения эффективности фототерапевтических технологий лечения гипербилирубинемии новорожденных детей: как за счет совершенствования аппаратуры применительно к решению поставленных задач, так и путем оптимизации самих фототерапевтических процедур. Исследования процессов фотоизомеризации билирубина, его сенсibiliзирующего действия, а также других механизмов его фотоконверсии проводили, воздействуя излучением лазерных и светодиодных источников на химически чистый Z,Z- билирубин IX $\alpha$ , а также на плазму крови с повышенным содержанием пигмента, полученной в ходе (назначенного по медицинским показателям) заменного переливания. Показано, что дальнейший прогресс в направлении совершенствования фототерапевтических технологий лечения желтухи новорожденных может быть достигнут благодаря учету множества факторов, среди которых: адекватный выбор спектрального диапазона излучения, оптимизация интенсивности светового потока; увеличение площади поверхности тела младенца, подвергаемой световому воздействию (включая одновременное воздействие света сверху и снизу); оптимизация временного интервала между сеансами фототерапии; индивидуализации фототерапевтических процедур путем контроля неинвазивными методами динамики уровня билирубина во время сеанса фототерапии и во время пауз между фототерапевтическими процедурами. Показано, что из-за экранирующего действия эндогенных пигментов максимальная эффективность лечения наблюдается при воздействии света, спектральный диапазон которого приходится не на максимум спектра поглощения билирубина в условиях *in vitro*, а на его длинноволновый склон. Такому смещению способствует и рост квантового выхода образования люмирубина (определяющему эффективность фототерапии), с увеличением длины волны воздействующего излучения. Для реализации предложенных технологий нет альтернативы светодиодным источникам излучения. Обеспечиваемая светодиодами (а) возможность варьирования интенсивности светового воздействия в зависимости от тяжести протекания синдрома гипербилирубинемии; (б) отсутствие в спектре их излучения ультрафиолетовой и инфракрасной составляющих (что резко снижает вероятность побочных эффектов на организм новорожденного); (в) высокая надежность и наработка на отказ (до 50 000 ч); (г) малые масса-габаритные показатели; (д) отсутствие проблем с утилизацией делают их наиболее перспективными источниками для фототерапии желтухи новорожденных детей.



**СКРИНИНГ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ: АНАЛИЗ ДАННЫХ ПОЛУЧЕННЫХ ПО МЕТОДУ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ СКАНИРУЮЩЕЙ КАЛОРИМЕТРИИ****Multiple myeloma screening: differential scanning calorimetry data analysis**

***Л.В. Плотникова<sup>1</sup>, Р.В. Ралис<sup>1</sup>, Ю.С. Ворожцова<sup>1</sup>, С.В. Волошин<sup>2</sup>, А.Д. Гарифуллин<sup>2</sup>, М.В. Успенская<sup>1</sup>***

1 – Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Международный Научно-исследовательский Институт «Биоинженерия», 197101, г. Санкт-Петербург, Кронверкский проспект, 49

2 – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», 191024, Санкт-Петербург, Дегтярная ул., 3

Тел.: +7(812) 233-63-88; e-mail: [ljusja@mail.ru](mailto:ljusja@mail.ru)

Множественная миелома составляет около 1% от всех злокачественных новообразований и чуть более 10% гемобластозов. Наиболее частым симптомом множественной миеломы являются боли в костях, которые отмечаются более чем у 60% пациентов на момент диагностики. Одним из критериев диагностики и оценки эффективности лечения больных множественной миеломы является определение уровня патологического протеина в сыворотке крови и/или моче. Метод электрофореза белков сыворотки крови позволяет выявить одиночный узкий пик или локализованный бенд (М-компонент) патологического белка, вырабатываемого клональными плазматическими клетками, у 80% больных множественной миеломы. Целью настоящей работы является определение значений точек денатурации белка, специфичных для множественной миеломы. Как показано в работах [1] и [2], существует значимое отличие в значениях температур и энтальпий денатурации белка сыворотки между контролем и патологически изменённой сывороткой. Для экспериментального нахождения температур и энтальпий денатурации патологически изменённой сыворотки использовался метод дифференциальной сканирующей калориметрии. При этом денатурация белка сыворотки производилась и для образцов, полученных от группы контроля. Сравнение контроля и множественной миеломы образцов осуществлялось по величинам избыточной теплоёмкости, температуры пика денатурации и энтальпии денатурации. Данные величины устанавливались в температурном диапазоне 5-92 °C со скоростью сканирования 2 К/мин в калориметре Netzsch DSC 204 F1 Foenix. Калориметр калибровали по температуре и чувствительности с использованием высокочистых веществ (адамantan, Bi, In, Zn, Sn, CsCl чистотой 99.999%) по их точкам плавления. По результатам дифференциальной сканирующей калориметрии было установлено, что сыворотка контроля имеет один узкий пик денатурации при температуре  $64,5 \pm 0,4$  °C с энтальпией денатурации  $0,36 \pm 0,06$  Дж/г, а сыворотка множественной миеломы имеет широкий двугорбый пик в диапазоне 54-81 °C с горбами при температурах  $70 \pm 0,5$  и  $78 \pm 0,5$  °C с энтальпией денатурации  $3,55 \pm 0,05$  Дж/г. Величина энтальпии денатурации для множественной миеломы превышает таковую для контроля на один порядок. Температура денатурации существенно сдвинута в сторону более высоких температур для сыворотки множественной миеломы по сравнению с образцом контроля. Представленные в работе данные указывают на возможность применения дифференциальной сканирующей калориметрии для скрининга множественной миеломы.

1. Garbett, N.C., et al. Differential scanning calorimetry of blood plasma for clinical diagnosis and monitoring // *Experimental and Molecular Pathology*. 2009. 86. 3. p. 186-191.
2. Michnik, A., et al. Differential scanning calorimetry study of blood serum in chronic obstructive pulmonary disease // *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 2010. 102. 1. p. 57-60.

## МОДУЛЬНЫЕ НАНОТРАНСПОРТЕРЫ ДЛЯ ДОСТАВКИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ В ЯДРА РАКОВЫХ КЛЕТОК-МИШЕНЕЙ

### Modular nanotransporters for delivery of therapeutics agents into nuclei of cancer target cells

*Розенкранц А.А.1,2, Слостникова Т.А.2, Уласов А.В.2, Храпцов Ю.В.2, Лупанова Т.Н.2, Камалетдинова Т.Р.2, Соболев А.С. 1,2*

1 – биологический факультет МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12

2 – ИБГ РАН, 119334, г. Москва, ул. Вавилова, д. 34/5

Тел.: +7(499)135-99-02; факс: +7(499)135-41-05; e-mail: aar@igb.ac.ru

Модульные нанотранспортеры (МНТ) представляют собой искусственные полипептидные конструкции с заданными свойствами, созданные для доставки терапевтических средств в ядра клеток-мишеней [1]. МНТ состоят из функциональных модулей, обеспечивающих взаимодействие с заданным типом клеток и транспорт в ядра этих клеток: лигандного модуля, «узнающего» клетки-мишени и способствующего поглощению ими МНТ; модуля, для выхода МНТ из эндосом, где оказывается МНТ после поглощения клетками; модуля с сигналом ядерной локализации для транспорта в ядро клетки; а также модуля-носителя. Изучение физико-химических свойств МНТ показало, что модули в их составе сохраняют свою активность, обеспечивая связывание с сверхэкспрессированными интернализуемыми рецепторами (например, меланокортиновый рецептор 1 типа на клетках меланомы или рецептор эпидермального фактора роста на клетках различных карцином), образование пор в липидной мембране при кислотности эндосом, а также связывание импортинами, обеспечивающими транспорт в ядро. После внутривенного введения мышам с экспериментальными опухолями МНТ накапливаются преимущественно в опухолевых клетках, в том числе в их ядрах. Проведенные к настоящему времени исследования показали высокий потенциал МНТ для доставки агентов, вызывающих локальные повреждения, в ядра клеток-мишеней: фотосенсибилизаторов и радионуклидов, испускающих частицы с коротким пробегом, в результате чего резко (до 3700 раз) увеличивается их цитотоксичность [2-5]. Наибольший практический интерес вызывает возможность присоединения к МНТ эмиттеров электронов Оже (ЭО), которые испускают электроны с высокой линейной передачей энергии (4-26 кэВ/мкм) и очень коротким пробегом, обычно в пределах 100 мкм для подавляющей части таких доступных для использования эмиттеров ЭО, как  $^{111}\text{In}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{123}\text{I}$ . Проведенные эксперименты, показали, что МНТ, введенный в экспериментальные опухоли, удерживается в них значительное время. Так, время полувыведения МНТ из опухоли рака мочевого пузыря человека EJ составило  $4,1 \pm 0,5$  дня. При однократном введении МНТ с присоединенными  $^{111}\text{In}$  или  $^{67}\text{Ga}$  в опухоли меланомы мыши B16F1, эпидермоидной карциномы человека A431, глиобластомы человека U87 MG wtt.EGFR, рака мочевого пузыря человека EJ обнаружено существенное (на 50-89% по сравнению с введением соответствующего эмиттера ЭО) торможение роста опухолей, зависящее от дозы введенного МНТ с эмиттером ЭО, типа опухоли и времени после введения препарата, а также увеличение продолжительности жизни животных (до 2,3 раза). Эти данные позволяют предположить перспективность применения МНТ с присоединенными эмиттерами ЭО для лечения злокачественных новообразований.

1. Соболев А.С. / Вестник РАН, 2013, Т. 83 С.685-697.
2. Rosenkranz A.A. et al. / Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2008, V.72 P193-200.
3. Slastnikova T.A., et al. / Int. J. Nanomed., 2012, V. 7 P.467-482.
4. Slastnikova T.A. et al. / EJNMMI Res. 2012, V.2 №59.
5. Koumariou E. et al. / Nucl. Med. Biol. 2014, V.41 P.441-449.

**СУПЕРОКСИД В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ ПРИ РАЗНОМ ПАРЦИАЛЬНОМ ДАВЛЕНИИ КИСЛОРОДА****Superoxide in biological systems at different oxygen partial pressure**

***Рууге Э.К.1,2, Дудылина А.Л.2, Иванова М.В.1, Михеева Ю.Ю.1, Свиряева И.В.1, Шумаев К.Б.1***

1 – ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздрава России, 121552, Москва, 3-я Черепковская ул., 15а

2 – Физический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1  
Тел.: +7(495)414-67-52; факс: +7(495)414-66-99; e-mail: ruuge@mail.ru

Способность клеток и тканей чувствовать уровень кислорода и реагировать на его изменения имеет огромное и часто критическое значение для множества физиологических и патологических процессов, протекающих в организме. В ходе эволюции у высших эукариотов сформировывались специальные механизмы, необходимые для поддержания гомеостаза кислорода. В настоящее время значительный интерес вызывают супероксидные анион-радикалы, образующиеся в митохондриях. Показано, что эти свободные радикалы и/или образовавшийся впоследствии пероксид водорода играют регуляторную роль во внутриклеточных процессах, связанных с возникновением условий гипоксии (снижение уровня кислорода до 1-5%). Как известно, ответом клеток млекопитающих на гипоксию служит активация транскрипционных факторов обширного действия HIF, из которых HIF-1 $\alpha$  существует только в гипоксических клетках. Установлено, что стабилизация HIF-1 $\alpha$  связана с генерацией супероксидных радикалов в комплексе III митохондриальной дыхательной цепи и возможностью выхода супероксида в межмембранное пространство и цитозоль. С помощью ЭПР-спектроскопии спиновых ловушек и ЭПР-оксиметрии нами проведено исследование влияния гипоксии различной степени и последующей реоксигенации на скорость образования супероксидных радикалов в митохондриях, выделенных из сердец крыс линии Wistar. Во время регистрации спектров ЭПР суспензия митохондрий находилась в газопроницаемом капилляре в условиях контролируемого парциального давления кислорода. Содержание кислорода в газовом потоке, которым продувался образец, определяли по ширине сигнала LiPc (фталоцианина лития), концентрацию кислорода в реакционной смеси – по ширине компонент спектра TEMPONE-<sup>15</sup>N-D<sub>16</sub> (4-оксо-2,2,6,6-тетраметилпиперидин-D<sub>16</sub>-1-оксил-<sup>15</sup>N). В качестве спиновой ловушки в большинстве опытов использовали TIRON (4,5-диоксibenзол-1,3-дисульфонат). Показано, что образование супероксида в митохондриях происходит не только в условиях нормального снабжения клеток и тканей организма кислородом (21% O<sub>2</sub>), но и в условиях гипоксии. При снижении парциального давления кислорода митохондрии сердца продолжали образовывать супероксид, вначале даже с большей скоростью, чем при нормоксии. Образование супероксида продолжалось вплоть до уменьшения содержания O<sub>2</sub> в газовом потоке до 0,4%, в среде инкубации – 45 мкМ. Скорость генерации супероксида в этих условиях была существенно ниже, чем при нормоксии и даже при умеренной гипоксии (1-5% O<sub>2</sub>). Образование супероксида в изолированных митохондриях сердца прекращалось только после перехода к аноксии – полному отсутствию кислорода в среде инкубации. После нескольких минут реоксигенации (21% O<sub>2</sub>) скорость образования супероксида в митохондриях снова возросла и оказалась выше, чем до аноксии. Таким образом, показано, что митохондрии сердца образуют активные формы кислорода даже при малом парциальном давлении кислорода, т.е. в условиях, характерных для ишемии сердечной мышцы.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ, гранты 13-04-00967 и 15-04-05211.*

## **ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЦЕРУЛОПЛАЗМИНА С ФАКТОРОМ ИНГИБИРОВАНИЯ МИГРАЦИИ МАКРОФАГОВ: СТРУКТУРНЫЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **Interaction of macrophage migration inhibitory factor with ceruloplasmin: structural and biochemical studies**

***Самыгина В.Р.1, Соколов А.В.2,3,4, Костевич В.А.2,3, Дадинова Л.А.1, Петухов М.5, Захарова Е.Т. 2,4, Свєргун Д.И.5, Васильев В.Б.2,4, Буренков Г.5, Schneider T.R. 5.***

1-Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова РАН, 119333, Москва, Ленинский пр.59,

2-Институт экспериментальной медицины; 197376, Санкт-Петербург, ул. Павлова 12, Россия

3- Исследовательский институт физико-химической медицины; 119435, Москва,

4-Санкт-Петербургский государственный университет, 199000, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, Россия

5-EMBL, 22603, Hamburg, Notkestrasse 85, Germany

Фактор ингибирования миграции макрофагов (МИФ) – основной про-воспалительный цитокин обладающий тауамеразной, тиолоксидоредуктазной и гормональной активностью. Цитокин также участвует в регуляции гомеостаза глюкозы. МИФ является фармакологической мишенью для лечения сепсиса и злокачественных опухолей. Несмотря на многолетнюю историю изучения МИФ, поиски путей регуляции тауамеразной активности МИФ остаются актуальными, поскольку это ключ к эффективному контролю многих воспалительных процессов в организме [1].

В данной работе обнаружено, что тауамеразная активность МИФ в реакции с п-гидроксифенил пируватом ингибируется церулоплазмином (ЦП), медьсодержащим белком плазмы крови. Связывание лабильных ионов меди в специфических сайтах оказалось необходимым условием ингибирования [2]. Для детального исследования механизма ингибирования МИФ церулоплазмином необходимо получить структуру низкого разрешения комплекса в растворе и кристаллическую структуру. В качестве соединения, имитирующего субстрат МИФ, при изучении комплексообразования был использован фенилметилсульфонил фторид или фенил изотиоцианат. Предварительные эксперименты по малоугловому рассеянию комплекса при различных концентрациях на дифрактометре АМУР и станции синхротронного излучения Р12 (Петра-III, Гамбург, Германия) показали, что комплекс не является стабильным и агрегатное состояние церулоплазмина, а также его частичный протеолиз влияют на способность компонентов комплекса взаимодействовать. С использованием автоматической платформы для кристаллизации (ЕМБЛ, Гамбург, Германия) при 4 градусах получены первые кристаллы комплекса МИФ-ЦП в присутствии фенил изотиоцианата, добавление которого улучшает способность комплекса к кристаллизации. Ведется работа по усовершенствованию условий получения комплекса, выбору параметров для получения модели низкого разрешения методом малоуглового рассеяния и оптимизации условий кристаллизации комплекса.

*Исследования выполнены при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов № 15-54-74006, 13-04-01186, 15-04-03620 и программы «Протеом человека».*

1. Fingerle-Rowson G., Kaleswarapu D.R. et al./ Mol Cell Biol, 2009. V.29.P.1922-1932
2. Kostevich V.A., Sokolov A.V. et al/ BioMetals, 2015. V.28 (in press)

**ПРОБЛЕМЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ ИССЛЕДОВАНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА КОМЕТА-ТЕСТ****Investigations with using of Comet assay: problems and decisions*****Сирота Н.П., Кузнецова Е.А., Хижняк Е.П.***

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142292, Пущино, ул. Институтская, 3

Тел.: +7(4967)73-92-34; факс: +7(4967)33-05-53; e-mail: [sirota@iteb.ru](mailto:sirota@iteb.ru)

Развитие Comet assay (метод ДНК-комет, комета-тест) в течение 3-х десятилетий привело к тому, что он приобрел статус одного из обязательных в батарее методов используемых в генотоксикологических исследованиях, в области биомониторинга и тестировании новых фармакологических препаратов. В настоящее время существуют методические руководства по проведению исследований с использованием данного метода, утвержденные соответствующими государственными органами как в странах Евросоюза, так и в Российской Федерации. Нарботка новых методических рекомендаций поставила вопрос о необходимости выработки единого протокола, что позволило бы проводить межлабораторные валидационные исследования. Первые публикации в международных журналах показали, что выполнение исследований по единому протоколу не привело к получению идентичных результатов. Причем в ряде случаев наблюдались существенные межлабораторные различия, несмотря на то, что исследования проводились на одних и тех же биологических образцах. Эти данные поставили вопрос о необходимости оценки влияния на получаемые результаты не только используемых химических реактивов и условий их применения, но и других компонентов этого метода. К числу, которых можно отнести электрофоретический анализ, условия микроскопии слайдов, программное обеспечение используемого при анализе препаратов, а также отсутствие единых калибровочных стандартов. Анализ литературных данных и проведенные нами исследования показали, что наиболее сложным для стандартизации является этап электрофореза в щелочных условиях. Контроль температуры электрофоретического раствора в процессе электрофореза с использованием тепловизора или термистора показал не только повышение температуры в процессе электрофореза, но и формирование температурной гетерогенности электрофоретического раствора в области площадки для гелей. Другим компонентом электрофоретической процедуры, существенно влияющим на вариабельность результатов межлабораторных исследований, оказалась напряженность электрического поля. Проведенные нами измерения напряженности электрического поля в электрофоретических камерах от разных производителей показали существенные отличия между реальной напряженностью электрического поля в процессе электрофореза и расчетной. Наблюдалось расхождение в реальных величинах напряженности электрического поля в камерах различных производителей, хотя расчетные значения напряженности задавались нами одинаковыми. Для решения проблем связанных с температурной гетерогенностью необходимо использовать камеры с циркуляцией электрофоретического буфера. В то время как эффекты, обусловленные различиями в реальной напряженности электрического поля можно компенсировать использованием в процедуре электрофореза калибровочных препаратов. Нами разработана технология приготовления таких препаратов и подобраны условия их длительного хранения.

## НАПРАВЛЕННАЯ ДОСТАВКА ЭМИТТЕРА ЭЛЕКТРОНОВ ОЖЕ – ИНДИЯ-111 В ЯДРА РАКОВЫХ КЛЕТОК-МИШЕНЕЙ ПРИ ПОМОЩИ МОДУЛЬНЫХ НАНОТРАНСПОРТЕРОВ

Targeted delivery of Auger electron emitter indium-111 into nuclei of cancer target cells mediated by modular nanotransporters.

**Сластникова Т.А.1, Розенкранц А.А.1,2, Лупанова Т.Н.1, Соболев А.С. 1,2**

1 – ИБГ РАН, 119334, г. Москва, ул. Вавилова, д. 34/5

2 – биологический факультет МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12.

Тел.: +7(499)135-99-02; факс: +7(499)135-41-05; e-mail: [tslast@genebiology.ru](mailto:tslast@genebiology.ru)

Одним из перспективных подходов противоопухолевой терапии является использование физических факторов с локальным повреждающим действием. К ним относятся, например, эмиттеры электронов Оже, характеризующиеся чрезвычайно коротким пробегом испускаемых электронов с высокой линейной передачей энергии. Подобные характеристики обеспечивают их очень высокую цитотоксичность в случае распада такого эмиттера в непосредственной близости от ядерной ДНК. Однако, эффективными такие агенты будут, лишь оказавшись в ядрах мишеных клеток. В этом случае они могут стать практически идеальным средством уничтожения единичных раковых клеток или их небольших скоплений (микрометастазы) с минимальным повреждением окружающих нормальных тканей. Для направленной доставки такого класса агентов в ядра раковых клеток-мишеней в нашей лаборатории были созданы модульные нанотранспортеры (МНТ). Функциональные модули, входящие в состав МНТ, обеспечивают последовательное взаимодействие транспортера со специфическими клеточными системами, обеспечивающими тот или иной этап внутриклеточного транспорта присоединенного к транспортеру цитотоксического агента от поверхности в ядро клетки-мишени.

Целью работы была получение МНТ с присоединенным эмиттером электронов Оже индием-111 и последующее исследование эффективности полученного препарата *in vitro* и *in vivo*.

Мы использовали два типа МНТ, отличающихся специфичностью к выбранному типу раковых клеток за счет вариации лигандного модуля (эпидермальный фактор роста или альфа-меланоцитстимулирующий гормон), обеспечивающего взаимодействие МНТ с выбранными мишенными клетками (карциномы мочевого пузыря, глиомы и пр. или меланомы, соответственно). Несмотря на ограниченную растворимость МНТ в диапазоне pH, предназначенном для проведения реакции меченя (pH 4,5-5,5), мы смогли подобрать условия эффективного (95% выход) присоединения индия-111 к МНТ с высокой удельной радиоактивностью (60 мКи/мг). <sup>111</sup>In-МНТ специфически взаимодействовали с поверхностью клеток, сверхэкспрессирующими целевые рецепторы, и эффективно интернализировались. По результатам проведенного исследования цитотоксического действия на различных линиях раковых клеток в культуре (эпидермоидная карцинома, рак мочевого пузыря, глиом) показано, что эффективность цитотоксического действия индия-111, доставляемого модульным нанотранспортером, значительно возрастает по сравнению с неспецифическим контролем до значений, зависящих от количества рецепторов на поверхности клеток и типа опухоли, достигая 270 раз.

Первые исследования эффективности индия-111, присоединенного к МНТ *in vivo* показали достигающее 90% торможение роста опухоли леченных животных с подкожными опухолями, по сравнению с индием-111 присоединенным к хелатору.

В целом, полученные результаты указывают на перспективность разрабатываемого подхода по доставке эмиттеров электронов Оже в ядра раковых клеток при помощи модульных нанотранспортеров.

**ВЛИЯНИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНА C<sub>60</sub> НА КАТАЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ МОНОАМИНОКСИДАЗЫ В И ИХ МЕМБРАНОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА**

**The action of water-soluble derivatives of [60]fullerene on catalytic activity of monoamine oxidase B and their membranotropic properties**

***Смолина А.В., Котельникова Р.А., Полетаева Д.А., Трошин П.А., Хакина Е.А., Жиленков А.В., Солдатова Ю.В., Штолько В.Н., Богданов Г.Н., Котельников А.И.***

Институт проблем химической физики РАН, 142432 Московская область, г. Черноголовка, проспект Академика Н.Н. Семенова, 1

Тел.: +7(496) 522-16-45; Факс: (496)5223507. E-mail: kotel@icp.ac.ru

Как известно, моноаминоксидазы (МАО) играют главную роль в инактивации биогенных аминов как в центральной нервной системе, так и в периферических нейронах и тканях. МАО типа В (МАО-В) катализирует в основном дезаминирование β-фенилэтиламина и дофамина. Ингибирование этого фермента позволяет пролонгировать эффекты синаптического дофамина, что определяет использование ингибиторов МАО-В при терапии болезни Альцгеймера (БА) и других нейродегенеративных заболеваний. Недавние исследования группы корейских ученых показали, что добавление к образцам глиальных клеток ингибиторов фермента МАО-В снижают выработку ГАМК и улучшают память мышей с моделью БА.

Известно, что производные фуллеренов обладают широким спектром биологической активности, в том числе проявляют нейропротекторное действие: способны ингибировать каталитическую активность ацетилхолинэстеразы, предотвращать формирование β-амилоидных фибрилл, предупреждать гибель нейронов, оказывать выраженное стимулирующее действие на центральные дофаминовые рецепторы. Эти свойства позволяют рассматривать их в качестве потенциальных лекарственных средств для лечения нейродегенеративных расстройств.

В предлагаемой работе изучалось влияние двух водорастворимых полизамещенных производных фуллерена C<sub>60</sub> (ВРПФ) на каталитическую активность МАО-В. Обнаружено, что эти соединения являются ингибиторами МАО-В: одно соединение конкурентно ингибирует фермент с константой ингибирования  $K_i=0.34 \cdot 10^{-6}$  М, а второе – неконкурентно с константой ингибирования  $K_i=1.12 \cdot 10^{-6}$  М. С помощью флуоресцентных зондов показано, что оба соединения проникают в липидный бислой мембраны фосфотидилхолиновых липосом и локализуются как в области полярных головок фосфолипидов, так и в области жирнокислотных остатков липидов. Из наклона экспериментальной зависимости согласно уравнению Штерна-Фольмера (1) определяли константу равновесия  $K_s$ , характеризующую прочность комплекса: зонд-ВРПФ в водном растворе и в составе фосфатидилхолиновых липосом.

*Исследования поддержаны Программой ОХНМ РАН № IV.5.9 «Медицинская химия»*

## ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ КРОВОТОКА В ПОСТМОРТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ НА ХАО КУРИНОГО ЭМБРИОНА

### Assessment of postmortem blood flow dynamics using CAM of chicken embryo

**Стюхина Е.С., Постнов Д.Э.**

Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83

Тел.: +7(917)328-92-46; e-mail: ells03@yandex.ru

Подобно физическому понятию абсолютного нуля температуры, обозначающего прекращение теплового движения, термин «биологический нуль» (БН) ниже использован для обозначения прекращения жизни отдельного организма после остановки работы сердца. Исследование динамики кровотока вблизи БН не входит в число популярных научных задач. В недавней работе [1], показано, что кровоток в сосудах разных частей тела мышей продолжается на протяжении 2 часов после остановки работы миокарда. В контексте той же задачи, нами выполнено экспериментальное исследование динамики кровотока вблизи БН на хордиоллантаисной оболочке (ХАО) куриного эмбриона. В настоящее время куриные эмбрионы широко используются при изучении ангиогенеза, прежде всего при развитии раковой опухоли, а также в микробиологии. Изучение динамики кровотока на ХАО эмбрионов менее распространено по сравнению с исследованием миокарда и коронарных артерий. Конкретными задачами исследований на данном этапе являлись: (1) качественная и количественная оценка процесса прекращения кровотока в сосудах ХАО, и (2) адаптация существующего оптического измерительного метода микро-PIV (Particle Image Velocimetry) к задачам мониторинга микроциркуляции в ХАО.

Материалы и методы. Инкубация яиц проводилась по стандартной методике в инкубаторе с автопереворотом яиц, после их предварительной обработки 3% раствором перекиси водорода. В своих экспериментах мы использовали куриные эмбрионы 10-13 дней инкубации. Предэкспериментальная подготовка включала удаление части скорлупы в области воздушного мешка и наложение покровного стекла непосредственно на ХАО в области интереса. Состояние БН инициировалось путем инъекции раствора хлорида калия в область сердца эмбриона. Оптический мониторинг кровотока проводился в зеленом некогерентном свете посредством серийной записи микроскопического изображения выбранного сегмента микроциркуляторной сети и последующей компьютерной обработки изображений.

Результаты. Как правило, через 2 минуты после инъекции скорость кровотока снижалась примерно вдвое, полная остановка кровотока происходила по истечении 20-40 минут. Однако ряд наблюдений указывает, что характер замедления кровотока в целом имеет более сложный характер, чем можно ожидать на основе общих представлений о циркуляторной системе крови как совокупности «насоса» и «системы труб». Так, в ряде случаев наблюдалась временная остановка кровотока в наблюдаемом сосуде, после чего он восстанавливался и продолжался еще на протяжении нескольких минут, либо происходит кратковременное увеличение скорости кровотока уже в после-инъекционный период. Детальная интерпретация полученных данных методами математического моделирования, как ожидается, даст полезную информацию о характере изменений сосудистого тонуса микроциркуляторной сети в условиях прекращения кровоснабжения.

*Работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ, НИР 3.1340.2014/К конкурсной части госзадания.*

1. I.V. Meglinski, V.V. Kalchenko et al. / Doklady Physics, 2013, Vol. 58(8), p. 323-326.



**ФАЗОВАЯ СИНХРОНИЗАЦИЯ КОЛЕБАНИЙ СКОРОСТИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО КРОВОТОКА КОЖИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ЛОКАЛЬНОМ НАГРЕВЕ****Phase synchronization of peripheral skin blood flow oscillations during local heating*****Танканаз А.В.1, Чаплыгина А.В.1, 2, Гриневич А.А.1, Тихонова И.В.1, Чемерис Н.К.1****1 – ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, 142290, г. Пущино Московской области,**2 – ФБАУ ВО Государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 603950, г. Нижний Новгород,**Тел.: +7(4967)73-91-98; факс: +7(4967)33-05-09; e-mail: tav@icb.psn.ru*

До настоящего времени открытым остается вопрос о локализации механизмов генерации колебаний кровотока в коже: некоторые исследователи считают, что кожный кровоток регулируется исключительно локально, в то время как другие предполагают наличие как центральных, так и локальных влияний. Известно, что колебания кровотока в микроциркуляторном русле обусловлены влиянием эндотелиальных, нейрогенных, миогенных, респираторных] и кардио-процессов. Можно предположить, что одна часть колебательных процессов в микроциркуляторном русле имеет центральное происхождение, поскольку источник генерации флаксомодий находится за пределами микроциркуляторного русла, а другая – определяется местными механизмами регуляции кровотока в ткани или органе. К центральным факторам можно отнести изменение скорости кровотока за счет влияния респираторной функции (дыхательный ритм) и прохождения пульсовой волны (кардио- ритм), к локальным – эндотелий-зависимые, нейрогенные и миогенные колебания, обусловленные собственной сократительной активностью гладкомышечных клеток сосудов (вазомодии).

Ранее мы показали, что в покое у условно-здоровых испытуемых наблюдается высокая фазовая скоррелированность колебаний не только в диапазонах, имеющих центральное происхождение (кардио- и респираторный ритмы), но и в диапазоне локальной миогенной активности. Мы предположили, что внешний локальный стимул может изменить соотношение локальных и центральных механизмов формирования колебаний кожного кровотока. Цель работы – определить влияние локального нагрева контрлатеральных участков кожи предплечья на фазовую синхронизованность колебаний кожного кровотока в различных частотных диапазонах. В исследовании принимали участие 16 условно-здоровых добровольцев обоего пола от 25 до 42 лет. Перфузию кожи кровью регистрировали на симметричных участках правого и левого предплечья при помощи 2х канального лазерного доплеровского флоуметра ЛАКК-02 (НПП «ЛАЗМА», Россия) с двумя идентичными каналами. Локальный нагрев осуществляли на обоих участках кожи посредством блока функциональных тестов ЛАКК-ТЕСТ (НПП «ЛАЗМА», Россия) путем изменения температуры с 32 до 40 °С со скоростью 1.6 °С/сек с последующим поддержанием максимальной температуры до конца регистрации. Степень синхронизованности колебаний скорости кожного кровотока оценивали по величине фазовой вейвлет-когерентности. Показано, что нагрев вызывает увеличение фазовой синхронизованности в диапазоне кардиоритма в 1.3 раза по сравнению с покоем. Напротив, выявлено, что фазовая синхронизация колебаний скорости кровотока в диапазонах миогенного и респираторного ритмов снижается в 1.5 и 1.7 раза соответственно при локальном нагреве по сравнению с покоем. Таким образом, при локальном нагреве происходит перераспределение вклада центральных и локальных механизмов в формирование колебаний скорости кровотока кожи предплечья.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-03429.*

## О ВОЗМОЖНОСТЯХ ДОПЛЕРОВСКОЙ ДИСТАНЦИОННОЙ ЭЛАСТОМЕТРИИ

### On the capability of Doppler Remote Elastometry

**Тиманин Е.М., Ерёмин Е.В.**

Институт прикладной физики РАН, 603950, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46

Тел.: +7(831)416-49-86; факс: +7(831)436-37-92; e-mail: [eugene@appl.sci-nnov.ru](mailto:eugene@appl.sci-nnov.ru)

Сдвиговые упругие характеристики биологических тканей определяются их надмолекулярной структурой и являются чувствительными индикаторами их состояния. В настоящее время широко развиваются методы эластографии – методы исследования состояния тканей, основанные на регистрации их сдвиговых упругих характеристик ультразвуковыми, ЯМР и оптическими методами. В этом направлении ранее разработан аппаратно-программный комплекс для дистанционных измерений упругих характеристик тканей на основе регистрации скорости распространения по ним низкочастотных акустических волн методом ультразвуковой импульсной доплеровской локации [1].

Измеренные на печени испытуемого-добровольца значения упругости в 9 сегментах вдоль трассы зондирования на удалениях от датчика от 26 до 56 мм оказались в интервале от 3.12 кПа до 3.92 кПа, что хорошо соответствует данным об упругости печени в норме [2]. Для оценки разброса результатов от одного измерения к другому проведено 10 независимых установок ультразвукового датчика и 10 соответствующих записей сигналов. По результатам обработки в фиксированном сегменте печени на расстоянии 41.25 мм от датчика установлено среднее значение модуля упругости 2.9 кПа. Значение стандартного отклонения в серии составило 0.9 кПа (т.е. коэффициент вариации 30.2%). Медианное значение модуля упругости и интерквартильный размах, составили 2.7 кПа и 0.74 кПа (27.7 %). Полученные результаты вполне сопоставимы с результатами измерений средствами Фиброскана, где критерием надежности принимается получение интерквартильного размаха менее 25 %. Основной причиной разбросов, по-видимому, является неточность фиксации исследуемого сегмента в тканях за счет неточности установки и ориентации ультразвукового датчика, удерживаемого в руке.

Для повышения достоверности измерений в программе реализована возможность включения обработки трехчастотных сигналов. В этом случае происходит определение значений упругости на трех найденных максимумах спектров и проводится их сопоставление. Если разбросы найденных значений упругости не превышают заданного порога, то они усредняются совместно и результат выводится в соответствующем окне программы. Если близкими оказываются два значения, а третье отклоняется больше заданного порога, то оно отбрасывается, а среднее находится по двум близким значениям. Если все три значения различаются больше порога, выдается сообщение «Измерение не достоверно». В программе реализована возможность сохранения достоверных результатов измерений в памяти. При накоплении десяти значений определяются медианное значение этого набора данных и величина интерквартильного размаха.

Для удобства использования АПК в условиях клиники в программе реализована возможность формирования протокола обследования пациента, а также возможность графической регистрации распределения упругости вдоль трассы зондирования.

1. Тиманин Е.М., Ерёмин Е.В. и др. / Акустический журнал. 2015. Т.61. С.274-280.
2. Sporea I., Bota S. et al / Ultrasound in Med. & Biol. 2013. V. 39. P.1933-1941.

**ДИНИТРОЗИЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ЖЕЛЕЗА, КАК ДОНОРЫ И РЕГУЛЯТОРЫ УРОВНЯ NO В ТКАНИ ОРГАНОВ КРЫС ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ****Dinitrosyl iron complexes, as NO donors and regulating agents of its level in rat organs in different physiological states**

***Тимошин А.А. 1, Лакомкин В.Л. 1, Абрамов А.А. 1, Дроботова Д.Ю. 1, Рууге Э.К. 1, Ванин А.Ф. 2***

1 – ФГБУ "Российский кардиологический научно-производственный комплекс" Минздрава России, 121552, Москва, ул. 3-я Черепковская, 15А;

2 – ФГБУН "Институт химической физики РАН", 119991, Москва, ул. Косыгина, 4

Тел.: +7(495)414-72-54; факс: +7(495)414-66-99; e-mail: timoshin\_a\_a@mail.ru

Известно, что динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) с тиол-содержащими лигандами являются одной из основных природных форм депонирования NO в организме животных и человека. При введении этих комплексов в организм инициируется существенный и продолжительный гипотензивный эффект. Целью данной работы являлось установление биофизических механизмов действия ДНКЖ в организме в нормальных условиях, а также при гиперпродукции NO, вызванной региональным нарушением кровоснабжения миокарда или воспалением. В ходе опытов среднее артериальное давление (АДср) регистрировалось с помощью артериального катетера, соединённого с тензометрическим датчиком. Регистрация связанных с белками ДНКЖ в крови и ткани органов осуществлялась методом ЭПР, а оценка уровня NO проводилась с помощью спиновых ловушек NO. При исследовании действия ДНКЖ в нормальных условиях введение данного соединения с лигандом глутатионом (ДНКЖ-Глт) проводилось путём внутривенной, внутривентриальной, внутримышечной и подкожной инъекций, а также ректально. Установлено, что характерные кинетики АДср и содержания ДНКЖ в крови зависели от способа введения этих комплексов в организм, при этом наибольшие эффекты наблюдались для внутривенного и подкожного введения ДНКЖ-Глт. Показано также, что ДНКЖ-Глт после введения в организм действует преимущественно как источник депонированных форм NO, обладающий избирательным эффектом по отношению к миокарду [1], при этом его влияние на уровень свободного NO существенно слабее. В другой части работы действие ДНКЖ-Глт исследовалось на модели региональной ишемии миокарда. Установлено, что данное соединение, вводимое внутривенно, оказывает защитный эффект, перехватывая супероксидные анион-радикалы и эффективно подавляя гиперпродукцию NO в ишемизированном участке сердечной мышцы [2]. Кроме того, действие ДНКЖ-Глт исследовалось также на модели целого организма крыс в условиях воспаления, вызванного инъекцией липополисахаридов, и сопровождающегося гиперпродукцией NO. Установлено, что в этом случае введение данного соединения не приводило к увеличению уровня общего NO в ткани органов, и оказывало защитное действие, подавляя гиперпродукцию NO в лёгких и печени животных [3]. Итак, в результате введения ДНКЖ с глутатионом, это соединение действует, как источник разных форм NO, в результате чего регистрируется продолжительный гипотензивный эффект, наиболее существенный после внутривенной и подкожной инъекций данного препарата. Кроме того, эти комплексы могут действовать также, и как регуляторы уровня NO, подавляя гиперпродукцию оксида азота, возникающую в результате регионального нарушения кровоснабжения миокарда или генерализованного воспаления.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 14-04-00332а.*

1. Тимошин А.А., Лакомкин В.Л. и др. / Биофизика, 2012. Т.57. С.331-337.
2. Тимошин А.А., Дроботова Д.Ю. и др. / Доклады Академии Наук, 2010. Т.432. С.416-419.
3. Тимошин А.А., Лакомкин В.Л. и др. / Доклады Академии Наук, 2015. Т.462. С.241-244.

## **ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ДОЗИРОВОК НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ГЕПАРИНА НА СТАНДАРТНЫЕ КОАГУЛОЛОГИЧЕСКИЕ ТЕСТЫ IN VITRO В РАМКАХ РАБОТЫ ПО ПОДБОРУ ДОЗИРОВОК ПРЕПАРАТА У ДЕТЕЙ С ТРОМБОТИЧЕСКИМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ**

**The study of the effect of low molecular weight heparin dosages on standard coagulation tests in vitro in the framework of the selection of doses of the preparative in children with thrombotic complications**

**Титова А.О.1, Серёгина Е.А.2**

1 – МГУ имени М.В.Ломоносова, 119991, ГСП-1, Москва, Ленинские горы, дом 1, строение 2, физический факультет, кафедра биофизики

2 – ФГБУ «ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрий Рогачева» Минздрава РФ, 117997, ГСП-7, Москва, ул. Саморы Машела, дом 1

Тел.: +7(495)939-11-95; e-mail: [annatitova27@yandex.ru](mailto:annatitova27@yandex.ru); [elsereg@inbox.ru](mailto:elsereg@inbox.ru)

Некоторые заболевания, в частности онкологические и наследственные, приводят к нарушениям в системе свертывания. Профилактика и лечение тромботических осложнений у детей связаны с определенными трудностями. В случае возникновения тромбоза, как и у взрослых, используют терапию гепаринами. Из-за большого разброса объемов общего количества крови у детей в возрасте 5-12 лет и различной индивидуальной чувствительности к препаратам острой является проблема подбора дозы лекарства для каждого отдельного пациента. Но на сегодняшний день дозировки всех препаратов являются стандартизированными и не учитывают индивидуальную чувствительность к вводимым лекарствам различных пациентов, что часто приводит к разбалансировке системы гемостаза. Ведь свертывание крови – это типичный автоволновой процесс, в котором любое вмешательство извне приводит к изменению всего процесса в целом.

Существуют методы лабораторной диагностики, определяющие активность гепарина и состояние системы свертывания в целом. Целью работы является оценка *in vitro* связи между рассчитанной концентрацией вводимого лекарства и показателями лабораторных исследований, которая поможет подбирать эффективную дозу гепарина в каждом конкретном случае.

Работа проводилась *in vitro* на крови 5-ти здоровых добровольцев старше 18 лет. В качестве препарата был выбран фраксипарин, как наиболее употребляемый низкомолекулярный гепарин (НМГ) для лечения тромботических осложнений у детей на базе ФНКЦ ДГОИ имени Дмитрия Рогачёва Минздрава РФ. Так как гемостаз детей от 1 года не отличается по показателям от гемостаза взрослого человека, можно сделать приближение и использовать в работе кровь здоровых взрослых добровольцев. Для каждого образца крови были получены результаты коагулологических тестов АЧТВ, ТВ и Анти-Ха активности гепарина. Использовался автоматический коагулометр ACL TOP 700. Всего был поставлен 261 эксперимент. По полученным в результате исследований графикам врач может судить о том, с какой именно концентрацией гепарин после инъекции стандартной дозы циркулирует в крови пациента, а также, глядя на результаты тестов отдельного пациента, прогнозировать риски осложнений – кровотечений или отсутствия эффекта терапии тромбоза.

Таким образом, оказалось, что даже исследования *in vitro* показывают различную чувствительность пациентов к препарату, а полученные кривые помогут врачам в корректировке доз гепарина для лечения тромбозов у детей.

**РЕЛАКСАЦИОННЫЕ И МЕМБРАНОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГАДОЛИНИЙСОДЕРЖАЩЕГО ЭНДОМЕТАЛЛОФУЛЛЕРЕНА****Relaxational and membranotropic properties of water\_soluble gadolinium endometallofullerene derivatives*****Файнгольд И.И.1, Полетаева Д.А.1, Котельникова Р.А.1, Трошин П.А.1, Кареев И. Е.1, Бубнов В.П.1, Романова В.С.2, Котельников А.И.1***

1 – Институт проблем химической физики РАН, 142432 Московская обл., г. Черноголовка, проспект академика Н.Н. Семенова 1

2 – Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова Российской академии наук, 119991 Москва, ул. Вавилова, 28

Тел.: +7(496)522-16-45; Факс: (496)5223507. E-mail: kotel@icp.ac.ru

Эндоэдральные металлофуллерены ( $M@C_{2n}$ , где  $M = Y, Gd, La, Ce$ ) – это класс углеродных наноматериалов, перспективных для практического применения в смежных областях химии, биологии и фармакологии. Наиболее очевидна возможность использования ЭМФ в качестве спиновых меток в биологии. Биомедицинские исследования направлены на использование ЭМФ, содержащих радиоактивные нуклиды, в качестве радиопрепаратов. Уникальные физико-химические свойства сфероидов фуллерена дают возможность функционализировать металлофуллерены различными группами для придания им необходимых свойств (например, растворимость в водных средах), а также для обеспечения их таргетной доставки к опухолям.

Для проведения магнитно-резонансной томографии (МРТ) используются контрастирующие вещества, обладающие релаксационными (парамагнитными) свойствами. Они влияют на скорость релаксации протонов воды и тем самым повышают контрастность изображения при МРТ. В клинической практике нашли применение контрастирующие субстанции, содержащие в своем составе хелатные комплексы гадолиния («Магневист», «Омнискан», «Гадовист» и другие аналоги). Недостатком данных препаратов является токсичность, связанная с возможным появлением в организме свободного иона гадолиния. Эндометаллофуллерены, содержащие внутри углеродного каркаса парамагнитный атом гадолиния, представляют собой перспективный класс малотоксичных контрастирующих веществ для МРТ. Изучались мембранотропные и релаксационные свойства ряда новых водорастворимых производных гадолинийсодержащего эндометаллофуллерена (ПГЭМФ). Локализацию ПГЭМФ в мембране и вызываемые ими структурные изменения мембран определяли по изменению соотношения между «мономерным» (394 нм) и «эксимерным» (475 нм) пиками спектров флуоресценции пирена. Было показано, что ПГЭМФ эффективно взаимодействуют с молекулами пирена в структуре модельных мембран, изменяя их микровязкость [1].

Методом импульсного ядерного магнитного резонанса на ядрах  $^1H$  показано, что гидроксильрованный эндометаллофуллерен  $Gd@C_{82}(OH)_{-30}$  в ряду исследуемых ПГЭМФ имеет наибольший коэффициент релаксации ( $R_1=7.390 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ), он превосходит в 3,6 раз по эффективности коммерческий препарат «магневист». Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования исследуемых ПГЭМФ в качестве малотоксичных контрастирующих веществ для магнитно-резонансной томографии [1].

*Исследования поддержаны Программой Президиума РАН №1 «Наноструктуры: физика, химия, биология, основы технологий»*

1. Файнгольд И.И., Полетаева Д.А., Котельникова Р.А., Корнев А.Б., Трошин П.А., Кареев И. Е., Бубнов В.П., Романова В.С., Котельников А.И. Известия Академии наук. Серия химическая, 2014, № 5, с.1107-1112.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ РАЗЛИЧНЫХ УЧАСТКОВ СОЛНЕЧНОГО СВЕТА НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ КЛЕТОК РОГОВИЦЫ В УСЛОВИЯХ IN VITRO

### STUDY OF INFLUENCE OF DIFFERENT REGION SUNLIGHT ON THE VIABILITY OF THE CELL CORNEA IN VITRO

*Фахранурова Л.И., Храмов Р.Н.*

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290, Пущино, Институтская, 3  
Тел.: 84967737151; e-mail: LFakhranurova@gmail.com

В настоящее время заболевания переднего отрезка глазного яблока занимают ведущее место в практике офтальмолога на амбулаторно-поликлиническом приеме. Нозологический спектр выявляемой патологии достаточно разнообразен. Ведущее место занимают воспалительные процессы глаз и **травматические** поражения. Также не последнее место занимают световые повреждения. Мелкие ежедневные световые повреждения глаз накапливаются. Органические повреждения глаз неионизирующими электромагнитными излучениями оптического диапазона могут возникнуть как под влиянием прямого и отраженного солнечного света, так и в результате воздействия созданных человеком светотехнических устройств, причем вызываемые последними повреждения по мере развития технического прогресса выдвигаются на первый план и приобретают все большее практическое значение.

Нами было исследовано влияние света в синей ( $\lambda_{\max}=470$  нм), фиолетовой части спектра ( $\lambda_{\max}=395$  нм), красной ( $\lambda_{\max}=625$  нм) и света большой интенсивности на жизнеспособность клеток линии SIRC (роговицы кролика). Для исследования жизнеспособности был применен МТТ тест, показатели конфлюентности клеток и оценка  $\beta$ -галактозидазной активности.

Облучение в разных участках спектра вызывало явное угнетение жизнеспособности клеток роговицы. В то время как облучение красным светом не приводило к снижению показателей функционирования клеток. Длительное высокоинтенсивное световое воздействие вызывало наиболее тяжелые последствия.

Таким образом, мы показали, что фотоповреждение может приводить к дегенерации клеток роговицы.

*Работа выполнена при поддержке стипендии Президента (СП-6350.2013.4) и гранта РФФИ (14-44-0367214).*

**МОДЕЛИ АНЕВРИЗМЫ ВНУТРЕННЕЙ СОННОЙ АРТЕРИИ****Hemodynamics research of individualized model of internal carotid artery*****Фролов С.В.1, Синдеев С.В.1, Липш Д.2, Балассо А.3, Бауэр Я.3, Арнольд Ф.3***

1 – Тамбовский государственный технический университет, 392000, Тамбов, ул. Советская 106

2 – Университет прикладных наук Мюнхена, 80335 Мюнхен, Лотштрассе 34

3 – Технический университет Мюнхена, 81675 Мюнхен, Исманингерштрассе 22

*e-mail: sergej.frolov@gmail.com*

Согласно клиническим данным характер тока крови играет решающую роль в генезисе внутричерепных аневризм. Нарушения структуры тока крови являются причиной разрушения внутреннего слоя стенки сосуда, что приводит в конечном итоге к образованию церебральных аневризм. Для успешного лечения особо ценной является возможность определения изменений поля скоростей в области аневризмы.

Целью работы является исследование структуры потока в индивидуализированной модели внутренней сонной артерии с использованием, как экспериментального метода, так и метода вычислительной гидродинамики для ньютоновской и неньютоновской жидкости.

В работе использовалась индивидуальная геометрия аневризмы внутренней сонной артерии пациента, полученная с помощью ангиографии. С помощью метода стереолитографии была построена реалистичная силиконовая модель. Для первоначального исследования кровотока на специальной экспериментальной установке, применялся метод визуализации потока с помощью добавления специальных частиц в поток. Высокоточные измерения скорости потока были выполнены с помощью 1D лазерного Доплеровского анемометра с пространственным разрешением 50 мкм и временным разрешением 1 мс. Измерения скорости были выполнены в плоскостях на расстоянии 4 мм друг от друга. Для эксперимента была использована жидкость с неньютоновскими свойствами. Вычислительные эксперименты были проведены с использованием ньютоновской и неньютоновской моделей жидкости.

На экспериментальной установке в момент окончания систолы в куполе аневризмы было установлено минимальное значение скорости потока равное 0.01 м/с, в то время максимальное значение скорости равное 1 м/с было обнаружено в выходном сегменте. На центральном поперечном сечении величина максимальной скорости составляет лишь 20 % от средней входной скорости. Средняя же скорость по центральному поперечному сечению составляет 11 % от входной осевой скорости. Используя метод вычислительной гидродинамики, было получено значение пристеночного напряжения сдвига для ньютоновской и неньютоновской жидкости в момент окончания систолы. Для ньютоновской жидкости, пристеночное напряжение сдвига изменяется в диапазоне [0.00378; 22.2] Па, в то время как для неньютоновской жидкости – [0.00506; 27] Па. Наименьшее значение пристеночного напряжения сдвига для обеих моделей жидкости было обнаружено в куполе аневризмы. Присутствующий в области аневризмы вихрь, нестабилен на протяжении всего кардиологического цикла. Вращение по часовой стрелке линий тока наблюдалось во входном сегменте для обеих моделей жидкости.

Использованный интегрированный метод (экспериментальные и численные исследования) для изучения гемодинамики внутричерепных аневризм позволяет получить высокоточные физиологические результаты для поля потока. Результаты представленного исследования согласуются с гемодинамической теорией генеза аневризм. Высокочастотные флуктуации скорости, наблюдаемые около стенки аневризмы, могут привести к ее разрыву.

## ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ СТРУКТУРЫ ХЛОРИНОВЫХ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ НА ПАРАМЕТРЫ СВЯЗЫВАНИЯ С ОСНОВНЫМИ КОМПОНЕНТАМИ КРОВИ

### Influence of Chlorin-type photosensitizers structure on their binding with main components of blood

*Хлудеев И.И., Зорин В.П.*

Белорусский государственный университет, 220030, Минск, пр. Независимости, 4

Тел. +37517-226-59-47; e-mail:ivan2khl@mail.ru

Избирательное накопление фотосенсибилизатора (ФС) в ткани-мишени обеспечивает локальность фотодинамического воздействия. В стандартном протоколе фотодинамической терапии ФС вводится внутривенно и доставляется к ткани-мишени посредством кровотока, преимущественно в составе комплексов с различными белками плазмы крови. В этой связи параметры связывания ФС с основными компонентами крови – форменными элементами и белками сыворотки – являются важными прогностическими факторами при определении итогового эффекта фотодинамической терапии. Выявление основных физико-химических детерминант процессов распределения в крови ФС, относящихся к различным типам химических соединений, в силу объективных причин затруднено. В нашей работе использован хлорин  $e_6$  (Хл  $e_6$ ) и его производные – монометиловый (ММЭ), диметиловый (ДМЭ) и триметиловый (ТМЭ) эфиры. Эти ФС имеют однотипную структуру с асимметричным расположением ионогенных боковых групп относительно тетрапиррольного кольца. Одинаковые фотофизические свойства позволяют стандартизировать спектральные исследования влияния заряда и полярности молекулы ФС на параметры их связывания с различными типами клеток и основными транспортными белками плазмы крови. Исследования процессов распределения хлоринов в крови показали, что доля ФС, связанного суммарной фракцией клеток крови, возрастает по мере снижения полярности соединения в ряду Хл  $e_6$  < ММЭ < ДМЭ. Доля ДМЭ, связанного с форменными элементами в крови достигает 40-45%. Для наименее полярного хлорина ТМЭ величина данного параметра значительно ниже, что, вероятно, обусловлено сильной агрегацией данного соединения в водных растворах. Параметры распределения ФС между клетками и плазмой зависят от гематокрита, суммарной концентрации белков и концентрации липопротеинов в плазме. Показано, что все исследованные хлорины в сыворотке крови находятся в виде комплексов с основными транспортными белками. Относительное содержание производных Хл  $e_6$  в комплексах с липопротеинами высокой и низкой плотности и САЧ определяется полярностью и зарядом молекул ФС. Этерификация боковых карбоксильных групп молекул Хл  $e_6$  приводит к снижению полярности молекул, что вызывает уменьшение их связывания с САЧ при одновременном росте связывания с липопротеинами. Аналогичные разнонаправленные изменения в связывании с САЧ и липопротеинами наблюдаются при протонировании боковых карбоксильных групп Хл  $e_6$  в кислой среде. При этом связывание с липопротеинами определяется преимущественно полярностью молекул ФС, а для связывания производных Хл  $e_6$  с альбумином важную роль играет величина заряда молекулы. Показано, что для производных, имеющих менее двух отрицательно заряженных карбоксильных групп (ДМЭ, ТМЭ), доля ФС, связанного с САЧ, резко снижается в сравнении с Хл  $e_6$  и ММЭ, имеющими 3 и 2 ионогенные группы соответственно. Предполагается, что для встраивания хлоринов в молекулу САЧ необходимо наличие минимум двух отрицательно заряженных боковых групп. По мере снижения pH среды вследствие нейтрализации заряда карбоксильных групп значительно снижается сродство молекул Хл  $e_6$  и его производных к САЧ, причем амплитуда изменения данного показателя тем выше, чем больше количество ионогенных групп в молекуле.



**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МАГНИТОРЕЗОНАНСНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ ПРИ СИСТЕМНОМ АНАЛИЗЕ РАДИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА. ОПЫТ И ТЕНДЕНЦИИ****The use of EPR spectroscopy at system analysis of organism radioresistance. Experience and tendencies****Шарыгин В.Л.**

ФГБУ науки Институт химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН, 119991, Москва,  
ул. Косыгина, д. 4  
т.: 8(495) 939-73-59; e-mail: sharygin@chph.ras.ru

По мнению академика Л.Д.Ландау, «метод даже важнее открытия, потому что можно постоянно улучшать его». Примером тому служит данное обобщение собственных результатов использования метода электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) в радиобиологических исследованиях. Целью проекта является установление первичных радиационно-индуцированных нарушений в тканях и критериев оценки радиорезистентности организма к действию ДНК-повреждающих экофакторов [1]. Существование сбалансированного синтеза дезоксирибонуклеотидтрифосфатов (dNTP) обеспечивает ключевой регуляторный компонент к цепи синтеза ДНК – тирозильный свободнорадикальный железосодержащий фермент рибонуклеотидредуктаза (RNR), идентифицированный нами непосредственно в целостных тканях животных методом ЭПР [2]. Установлено наличие клеточного SOS-ответа системы *de novo* синтеза dNTP и синтетических реакций ДНК, РНК и белков на действие  $\gamma$ -радиации в широком диапазоне доз, их взаимосвязь и взаимообусловленность [3]. Одной из прикладных задач стало выяснение механизмов протекторного действия соединений, обладающих противолучевой, стресс-протекторной, антиоксидантной и адаптогенной активностями. Для определения оптимальных доз и режимов введения препаратов, обеспечивающих высокую резистентность организма были выявлены и изучены биомаркёры, характеризующие исходную индивидуальную радиочувствительность, и закономерности генотоксических изменений в условиях окислительного радиационного стресса и дисбаланса пулов dNTP [4]. Отметим, что биомаркёры (пулы плазменных белков  $Fe^{3+}$ -трансферрина и  $Cu^{2+}$ -церулоплазмينا, метгемоглобин и гемихромы, уровень радикалов адреналина и внеклеточной ДНК, активность СОД и глутатионпероксидазы, антиокислительная активность крови и др.) нами были протестированы на организменном уровне, с точки зрения их применимости также и в масштабах малых доз низкоэнергетической  $\gamma$ -радиации. Это позволило их использовать вместе с цитогенетическими показателями для анализа роли радиационного фактора в формировании высокого риска экпатологии у детей из регионов радионуклидного загрязнения. Исследование междисциплинарного характера и системный взгляд на радиогенные повреждения в опытах на млекопитающих приносит нетривиальные результаты и позволяет анализировать некоторые фундаментальные концепции, касающиеся роли мутационного процесса в возникновении стохастических радиационно-индуцированных изменений, приводящих к пролиферативным заболеваниям и опухолевому росту.

1. Шарыгин В.Л., Пулатова М.К. и др. / Радиационная биология. Радиоэкология. 2013. Т. 53. № 2. С. 151–169.
2. Пулатова М.К., Рихирева Г.Т., Куроптева З.В. / Электронный парамагнитный резонанс в молекулярной радиобиологии. М.: Энергоатомиздат, 1989. 232с.
3. Pulatova M.K., Sharygin V.L., Todorov I.N. / Biochim.Biophys.Acta. 1999. V. 1453. N 3. P. 321–329.
4. Шарыгин В.Л., Пулатова М.К. и др. / Изв.РАН. Сер.биол. 2005. № 4. С. 401–422.

## МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ОТЛИЧИЯ И ОБЩНОСТЬ РАЗНЫХ ФОРМ ИНСУЛИНОВОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ: АНАЛИЗ И МОДЕЛИРОВАНИЕ

### Metabolism and insulin resistance: analysis and modeling

**Шварцбургд П.М.**

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290, Пущино  
Тел.: 8-4967-739-415; e-mail: [schwartzburd@mail.ru](mailto:schwartzburd@mail.ru)

Основной биологической эффект инсулина – усиление доставки и утилизации глюкозы мышцами, печенью и жировой тканью. Продолжительное снижение чувствительности этих тканей к инсулину или инсулиновая резистентность (ИР) – один из важных патологических признаков, характерных для ожирения, диабета 2 типа, сепсиса и раковой кахексии. Временная ИР наблюдается при физиологической адаптации организма в ответ на кратковременное перекармливание, голодание, физические нагрузки и стресс, а также встречается при гибернации и беременности. Что означает столь широкая распространенность механизма ИР? Почему в части случаев ИР, стимулированных голоданием, физическими нагрузками, стрессом и раком, сопровождается активацией программы катаболизма, а при перекармлении и ожирении ИР развивается на фоне активации анаболизма. Что означает такой метаболический дуализм? Предполагается, что в процессе эволюции ИР появилась как адаптационный механизм, способный поддерживать гомеостаз глюкозы при её недостатке или избытке, что достигается благодаря переключению программ катаболизма и анаболизма. При катаболизме, в частности, активируется липолиз, продукты расщепления которого необходимы для стимуляции синтеза глюкозы в печени и индукции ИР, при этом перенаправляются потоки глюкозы от ИР-тканей, куда глюкоза не поступает, к другим тканям, остро в ней нуждающимся. При анаболизме, напротив, активируется липогенез и индуцируется ИР, что вероятно, ограничивает избыточное накопление жира в адипоцитах. Однако когда жировая ткань перегружена в ней нарастает гипоксия и часть адипоцитов погибают, вызывая воспаление, которое индуцирует ИР и липолиз, продукты расщепления которого, стимулируют в печени синтез глюкозы, несмотря на отсутствие её дефицита. Таким образом, формирует «порочный цикл», поддерживающий состояние ИР и рост уровня глюкозы в крови, что повышает риск развития диабета 2 типа. Разделение разных форм ИР в зависимости от активации программ катаболизма/анаболизма, позволило создать простую объединяющую модель распределения разных форм ИР в зависимости от уровня глюкозы в крови и величины порога ИР. Полученная кривая распределения имела «U»-подобную форму, на противоположных краях которой, располагались патологические формы ИР. Общим свойством которых, был повышенный порог чувствительности к инсулину и синтез эндогенной глюкозы, тогда как для разных форм физиологической ИР был характерен низкий порог чувствительности к инсулину при незначительном отклонении уровня глюкозы от нормы. Таким образом, на основе предложенной модели, появилась возможность искать новые взаимосвязи между разными формами ИР, с целью понять при каких условиях происходит переход от адаптационного ответа организма к развитию патологий и как их можно лечить.

**КОНТРОЛЬ ИНФАРКТА МИОКАРДА МИОКАРДА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА С ПРИШИТЫМ БЕЛКОМ ТЕПЛОВОГО ШОКА HSP70****Detection of experimental myocardium infarction by using superparamagnetic iron oxide nanocarriers functionalized with recombinant heat shock protein Hsp70****Шевцов М.А.1,2, Николаев Б.П.3, Рыжов В.А.4, Яковлева Л.Ю.3, Добродумов А.В.5, Марченко Я.Ю.3, Маргулис Б.А.1, Pitkin E.6, Михрина А.Л.7, Гужова И.В.1**

1-Институт Цитологии РАН, 194064, С-Петербург, Тихорецкий пр. 4

2-Российский НИИ нейрохирургии им. А.Л. Поленова, 191014, С-Петербург, Маяковского 12

3-Государственный НИИ особо чистых биопрепаратов, 197110, С-Петербург, Пудожская 4

4-Петербургский институт ядерной физики НИЦ «Курчатовский институт», 188300, Гатчина,

5-Институт высокомолекулярных соединений РАН, 199004, С-Петербург, Большой пр. 31

6-The Wharton School, University of Pennsylvania, 3730 Walnut St., Philadelphia, PA 19104, USA

7-Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, С-Петербург,

Тел.: +7(81371)-469-43; e-mail: VARYzhov@yandex.ru

Суперпарамагнитные наночастицы на основе магнетита (SPIONs) с размером магнитного ядра менее 50 нм благодаря их магнитным свойствам могут быть использованы в качестве многообещающих МРТ  $T_2$ -отрицательных контрастирующих агентов для диагностики инфаркта миокарда. Недавние экспериментальные исследования доказали потенциальные возможности SPIONs при их использовании как одиночных контрастирующих агентов, или для отслеживания инфаркт-чувствительных клеток (т.е. макрофагов, мезенхимных или эмбриональных стволовых клеток). Задачей данных исследований было выяснить возможность использования суперпарамагнитных конъюгатов SPIONs с 70 kDa белком теплового шока Hsp70 (SPIONs-Hsp70) для обнаружения острого инфаркта миокарда посредством МРТ. Предполагалось, что пришивка Hsp70 к SPIONs обеспечит увеличение концентрации SPIONs-Hsp70 в зоне инфаркта. Синтезированные магнитные наночастицы на основе  $Fe_3O_4$ , связанные с Hsp70 (SPIONs-Hsp70) показали суперпарамагнитное поведение и проявляли свойства  $T_2$ -отрицательных контрастирующих агентов. Конфокальная и электронная микроскопии показали накопление конъюгатов в C2C12 мышинных миообластах и крысиных моноцитах. Как было оценено с помощью проточной цитометрии, пришивка к SPIONs Hsp70 значительно увеличивала накопление конъюгатов в клетках. Исследования показали, что накопление SPION-Hsp70 наночастиц в клетках обеспечивалось CD40-рецепторами, количество которых нарастало при моделировании клеточного окислительного стресса. В дальнейшем у крыс индуцировался острый миокард путем перевязки левой нисходящей передней артерии и на 4-й день им внутривенно вводились или SPION-Hsp70 или SPIONs наночастицы. Затем проводились МРТ исследования на высокопольном 11.0 Т сканнере, которые показали присутствие наночастиц в инфарктной зоне. Анализ биораспределения наночастиц проводился с помощью метода продольного нелинейного отклика на слабое переменное поле (частота возбуждения 15.7 МГц). Он показал предпочтительную аккумуляцию SPION-Hsp70 в инфарктной сердечной ткани, которая была в ~50 раз выше, чем накопление в ней SPIONs, и по крайней мере в ~4 выше, чем их аккумуляция в печени. Последняя вместе с селезенкой демонстрировали наибольшее накопление обоих типов наночастиц среди остальных тканей и органов. Гистологическая аттестация с помощью флуоресцентной микроскопии сердечных криосрезов обнаружила накопление Hsp70-конъюгатов в макрофагах и миообластах в зоне инфаркта. Проведенные исследования показали эффективность магнитного детектирования острого инфаркта с помощью Hsp70-модифицированных SPIONs наночастиц.

## **ВЛИЯНИЕ СЛОЖНОМОДУЛИРОВАННОГО СВЕРХНИЗКОЧАСТОТНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ (СНЧМП) НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК САРКОМЫ 45 В ОПЫТАХ INVITRO**

**The influence of complex-mode extremely low-frequency magnetic fields for viable tumor cells sarcoma 45 in experiments in vitro**

**Шейко Е.А., Шихлярова А.И.**

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» МЗ России, 344037

Ростов-на-Дону, 14 линия 63

*e-mail: esheiko@inbox.ru*

В настоящее время развитие передовых технологий лечения онкологических заболеваний, подтвержденных экспериментальными исследованиями последних лет, свидетельствуют об актуальности использования физических факторов, таких как магнитное поле, в качестве средств и методов, усиливающих эффективность базовой противоопухолевой терапии, обладающих в определенных режимах ингибирующим воздействием на опухоль, процессы метастазирования и рецидивирования и способных купировать ее возможные осложнения. С целью обоснования возможности и целесообразности применения нового режима воздействия (СНЧМП) попытались использовать и сравнить два вида подачи сигнала электромагнитных излучений: 1 обычный режим подачи сигнала СНЧМП частотой 50 Гц, 2 новый режим подачи сигнала СНЧМП со сканированием частоты в динамике от 1 до 150 Гц. Задачей исследования было в эксперименте *in vitro* изучить эффективность влияния 1 и 2 режимов СНЧМП на жизнеспособность клеток саркомы 45. Объектом исследования служили опухолевые клетки саркомы с45. Для получения культуры клеток брали кусочек опухоли 0,5x0,5 см саркомы 45 гомогенизировали, после чего клеточную суспензию фильтровали, разводили до нужной концентрации. Общее число опухолевых клеток в 1 мл составляло  $6,4 \times 10^5$ . Всего исследовали четыре группы. Первая и вторая группы – контрольные. Первая – опухоль без воздействия. Вторая – к опухолевой взвеси добавляли циклофосфан (ЦФ) в дозе 10 мг/мл. Третья и четвертая группы подвергались воздействию СНЧМП (в режиме 1 и режиме 2 соответственно). Для получения таких режимов СНЧМП с индукцией 20 мТл и экспозицией 10 минут использовали аппарат «Градиент-4». После проведенных воздействий изучали: жизнеспособность опухолевых клеток с помощью теста с 0,1% трипановым синим. После чего подсчитывали в камере Горяева число живых и мертвых клеток, рассчитывали цитопатический индекс ЦП (число погибших к общему числу клеток). Статистическую обработку проводили с использованием t-критерия Стьюдента. Сравнительный анализ результатов показал, что самый высокий процент гибели опухолевых клеток 63,7% наблюдается в контрольной группе с ЦФ, в контроле – опухоль без воздействия таких клеток – 12%. В опытных группах с СНЧМП в 1 режиме – 15%, а во 2 режиме – 29,6% мертвых клеток, что в 1,9 раз выше чем при первом режиме. При сравнении воздействия СНЧМП в сложномодулированном режиме и контроля без воздействия, количество погибших клеток превышает контрольные значения в 2,5 раз, в то время как в режиме 1 различия не достоверны. Если этот показатель сравнивать с контролем ЦФ, то % гибели опухолевых клеток ниже в 4,2 в 1 режиме и в 2,2 раза во 2 режиме. При анализе цитопатических индексов, получены следующие результаты: в контроле без воздействия – самый низкий, на одну живую клетку приходится 10 погибших, в остальных группах средний, на одну живую опухолевую клетку приходится три погибших. Таким образом, результаты проведенных нами предварительных исследований по изучению влияния физических факторов на клетки опухоли с 45 *in vitro* свидетельствуют, что по эффективности влияние воздействие СНЧМП в режиме подачи сигнала со сканированием частоты в динамике от 1 до 150 Гц способно оказывать, по сравнению с обычным режимом, более выраженное действие, приводящее к гибели клетки опухоли с 45.

**СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ КВАНТОВОЙ МЕДИЦИНЫ В ЛЕЧЕНИИ ГЕМАНГИОМ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА****The modern technologies of quantum medicine in the treatment of hemangiomas in children of early age**

**Шейко Е.А., Шихлярова А.И., Козель Ю.Ю.**

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» МЗ России, 344037  
Ростов-на-Дону, 14 линия 63 e-mail:esheiko@inbox.ru

При световом воздействии происходит фотоиндуцирование различных внутренних биологических процессов, связанных с поглощением энергии фотонов и реализации интимных механизмов на клеточных мембранах (перекисного окисления липидов, энергетического метаболизма, дыхания, окислительного фосфорилирования в митохондриях). В связи с этим в РНИ-ОИ была разработана и применена в клинике лечения гемангиом новая медицинская технология – фотохромотерапия, а именно, лечебное воздействие видимым электромагнитным излучением (квантами света) с определенной длиной волны. Метод осуществляется следующим образом: на область гемангиомы с чистой раной или на поверхность язвы, предварительно очищенной от гнойного отделяемого, или на место изъязвления осуществляют воздействие с помощью специальной насадки – матрицей монохромного красного света с  $\lambda=0,67$  мкм., от физиотерапевтического прибора «Спектр ЛЦ». Воздействие осуществляют лабильной, бесконтактной методикой, круговыми движениями от периферии к центру с обязательным захватом неповрежденной тканей в радиусе 1,5-2 сантиметра. Максимальная мощность излучения 48 мВт, максимальная плотность потока мощности (ППМ) 7,5 мВт. Режим непрерывный, интенсивность 100%. Продолжительность облучения каждого поля 1-2 мин., суммарное время воздействия не должно превышать восьми минут. Общая доза облучения составляет 3,86-3,96 Дж/см<sup>2</sup>. Курс лечения назначается в зависимости от степени поражения и составляет 10-15 процедур, проводимых ежедневно утром в одни и те же часы. Рекомендуются проводить в среднем три-четыре курса лечения с интервалом в четыре недели.

Методом фотохромотерапии было пролечено 1725 пациентов от 0 до 18 мес. У 67,3% детей имели место критические локализации (массивное поражение лица, промежности и наружных половых органов), 21,5% - массивное поражение от 10 до 15% поверхности тела, 21,7% - осложненные формы гемангиом (изъязвление, кровотечение, присоединение вторичной инфекции). Клиническое применение этого метода позволило также добиться остановки роста таких гемангиом уже после первого курса лечения (10 процедур) В последующем после 2ого и 3ого курсов, проведенных с месячным интервалом, наблюдалось значительное уменьшение объема гемангиом, вплоть до их полной регрессии с образованием мягкой рубцовой ткани. Полностью излечено 362 человек (20,9%), выраженный регресс получен у 794 (46%), стабилизация роста – у 563 (32,6%), рост опухоли отметили у 7 человек (0,4%). Рассчитывали коэффициент совокупной эффективности по соотношению общего числа детей с положительными эффектами к числу детей с ростом опухоли, он составил 100,5%. Коэффициент высокой эффективности рассчитывали по соотношению общего числа излеченных и с регрессом к числу детей со стабилизацией роста и ростом опухоли – равен 1,7.

Таким образом, применение фотохромотерапии является современным, эффективным и рекомендуется как неинвазивный, экономический метод лечения гемангиом у детей раннего возраста.

## **ВЛИЯНИЕ НИТРИТА НАТРИЯ НА ЭРИТРОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА**

### **Effect of sodium nitrite on human erythrocytes**

***Шереметьев Ю.А., Rogozin M.M., Поповичева А.Н., Левин Г.Я.***

ФГБУ Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр, МЗ РФ, 603155, Нижний Новгород, Верхневолжская наб. 18/1

Тел.: +8 (831)436-21-80; Факс: +8(831)432-21-58; e-mail: ya.sher@rambler.ru

Изучено влияние нитрита натрия на форму, деформацию в сдвиговом потоке, состояние цитоскелета эритроцитов, образование агрегатов клеток в виде «монетных столбиков» в аутологичной плазме крови. Изучены также малоновый диальдегид, люминолзависимая хемиллюминисценция и метгемоглобин. Эритроциты инкубировали с нитритом натрия при комнатной температуре в течение 120 мин в финальной концентрации 4 мМ. Состояние цитоскелета эритроцитов оценивали предложенным нами методом. Для этого суспензию эритроцитов прогревали при 49<sup>0</sup>С в течение 8 мин. После этого эритроциты фиксировали в 0.25% – ном растворе глутарового альдегида и по количеству сферических форм судили об изменении состояния цитоскелета клеток. Агрегацию эритроцитов в виде «монетных столбиков» в аутологичной плазме крови изучали с помощью оптической микроскопии предложенным нами методом [1]. Деформацию эритроцитов в сдвиговом потоке при высоком напряжении сдвига изучали в специально сконструированном нами устройстве. Малоновый диальдегид определяли тиобарбитуровым методом. Интенсивность люминолзависимой хемиллюминисценции регистрировали с помощью хемиллюминометра Lum – 5773 (Россия). Метгемоглобин спектрофотометрическим методом.

Показано, что нитрит натрия индуцирует 100% образование метгемоглобина в эритроцитах. Не обнаружено увеличения малонового диальдегида и люминолзависимой хемиллюминисценции в эритроцитах, обработанных нитритом натрия. В тоже время трансформируется форма эритроцитов от дисков к стоматоцитам, нарушается деформация клеток. Термоиндукция эритроцитов приводит к появлению 100% популяции сфероцитов. Установлено, что после обработки эритроцитов нитритом натрия сохраняется способность клеток образовывать «монетные столбики» в аутологичной плазме крови.

1. Шереметьев Ю.А. и др./ Цитология, 2014.Т.56.С.84-88.

**ВЛИЯНИЕ ТРЕТ - БУТИЛГИДРОПЕРОКСИДА НА ЭРИТРОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА****Effect of tert-butylhydroperoxide on human erythrocytes**

***Шереметьев Ю.А., Rogozin M.M., Поповичева А.Н., Левин Г.Я.***

ФГБУ Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр, МЗ РФ, 603155, Нижний Новгород, Верхневолжская наб. 18/1

Тел.: +8 (831)436-21-80; Факс: +8(831)432-21-58; e-mail: ya.sher@rambler.ru

Изучено влияние *трет*-бутилгидропероксида (tBOOH) на форму, деформацию в сдвиговом потоке, состояние цитоскелета эритроцитов, образование агрегатов клеток в виде «монетных столбиков» в аутологичной плазме крови. Изучены также малоновый диальдегид, люминолзависимая хемилюминисценция и метгемоглобин. Эритроциты инкубировали с tBOOH при комнатной температуре в течение 120 мин в финальной концентрации 2 мМ. Деформацию эритроцитов в сдвиговом потоке при высоком напряжении сдвига изучали в специально сконструированном нами устройстве. Состояние цитоскелета эритроцитов оценивали предложенным нами методом. Для этого суспензию эритроцитов прогревали при 49<sup>0</sup>С в течение 8 мин. После этого эритроциты фиксировали в 0.25% - ном растворе глутарового альдегида и по количеству сферических форм судили об изменении состояния цитоскелета клеток. Агрегацию эритроцитов в виде «монетных столбиков» в аутологичной плазме крови изучали с помощью оптической микроскопии предложенным нами методом [1]. Малоновый диальдегид определяли тиобарбитуровым методом. Интенсивность люминолзависимой хемилюминисценции регистрировали с помощью хемилюминометра Lum – 5773 (Россия). Метгемоглобин спектрофотометрическим методом.

Показано, что tBOOH индуцирует более чем 50% образование метгемоглобина и статистически достоверно увеличивает содержание малонового диальдегида в эритроцитах. Наблюдается сильная генерация хемилюминисценции. Установлено, что происходит трансформация формы эритроцитов от дисков к стоматоцитам. Практически полностью нарушается деформация эритроцитов в сдвиговом потоке. Клетки перестают вытягиваться в эллипсы. Прогревание эритроцитов, обработанных tBOOH, не приводит к образованию сфероцитов. Эритроциты теряют способность объединяться между собой в виде «монетных столбиков» в аутологичной плазме крови.

1. Шереметьев Ю.А. и др./ Цитология, 2014.Т.56.С.84-88.

## **ОЛЕИНОВАЯ КИСЛОТА ИНДУЦИРУЕТ АПОПТОЗ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА**

### **Oleic acid induces in human erythrocytes apoptosis**

***Шереметьев Ю.А., Rogozin M.M., Поповичева А.Н., Левин Г.Я.***

ФГБУ Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр, МЗ РФ, 603155, Нижний Новгород, Верхневолжская наб. 18/1

Тел.: +8 (831)436-21-80; Факс: +8(831)432-21-58; e-mail: ya.sher@rambler.ru

Изучено влияние олеиновой кислоты на форму, экстернализацию фосфатидилсерина, образование микрочастиц эритроцитов человека, их деформацию в сдвиговом потоке и агрегацию в виде «монетных столбиков» в аутологичной плазме крови. Влияние олеиновой кислоты на эритроциты изучали в инкубационной среде не содержащей ионы кальция. Эритроциты инкубировали с олеиновой кислотой при комнатной температуре в течение 30 мин в финальных концентрациях не вызывающих гемолиз клеток (80-320 мкМ). Экстернализацию фосфатидилсерина определяли с помощью проточного цитофлуориметра и аннексина V. Микрочастицы выделяли из супернатанта с помощью гадолиния. В осадке определяли активность маркерного фермента микрочастиц ацетилхолинэстеразы и общий белок. Деформацию эритроцитов изучали в сдвиговом потоке при высоком напряжении сдвига в специально сконструированном нами устройстве. Агрегацию эритроцитов в виде «монетных столбиков» в аутологичной плазме крови изучали с помощью оптической микроскопии предложенным нами методом [1].

Показано, что олеиновая кислота вызывает образование стоматоцитов и экстернализацию фосфатидилсерина. Образуется большое количество микрочастиц, обладающих высокой ацетилхолинэстеразной активностью. Нарушается деформация эритроцитов в сдвиговом потоке. При помещении эритроцитов, обработанных олеиновой кислотой, в аутологичную плазму часть стоматоцитов превращается в эхиноциты. Сохраняется агрегация эритроцитов в виде «монетных столбиков».

Полученные данные свидетельствуют о том, что олеиновая кислота индуцирует выраженный апоптоз эритроцитов человека.

1. Шереметьев Ю.А. и др./ Цитология, 2014.Т.56.С.84-88.



**ИТТЕРБИЕВЫЕ КОМПЛЕКСЫ ПОРФИРИНОВ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ СУБСТАНЦИИ  
ДЛЯ ИК-ЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАНОСТИКИ НОВООБРАЗОВАНИЙ****Ytterbium porphyrin complexes as the perspective substances for IR-luminescence diagnosis and  
theranostics of neoplasms**

**Шилов И. П., Панас А.И., Иванов А.В.1, Румянцева В.Д., Щамхалов К.С., Рябов А.С.**

1 – Институт радиотехники и электроники им. В. А. Котельникова РАН, Фрязинское отделение, 141190, г. Фрязино, пл. акад. Б. Введенского,1

2 – ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», 115478, Москва, Каширское шоссе, 24

*e-mail: ipshilov@ms.ire.rssi.ru; e-mail: ivavi@yandex.ru*

Используемые для флуоресцентной диагностики опухолей, в частности сопровождающей фотодинамическую терапию, терапевтические фотосенсибилизаторы для первичной диагностики малоперспективны из-за того, что их флуоресценция в тканях всегда сопровождается существенно более вероятным процессом генерации синглетного кислорода, что вызывает ряд побочных нежелательных реакций. К тому же в эмиссионном спектральном диапазоне этих ФС 600–750 нм присутствует также и фоновая люминесценция эндогенных порфиринов, снижающая уровень сигнал/шум и в целом чувствительность метода. Показано [1], что некоторые иттербиевые комплексы порфиринов (ИКП), в частности, иттербиевые комплексы дикалиевой соли 2,4-диметоксигематопорфирина IX (ИКДГ), являются перспективными соединениями для люминесцентной диагностики (ЛД) визуально и эндоскопически доступных форм рака, поскольку они в диагностических дозах не фототоксичны. Наличие же люминесценции иона иттербия в области 900-1100 нм позволяет эффективно контролировать накопление ИКП в опухоли методом ИК-люминесценции в «окне прозрачности» биотканей, где практически отсутствует фоновая люминесценция эндогенных порфиринов. Исследованы основные фотофизические свойства разрабатываемых ИКП в широком диапазоне спектра 450-1400 нм, в том числе и в присутствии диметилсульфоксида (ДМСО). Измерены спектры эмиссии и времена жизни люминесценции комплексов. Характер конкретного спектра отражает полярность среды, в которой пребывает ион иттербия. В условиях меньшей полярности эмиссионные максимумы сдвинуты в длинноволновую часть спектра (явление сольватохроизма). Интенсивность люминесценции существенно возростала при увеличении концентрации ДМСО (более чем в 10 раз при переходе от чисто водного раствора ИКДГ к 100% раствору ИКДГ в ДМСО). В ИК-диапазоне спектра наблюдались две основные люминесцентные полосы вблизи 930нм и 980нм, время жизни люминесценции достигало 22 мкс. Измерения люминесцентного диагностического контрастного индекса (ЛДКИ) ) опухоль/мышца с использованием лазерно-волоконного флуориметра и субстанции на основе ИКДГ в водных растворах ДМСО на мышах-самках линии Bulb/c с привитой карциномой легкого Льюис. показали, что ЛДКИ увеличивается почти на 20% при использовании ИКДГ с 30% концентрацией ДМСО в водном растворе. Значение ЛДКИ опухоль/мышца достигало 15,0. Показано, что разработанные ИКП, могут быть использованы в качестве одного из основных компонентов многофункциональных нанокомпозитов для терапостики рака. Так, ИКДГ впервые была использована для функционализации композитных наночастиц, состоящих из золото-серебряных наноклеток, покрытых мезопористой оболочкой из двуокиси кремния [2]. Разработанные нанокомпозиты в добавление к длинноволновому плазмонному резонансу вблизи 750-800 нм (лазерный фототермолиз), обладают люминесценцией в области 900-1100 нм, что используется для ЛД новообразований. Все это свидетельствует о том, что перспективы использования ИКП как в диагностике, так и в терапостики рака весьма велики.

1. Ivanov A. V., Rumyantseva V. D. et al./Laser Phys. 2010. V.20. No. 12. P. 2056-2065.

2. Khlebtsov B, Panfilova E. et al. / J. ACS Nano.2011. V. 5. No. 9. P. 7077-7089.

## АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ДИНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА

### Antioxidant properties of dinitrosyl iron complexes

***Шумаев К.Б.1,2, Космачевская О.В.1, Пугаченко И.С.1, Хапчаева С.А.1, Ванин А.Ф.3, Топунов А.Ф.1, Ланкин В.З.2, Рууге Э.К.2***

1 – Институт биохимии им.А.Н.Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, 119071 Москва, Ленинский пр., 33

2 – ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздрава России, 121552 Москва, 3-я Черепковская ул., 15а

3 – Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, 119991 Москва, ул. Косыгина, 4  
Тел.: +7(916)642-14-19; факс: +7(495)954-27-32; e-mail: tomorov@mail.ru

Динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) являются одним из основных метаболитов оксида азота (NO) и участвуют в редокс-регуляции многих процессов у различных организмов. Физиологические варианты этих комплексов обладают антиоксидантными свойствами. Наряду с NO, лигандами ДНКЖ могут быть SH-группы тиолов и азот иминов и имидазольных колец. С помощью спектроскопии ЭПР нами показано, что кроме глутатиона и цистеина в состав низкомолекулярных ДНКЖ могут входить липоевая кислота, эрготионеин и карнозин. Установлено, что гипохлорит (HClO) и нитроксил (HNO) взаимодействуют с тиольными лигандами ДНКЖ, не затрагивая NO-лиганды этих комплексов. При этом Fe-NO группа может переходить на другие (нетиольные) лиганды, например, анионы фосфата, с образованием соответствующих динитрозильных комплексов железа. Также тиольные лиганды ДНКЖ может модифицировать активное карбонильное соединение – метилглиоксаль. В то же время супероксидный анион-радикал реагирует с NO-лигандами ДНКЖ, что приводит к распаду этих комплексов. Следует отметить, что такие антиоксиданты как флавоноиды защищали ДНКЖ от деструкции под действием активных форм кислорода. В различных системах генерирования супероксида ДНКЖ снижали уровень семихинона TIRON (4,5-дигидроксибензол-1,3-дисульфонат натрия). Данный факт подтверждает то, что ДНКЖ эффективно перехватывают супероксид, поскольку TIRON является спиновой ловушкой этого свободного радикала. Антиоксидантное действие динитрозильных комплексов железа было исследовано в системе перекисного окисления липосом из фосфатидилхолина. Кинетику продукции свободных радикалов оценивали по зависимой от люминола хемилюминесценции. Установлено, что ДНКЖ снижают уровень образующихся в этих условиях свободнорадикальных интермедиатов. Антиоксидантные свойства проявляли комплексы, лигандами которых были тиолы или фосфатные анионы. С другой стороны, свободный NO резко стимулирует зависимую от люминола хемилюминесценцию. Этот факт может быть связан с тем, что в реакции NO с супероксидом продуцируется пероксинитрит. В связи с этим важно, что ДНКЖ с различными лигандами эффективно ингибировали хемилюминесценцию, вызванную SIN-1, при распаде которого продуцируется пероксинитрит. Обнаружено, что при образовании ДНКЖ ингибируется окислительная деструкция плазмидной ДНК. Известно, что HNO может генерироваться при формировании ДНКЖ. Так как, HNO является эффективным восстановителем мы исследовали его взаимодействие с свободнорадикальной формой одного из основных антиоксидантов –  $\alpha$ -токоферола. Показано, что соль Анжели (оксогипонитрит Na), при распаде которой образуется HNO, восстанавливает токофероксильный радикал. Мы полагаем, что антиоксидантные свойства ДНКЖ определяются несколькими механизмами: связыванием ионов железа и оксида азота, перехватыванием активных форм кислорода и азота, а также кооперативным взаимодействием с другими антиоксидантами.

*Работа поддержана грантами РФФИ 13-04-00967, 14-04-01710, 15-04-08891 и 15-04-05211.*

# **Биофизика сложных систем**

## ФУНДАМЕНТАЛЬНОЕ БИОЛОГИЧЕСКОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ: ЛОГИКО-МАТЕМАТИЧЕСКИЙ И ФИЛОСОФСКИЙ АНАЛИЗ ПРОБЛЕМЫ

### Fundamental biological interactions: logical-mathematical and philosophical analysis of the problem

***Астафуров В.И., Маренный А.М.***

ФГУП Научно-технический центр радиационно-химической безопасности и гигиены ФМБА России, 123182, Москва, Щукинская ул., 40

Тел.: +7(499)190-51-31; факс: +7(499)193-80-60; e-mail: vastafurov@mail.ru

Вопросы о происхождении жизни, иерархическом статусе биологических структур и физической природе биоинформационного взаимодействия составляют одну из важнейших проблем современного естествознания.

С точки зрения теоретической физики биологические процессы не имеют принципиальной специфики и могут быть описаны и смоделированы на основе известных законов физики и химии. Однако данная точка зрения вступает в противоречие с наблюдательными и экспериментальными данными. Существующие физические представления не позволяют объяснить происхождение и качественную специфику живых структур, некоторые особенности их функционирования, закономерности биоинформационных процессов.

В работе представлена концепция, согласно которой в Природе существуют: естественное излучение материального континуума в области миллиметровых длин волн, обеспечивающее (при благоприятных физико-химических условиях) инициацию жизненных процессов; фундаментальное биологическое взаимодействие, определяющее функционирование и иерархическое построение живых структур. Численное значение безразмерной константы, характеризующей интенсивность биологического взаимодействия, равно  $2,26 \cdot 10^{-12}$ . Биологическое взаимодействие слабее электромагнитного взаимодействия в  $\sim 3 \cdot 10^9$  раз.

В основу данной концепции положены: накопленный массив экспериментальных данных о взаимодействии живых объектов с электромагнитным излучением миллиметрового диапазона; анализ свойств космического «реликтового» радиоизлучения; анализ функциональных зависимостей, связывающих пространственные параметры иерархических структур и силовые параметры фундаментальных взаимодействий [2]. Проведенный логико-математический анализ позволил получить доказательство иерархической индивидуальности биологической формы движения материи.

Представленная концепция позволяет выйти на более глубокое понимание взаимосвязи живых организмов с окружающей средой, объяснить качественную специфику живых структур и приблизиться к пониманию природы биоинформационных взаимодействий. Тезис о существовании фундаментального биологического взаимодействия имеет принципиальное философское значение и меняет сложившиеся взгляды на происхождение и эволюцию живых форм. Из новой концепции следует вечность и преемственность жизни в космическом масштабе.

1. Астафуров В.И. / Математическая биология и биоинформатика: Тр. науч. конф. / Под ред. проф. В.Д.Лахно. – М.: МАКС Пресс, 2008. С. 80-81.

2. Астафуров В.И. Вывод уравнений, связывающих параметры фундаментальных взаимодействий. – М.: НО «ФЭН-НАУКА», 2014. – 64 с.

**ИК СПЕКТРЫ САЛОЛА И СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ****IR spectra of salol and changes of structure****Бабков Л.М.1, Давыдова Н.А.2, Ивлиева И.В.1**

1-Саратовский государственный университет, 410026, Саратов, ул. Астраханская, 83

2-Институт физики национальной академии наук Украины, 03028, Киев, пр. Науки, 46

Тел.: +7(845)251-17-57 факс: +7(8452) 27-85-29; e-mail: babkov@sgu.ru

Салол – биологический объект, широко применяемый в медицине, исследуемый в течение длительного времени, в последнее время вновь привлёк внимание исследователей как объект, удобный для изучения полиморфизма и аморфной фазы.

Целью исследований, результаты которого составляют содержание настоящего сообщения, стало выяснение возможности структурных изменений в салоле при изменении температуры образца от 11 до 310 К, при полиморфном переходе, переходе из кристаллического в аморфное состояние и влияния водородной связи. Методами исследования были методы колебательной спектроскопии (эксперимент и теория) и квантовой химии (метод теории функционала плотности B3LYP/6-31 G(d)). Эти методы были использованы авторами работы [1], которые исследовали колебательные спектры салола в стабильной кристаллической модификации, в жидкости и в растворе при нормальных условиях. В работе [2] проведено рентгенографическое исследование структуры салола в стабильной и метастабильной кристаллических модификациях в нормальных условиях. Результаты работ [1, 2] учтены в данном исследовании.

ИК спектры салола измерены в интервале 11-310 К. Проведено моделирование структуры и ИК спектров четырёх конформеров и трёх Н-комплексов салола. Конформеры, различались ориентацией фенильного кольца относительно остальной части молекулы. Выяснилось, что для основного конформера (III) этот угол составляет 58°, для других он был задан равным 0° (I), 30° (II), и 90° (IV). Наиболее устойчив конформер III, обладающий минимальной энергией и максимальным дипольным моментом. Наименее устойчив конформер I, конфигурация которого близка к плоской. Расстояние между атомом кислорода карбоксильной группы и атомом водорода фенильного кольца сокращается до 1,551 Å, благодаря чему образуется ещё одна внутримолекулярная Н-связь. Энергия этого конформера выше, а дипольный момент меньше, чем у других конформеров.

Установлено, что конформеры с помощью Н-связей могут объединяться в димеры, дипольные моменты которых меньше, чем у конформеров. Наименьшим дипольным моментом обладает циклический димер. Энергии его водородных связей димера в два раза меньше, а длины водородных мостиков (3,31 и 3,29 Å) больше, чем в двух других открытых димерах (3,26 Å) и (3,18 Å). При комплексообразовании внутримолекулярная водородная связь увеличивается на 0,09 Å, изменения геометрии конформера незначительны.

Анализ измеренных ИК спектров салола и результатов моделирования указывает на возможность конформационной подвижности молекулы и образование внутри и межмолекулярных водородных связей в образце при изменениях температуры.

1. Hanuza J., Sasiadek W., Michalski J., Lorenc J., Marczka M., Kaminslii A.A., Butashin A.V., Klapper H., Hulliger J., Mohmed Abudelrhman F.A. // *Vibrational Spectroscopy*. 2004. 34. 253-268
2. Hammond R.B., Jones M.J., Roberts K.J., Kutzke H., Klapper H. // *Z. Kristallogr.* 2002. 217, 484-491

## МОЛЕКУЛЯРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ, СТРУКТУРА И ИК СПЕКТРЫ ЗАМЕЩЕННЫХ В-D-ГЛЮКОЗЫ

### Molecular modeling, structure and IR spectra of substituted of $\beta$ -D-glucose

**Бабков Л.М.1, Ивлиева И.В.1, Королевич М.В.2, Мoiseйкина Е.А.1**

1 – Саратовский государственный университет, 410026, Саратов, ул. Астраханская, 83

2 – Белорусский государственный аграрный технический университет, 220023, пр. Независимости, 99, Минск, Беларусь

Тел.: +7(845)251-17-57 факс: +7(8452) 27-85-29; e-mail: babkov@sgu.ru

Свойства замещённых  $\beta$ -D-глюкозы, метил- $\beta$ -D-глюкопиранозида и 2,3-ди-O-нитрометил- $\beta$ -D-глюкопиранозида определены их строением, внутри- и межмолекулярными взаимодействиями, проявляющимися в их колебательных спектрах. По колебательным спектрам замещённых  $\beta$ -D-глюкозы накоплен обширный экспериментальный материал, дана его систематизация и интерпретация на основе расчётов в рамках изолированной и квазиизолированной моделей молекул в гармоническом приближении.

В настоящем сообщении приведены результаты теоретических исследований структуры и колебательных ИК спектров биомолекул метил- $\beta$ -D-глюкопиранозида и 2,3-ди-O-нитрометил- $\beta$ -D-глюкопиранозида с учётом влияния на них водородной связи. Исследования основаны на методе теории функционала плотности (ТФП). Структурно-динамические модели биомолекулярных систем построены методом ТФП V3LYP/6-31G(d). Проведено моделирование структуры и ИК спектров изолированных биомолекул и их Н-комплексов, представленных наиболее вероятными димерами. Минимизированы их потенциальные энергии, оптимизированы геометрические параметры, вычислены дипольные моменты и силовые постоянные, рассчитаны частоты, формы и интенсивности нормальных колебаний.

При переходе от  $\beta$ -D-глюкозы к метил- $\beta$ -D-глюкопиранозиду одна из гидроксильных групп заменяется метильной группой, при переходе к 2,3-ди-O-нитрометил- $\beta$ -D-глюкопиранозиду атомы водорода двух гидроксильных групп заменяются нитрогруппами.

Исследуемые биомолекулярные системы не обладают симметрией, их пиранозные кольца имеют конформацию «кресло». При замещении атома водорода на нитрогруппу изменение геометрии пиранозного кольца не превышает 0,03 Å. Связи С-С пиранозных колец 2,3-ди-O-нитрометил- $\beta$ -D-глюкопиранозида немного длиннее соответствующих связей пиранозных колец в молекулах метил- $\beta$ -D-глюкопиранозида. Н-комплексы, представленные димерами, образованы водородными связями средней силы с энергиями от 5 до 10 ккал/моль. Длина водородных мостиков находится в пределах 2,7 - 3 Å. При комплексообразовании увеличение длин связей С-О, примыкающих к водородному мостику О-Н...О, и длин связей О-Н не превышают 0,01 Å.

Анализ результатов моделирования структуры и ИК спектров биомолекул метил- $\beta$ -D-глюкопиранозида, 2,3-ди-O-нитрометил- $\beta$ -D-глюкопиранозида и их Н-комплексов позволяет сделать вывод о незначительном различии геометрий пиранозного цикла в моносахаридах и отсутствии влияния на него Н-связи. Структура молекул при димеризации изменяется незначительно и в основном в окрестности ядер Н-комплексов.

**ЭВОЛЮЦИОННАЯ БИОФИЗИКА: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ ГМО ПРОТИВОРЕЧИТ ПРИНЦИПАМ НЕРАВНОВЕСНОЙ ТЕРМОДИНАМИКИ?**

**Experimental evolution of GMO are in controversy with the general principles of the non equilibrium thermodynamics?**

***Брильков А. В.1, Брилькова Е. В.2, Логинов Ю. Ю.3***

1 – Сибирский федеральный университет, 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79

2 – Институт биофизики СО РАН, 660036, Красноярск, Академгородок

3 – Сибирский государственный аэрокосмический университет им. ак. М.Ф. Решетнева, 660037, Красноярск, пр. Красноярский рабочий, 31

Тел. +7(391) 244-86-25, факс +7(391) 244-86-25, e-mail: [abrilkov@sfu-kras.ru](mailto:abrilkov@sfu-kras.ru)

Известно, что существование общих термодинамических критериев эволюции биологических систем как открытых систем вдали от равновесия вызывает сомнения. Экспериментальные измерения скорости производства энтропии биологической системой в принципе можно сделать по скорости теплопродукции при необратимых изменениях в системе. При этом необходимо учитывать, что теплопродукция организмов зависит от состояния мембранных структур, от состояния энергетического метаболизма и т.д. Необходимым требованиям вполне отвечают стационарные состояния в непрерывной культуре микроорганизмов, в особенности микроразволюционные переходы, связанные с процессами перестройки генетической структуры популяции, например, при потере плазмид клетками генетически модифицированных микроорганизмов (ГМО), которая происходит без изменения типа и состояния энергетического метаболизма клеток. К настоящему времени установлено, что трансгенные бактерии, содержащие клонированные гены в составе внехромосомных элементов наследственности – плазмид, легко теряют плазмиды и быстро замещаются бесплазмидными вариантами при длительном развитии в хемостате или турбидостате. В соответствии с термодинамической классификацией М.Эйгена (1973), хемостат соответствует случаю постоянных потоков, а турбидостат – случаю постоянной организации. Потерю признака, детерминированного клонированными в плаزمиде генами можно, таким образом, наблюдать в процессах экспериментальной эволюции трансгенных бактерий, причем при заданном уровне экспрессии этого признака. Удельная скорость размножения бесплазмидных вариантов значительно превышает аналогичную у плазмиднесущих бактерий, вынужденных расходовать дополнительные энергетические ресурсы на обеспечение функции клонированных генов. В то же время удельная скорость теплопродукции популяции микроорганизмов прямо пропорциональна удельной скорости роста популяции, или, в более общем случае, – потоку энергетического субстрата, использованного популяцией. В экспериментах по микроразволюции трансгенных бактерий *Escherichia coli* MG1655, содержащих плазмиды (pGLO), (Ap, GFP) с клонированными в них генами зеленого флуоресцентного белка GFP в хемостате и турбидостате показано, что поток свободной энергии, используемый популяцией трансгенных бактерий, а с ним и теплорассеяние, и скорость прироста энтропии возрастает в процессе эволюционного развития, а не остается постоянным или не уменьшается. Это противоречит хорошо известному в неравновесной термодинамике направлению эволюции стационарных состояний в открытых термодинамических системах – теореме Пригожина (см., например, у М. Эйгена, 1973; Г. Николиса и И. Пригожина, 1979; М. В. Волькенштейна, 1988; А. Б. Рубина, 2004; В. Эбелинга с соавт., 2001; А. И. Зотина и А. А. Зотина, 1999; и др.). Очевидное противоречие физических принципов развития открытых биологических систем и направления экспериментальной эволюции трансгенных бактерий свидетельствует о необходимости дальнейшего развития термодинамической теории, изучения общих закономерностей биологического развития.

## НАНОСТРУКТУРНАЯ УПОРЯДОЧЕННОСТЬ ПРОТЕОГЛИКАНОВЫХ СИСТЕМ СЛИЗИ, ТКАНЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ГРУПП ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ И БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПЛЕНОК

**Nanostructural ordering of proteoglycan systems of mucus, tissues of different groups of living organisms and bacterial films**

***Вазина А.А.1, Железная Л.А.1, Полякова Е.П.2, Васильева А.А.1, Ланина Н.Ф.1, Никитин М.В.3, Антонюк Л.П.4, Забелин А.В.5, Кулипанов Г.Н.6***

1 – Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290, Пущино,  
2 – Институт общей и неорганической химии РАН, 119991, Москва, Ленинский просп., 31  
3 – Больница Пущинского научного центра РАН, 142290, Пущино, ул. Институтская, 1  
4 – Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, 410049, Саратов,  
5 – Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», 123182, Москва,  
6 – Институт ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН, 630090, Новосибирск,  
Тел.: +7(4967)73-91-61, Факс: (4967)33-05-53, E-mail: vazina@mail.ru

На образцах высококонцентрированного геля дуоденального сока собаки был зарегистрирован неожиданный экспериментальный факт: рентгенограммы слизей в малоугловой области от 10 до 0.4 нм содержат около 10 четких тонких дифракционных колец с основным периодом 4.65 нм, обусловленных протеогликановыми компонентами слизи. Аналогичные рентгенограммы были получены при исследовании бесклеточных систем гастроэнтерологических слизей из разных отделов желудочно-кишечного тракта различных млекопитающих. Особое место в структурных исследованиях занимают слизи из ротовой полости живого гигантского Североамериканского кальмара Гумбольдта *Dosidicus gigas*, полученные одним из авторов во время научной экспедиции. Характерной чертой нашего методического подхода к структурным исследованиям является создание репрезентативной коллекции, содержащей документированные образцы различных типов слизей и тканей, собранных из медицинских, ветеринарных и сельскохозяйственных учреждений. В последние годы с использованием синхротронного излучения нами проводятся широкомасштабные дифракционные и флуоресцентные исследования эпителиальных тканей животных и человека в норме и при онкологической трансформации. Исследована роль кальция и других катионов металлов, а также хелатирующих агентов в наноструктурной упорядоченности протеогликанов. Обнаружено, что период  $4.65 (\pm 0.15)$  нм является наноструктурным инвариантом гигантских протеогликановых молекул как слизей, так и межклеточного матрикса тканей. Дифракционные рефлексы с основным периодом 4.65 нм атрибутированы нами к высокой наноструктурной упорядоченности протеогликановых компонентов муцинов и обусловлены спиральной упаковкой олигосахаридных цепей, ковалентно присоединенных к белковому кору в процессе посттрансляционной модификации. В предварительных экспериментах показано, что наноинвариантность распространяется и на образцы бактериальных пленок *Azospirillum brasilense* Sp245, формирующихся в экстремальных условиях. Протеогликановые системы рассматриваются как полидентантные лиганды, формирующие нанопорядоченный каркас ткани, в котором сопряжены конформационно детерминированные элементы фибриллярных белковых структур цитоскелета клетки и конформационно лабильные протеогликановые структуры межклеточного матрикса, образующие около клеток специфическую коллоидную среду с громадной фрактальной поверхностью, очень чувствительную к различным физико-химическим факторам экзогенного и эндогенного характера. Обсуждается роль наноструктурной упорядоченности протеогликановых структур, их взаимодействие с катионами и хелатами в клинической патологии эпителиальных слизистых тканей мочеполовой системы. Работы поддержаны грантом РФФИ-Московская область № 14-44-03667.



**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИНХРОТРОННОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ДЛЯ ДИФРАКЦИОННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ НАНОСТРУКТУРНОЙ ДИНАМИКИ БЕЛКОВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВОГО СУПЕРСЕМЕЙСТВА****Using synchrotron radiation for diffraction studying the nanostructural dynamics of proteins of immunoglobulin superfamily*****Вазина А.А.1, Железная Л.А.1, Васильев В.Д.2, Самойлович М.И.3***

1 – Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290, Пущино

2 – Институт белка РАН, 142290, Пущино, ул. Институтская, 4

3 – Центральный научно-исследовательский технологический институт «Техномаш», 121108, Москва, ул. Ивана Франко, 4

Тел.: +7(4967)73-91-61, Факс: (4967)33-05-53, E-mail: vazina@mail.ru

Вопросы структуры и функции биологических наносистем связаны с геометрией физического пространства, в котором эти объекты образуются и существуют. Упорядочение биологических структур отличается от кристаллического типа упорядочения в трехмерном евклидовом пространстве переходом от инвариантности относительно бесконечной трансляционной решетки неживых структур к локальной наноструктурной упорядоченности живых систем, определяемой инвариантностью относительно конструкций алгебраической геометрии. Концептуальная революция в области изучения наноструктурированных систем обусловлена инструментальной революцией, связанной с развитием структурных методов на основе использования синхротронного излучения, разработанных, созданных и постоянно модернизируемых нами на национальных синхротронных центрах ИЯФ СО РАН и НИЦ «Курчатовский институт» [1]. Наши многолетние рентгенодифракционные исследования геля тайтина, из которого нам впервые в Бристольском Университете удалось получить ориентированные нити, выявили уникальный принцип наноструктурной организации гигантского мультидоменного белка третьей фибриллярной системы мышцы, гомологичные домены которого соединены короткими петлями в одноосную аперриодическую структуру с различной ориентацией доменов относительно оси фибриллы. Линейная группа симметрии молекулы тайтина определена нами как  $S_M$  с трансляцией вдоль оси  $\tau_\infty$  [2]. В стационарной стадии механического растяжения тайтина нами выявлено двухфазное разделение структуры в нано-диапазоне, когда в одной линейной макромолекуле устойчиво сосуществуют «кристаллическое» ( $\beta$ -барел) и «расплавленное» (melted) состояние полипептидной цепи. Природу функциональной гетерогенности вдоль тайтинового стренда следует рассматривать в терминах физики ориентационного мелтинга кристаллических полимеров. Гетерофазно разделенные морфологии молекулы тайтина с характерными размерами в наномасштабе являются уникальным структурным состоянием мультидоменных белков, формируются только при внешних воздействиях и обеспечивают бифункциональность тайтина: сверхэластичность и передачу пассивного напряжения в мышце. Траекторию полипептидной цепи в мультидоменных макромолекулах очень трудно определить экспериментально, однако нам удалось визуализировать морфологию единой полипептидной цепи на электронно-микроскопическом снимке иммуноглобулина человека IgG3 K $\kappa$ c [3], где продемонстрировано разворачивание полипептидной цепи домена при нагревании, т.е. зарегистрировано нанофазное разделение структуры молекулы с характерными длинами в нанометровой шкале.

Исследование роли анизотропного поля сил в формировании гетерофазного состояния, обеспечивающего биологическую функцию, открывает новые подходы в биоинженерии.

*Работы поддержаны грантом РФФИ-Московская область № 14-44-03667.*

1. А.Вазина / Известия РАН, серия физическая, 2013. Т.79. №1. С.92-100.
2. A.Vazina, D.Alexeev et al. / Journal of Structural Biology, 2006. V.155. P.251-262.
3. S.Ryazantsev, V.Vasiliev et al. / Eur.J.Biochem., 1990. V.190. P.393-399.

## ВКЛАД КАЛЬЦИЕВОГО ТОКА В КЛЕТКАХ СИНУСНО-ПРЕДСЕРДНОГО УЗЛА У МЫШИ И КРОЛИКА ИМЕЕТ ВИДОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ

### Species differences in the role of the Ca<sup>2+</sup>-current L-type in mouse and rabbit sinoatrial node cells

*Лебедева Е.А., Головки В.А.*

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН, 167982, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, д.50  
тел./факс: +7(8212)24-00-85; e-mail: lebedeva@physiol.komisc.ru, golovko@physiol.komisc.ru

Полагают, что в клетках центральной области синусно-предсердного (СП) узла Ca<sup>2+</sup>-ток L-типа ( $I_{Ca,L}$ ) играет ведущую роль в формировании фазы быстрой деполяризации потенциала действия (ПД) и способствует более поздней части фазы медленной диастолической деполяризации [1]. Однако остается неясным, существуют ли различия вклада  $I_{Ca,L}$  в процесс формирования ПД клеток водителя ритма у мыши и кролика.

**Цель** работы заключалась в оценке вклада медленного Ca<sup>2+</sup>-тока L-типа в генерацию потенциалов действия у пейсмекерных клеток СП узла мыши и кролика.

**Материалы и методы.** Опыты выполнены в условиях микроэлектродной техники на спонтанно сокращающихся полосках СП области мыши (n=21) и кролика (n=14). Для оценки вклада Ca<sup>2+</sup>-тока L-типа использовали специфический блокатор Ca<sup>2+</sup>-каналов – нифедипин.

**Результаты.** В области артерии синусно-предсердного узла со стороны субэндокарда регистрировали потенциалы действия клеток с медленной диастолической деполяризацией (ДД) и скоростью фазы быстрой деполяризации ( $dV/dt_{max}$ ) от 3 до 7 В/с. Частотой генерации ПД составила  $295 \pm 28$  и  $108 \pm 10$  имп/мин ( $M \pm \sigma$ ) у мыши и кролика соответственно.

Анализ дозозависимых кривых выявил, что снижение величины  $dV/dt_{max}$  в зависимости от концентрации нифедипина совпадает с графиком построенном на основании уравнения Хилла. Пороговая концентрация нифедипина у клеток водителя ритма мыши ( $dV/dt_{max} = 4.8 \pm 1.3$  В/с в контроле) составила 0.1 мкМ, у клеток кролика ( $dV/dt_{max} = 5.0 \pm 2.8$  В/с в контроле) – 0.05 мкМ. Эффективная концентрация блокатора, ингибирующая  $dV/dt_{max}$  на 50% ( $EC_{50}$ ), у мыши составила 0.2 мкМ, у клеток кролика – 0.1 мкМ.

Установлено, что ингибирование фазы медленной ДД у клеток СП узла мыши началось при более низкой концентрации нифедипина, чем у кролика (0.1 и 0.5 мкМ соответственно). В результате действия блокатора длительность фазы медленной ДД и ее скорость снижались ~30% у обоих видов животных.

Прекращение электрической активности у спонтанно сокращающихся полосок СП области мыши зарегистрировано при 2 мкМ нифедипина, у кролика – при 0.5 мкМ.

**Выводы.** Таким образом, полученные результаты дают основание предположить, что вклад  $I_{Ca,L}$  в формирование фазы медленной ДД у мыши выше, чем у кролика. В то время как фаза быстрой деполяризации у клеток СП узла кролика наоборот, более чувствительна к ингибированию Ca<sup>2+</sup>-каналов.

*Работа поддержана УрО РАН проекты 12-П-4-1054 и 12-У-4-1022.*

1. Zaza A., Micheletti M. et al. Ionic currents during sustained pacemaker activity in rabbit sino-atrial myocytes // J. Physiol. 1997. V. 505 (3). P. 677-688.

**ИНДУКЦИЯ ШУМОМ 0.1 ГЦ КОМПОНЕНТЫ КОЛЕБАНИЙ КРОВОТОКА  
В СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЕ ЧЕЛОВЕКА****Induction of 0.1 Hz component of blood flow oscillations in the human cardiovascular system by the noise*****Гриневич А.А., Танканаг А.В., Чемерис Н.К.***

Институт биофизики клетки Российской Академии Наук, 142290, г. Пущино Московской области, ул. Институтская 3

Тел.: +7(4967)73-93-14; факс: +7(4967)33-05-09; e-mail: [grin\\_aa@mail.ru](mailto:grin_aa@mail.ru)

Колебания с частотой 0.1 Гц не только широко распространены в сердечно-сосудистой системе (ССС) человека [1–3], но и особо чувствительны к различным по природе воздействиям на организм [4,5]. На сегодняшний момент механизмы формирования 0.1 Гц колебаний в ССС рассматриваются преимущественно с точки зрения автономного контроля [6].

Нами была выдвинута гипотеза о том, что широкая распространенность 0.1 Гц колебаний в ССС связана не только с особенностями процессов автономной регуляции, но, в первую очередь, со структурными и гидродинамическими свойствами самого сердечно-сосудистого русла [7]. В частности, была показана роль эластичности сосудов в формировании 0.1 Гц колебаний в ССС человека.

В рамках предложенной гипотезы об участии структурных и гидродинамических свойств сосудистого русла в формировании 0.1 Гц компонента колебаний кровотока в сердечно-сосудистой системе человека на базе разработанной редуцированной гидродинамической модели исследована роль аддитивных стохастических возмущений работы однокамерного насоса, моделирующего работу желудочка сердца. Показано, что апериодическая шумовая модуляция как жесткости стенок насоса, так и порога срабатывания его клапанов формирует низкочастотные колебания давления и скорости кровотока артериальной части сердечно-сосудистого русла с максимальной амплитудой на частоте, близкой к 0.1 Гц.

1. Malpas S. / Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2002. V. 282. P. H6–H20.
2. Cohen M.A., Taylor J.A. / J. Physiol. 2002. V. 542. P. 669–683.
3. Bernardi L., Hayoz D., Wenzel R., Passino C., Calciati A., Weber R., Noll G. / Am. J. Physiol. 1997. V. 273. P. H1867–H1878.
4. Yan Y., Shen G., Xie K., Tang C., Wu X., Xu Q., Liu J., Song J., Jiang X., Luo E. / Microvasc. Res. 2011. V. 82. P. 277–283.
5. Bernardi L., Porta C., Casucci G., Balsamo R., Bernardi N.F., Fogari R., Sleight P. / Circulation. 2009. V. 119. P. 3171–3180.
6. Киселев А.Р., Гриднев В.И. / Саратовский научно-медицинский журнал. 2011. Т. 7(1). С. 34–39.  
Гриневич А.А., Танканаг А.В., Чемерис Н.К. / Математическая биология и биоинформатика. 2014. Т. 9(2). С. 341–358.

## **ВЛИЯНИЕ ТОНАЛЬНОЙ МОДУЛЯЦИИ МУЗЫКАЛЬНЫХ ФРАГМЕНТОВ НА ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭЭГ**

### **Influence of tonal modulation of musical fragments on EEG characteristics**

***Громов К.Н.1, Радченко Г.С.1***

1- ННГУ им. Н.И. Лобачевского, 603000 г. Нижний Новгород, Университетский пер, д.7

Тел: +7(831) 433-83-30, e-mail: kerod@inbox.ru

Музыка активно используется как средство терапии и коррекции состояний человека в различных областях психофизиологии, медицины и психологии (Федотчев А.И., Радченко Г.С., 2013). В связи с этим актуально исследование влияния базовых элементов музыки на функциональное состояние человека. Это позволит точнее подбирать необходимые элементы музыки и более эффективно использовать ее как средство коррекции.

Восприятие музыки опирается на тональную систему отсчета, которую называют гаммой (Deutsch, 2013). В пространстве музыкального мира доминирует диатоническая гамма, тона в которой отличаются по звуковысотности и по уровню притяжения к тональному центру – тонике (первой ноте гаммы). Переориентация диатонической гаммы с одной тоники на другую – то есть, переход из одной тональности в другую в пределах той же самой композиции – называется тональной модуляцией. Тональная модуляция является одним из главных структурных компонентов музыки и одним из ключевых средств выразительности в Европейской музыкальной культуре.

В работе исследовано влияние 3 ступеней переориентации в тональном пространстве (доминанта, субдоминанта, секста) на характеристики ЭЭГ при прослушивании гармонических последовательностей и отрывков музыкальных произведений.

В исследовании приняло участие 15 человек (5 мужчин и 10 женщин), в возрасте от 17 до 28 лет. Испытуемым предлагалось прослушать 2 серии стимулов: 24 гармонических последовательности и 24 отрывка из музыкальных произведений. Каждая серия включала в себя 3 тональные дистанции: ступень 5 (субдоминанта), ступень 7 (доминанта) и ступень 8 (малая секста), по 8 стимулов каждая. Все произведения были в мажорном ладу. Стимулы предъявлялись в случайном порядке. Для анализа ЭЭГ использовались данные за 10 секунд до предъявления аудио фрагмента, 10 секунд во время предъявления аудио фрагмента и 10 секунд после предъявления аудио фрагмента. Анализ проводился в следующих частотных диапазонах: тета (4-8 Гц), альфа (8-13 Гц), бета-1 (13-21 Гц) и бета-2 (21-35 Гц). Вычислялся W-критерий Уилкоксона для зависимых выборок, проводилась поправка на множественные сравнения с помощью метода Беньямини-Йекутили (Benjamini Y., Yekutieli D., 2001).

Было показано, что тональная модуляция в гармонических последовательностях и в отрывках музыкальных произведений, приводит к увеличению мощности ЭЭГ в альфа диапазоне и снижению мощности в бета-2 диапазоне.

Сравнение 10 секундного периода после прослушивания показало, что эффект от прослушивания музыкальных произведений приводил к меньшему снижению мощности в альфа диапазоне и меньшему повышению мощности в тета диапазоне. Исходя из этого, можно сделать вывод, что в музыкальных произведениях по сравнению с гармоническими последовательностями (где остальные параметры музыкального произведения сведены к минимуму) существуют дополнительные факторы воздействия музыки на функциональное состояние человека.

*Работа выполнена при поддержке гранта РГНФ № 14-36-01024.*

**ГЛАЗОДВИГАТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРИ ЧТЕНИИ ОБЫЧНЫХ И ПЕРЕМЕШАННЫХ ТЕКСТОВ СТУДЕНТАМИ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ ЗНАНИЯ АНГЛИЙСКОГО ЯЗЫКА****Oculomotor activity in reading conventional and mixed texts by students with different level of English proficiency****Демарева В.А.1, Колосанова Д.А.1, Серова М.С.1**

1 – ННГУ им. Н.И. Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр-т Гагарина, 23

Тел.: +7(904)066-49-13; e-mail: valerija.demareva@fsn.unn.ru

Процесс чтения обеспечивает получение информации, необходимой и достаточной для реконструкции образов, закодированных в тексте. В рамках исследований особенностей движения глаз при чтении текстов получены сведения об особенностях обработки вербальной информации человеком на основе индивидуальных моделей, которые создаются и совершенствуются в процессе освоения языка. В психолингвистических исследованиях А.А. Леонтьев, И.А. Зимняя, Р.М. Фрумкина подчеркивают сложность и многоплановость процессов восприятия и понимания текста, их тесную взаимосвязь. Цель исследования: изучить особенности движения взора при чтении обычных и перемешанных английских текстов у студентов с разным уровнем знания английского языка. Запись движений глаз проводилась с помощью системы трекинга глаз SMI HiSpeed, частота бинокулярного опроса для которой составляет 1250 Гц, на базе ПК с программным обеспечением SMI Experiment Suite и iView v. 2.0.1. Область калибровки (calibration area) составляла 1680;1050. Съемка производилась для двух глаз (binocular). Данные по параметрам глазодвигательной активности извлекались в программе SMI BeGaze 3.4 (модуль Event Statistics), их обработка выполнялась в пакете статистической обработки StatSoft Statistica v. 10.0 Eng. На первом этапе оценивался уровень знания английского языка у участников по методике Placement test (<http://oxfordklass.com/placement-test/>). На втором этапе регистрировалось движение взора при чтении текстов. Испытуемым предлагалось прочитать 3 текста на английском языке: простой текст; текст, в котором перемешаны слова в пределах одного предложения; хаотичный набор слов, не составляющих собой текст с каким-либо смыслом. На третьем этапе проводилась статистическая обработка полученных данных. Применялись методы описательной статистики и анализ достоверности отличий с использованием U-критерия Манна Уитни.

В рамках настоящего исследования получены следующие результаты:

1. Диаметр зрачка у людей с более высоким уровнем знания иностранного языка уже при чтении любых текстов.

2. При чтении обычного и перемешанного текста люди с более высоким уровнем знания английского языка делают менее длительные фиксации.

3. Лучше знающие английский язык делают более быстрые саккады при чтении хаотичного набора слов, не составляющих собой текст. В дальнейших исследованиях мы будем использовать метод ландшафтов внимания, суть которого заключается в выделении двух уровней перцептивных процессов: амьентного и фокального внимания (Б.М. Величковский). На основании полученных результатов возможно будет построение ландшафтов внимания, которые будут использоваться в качестве фильтра для обработки зрительных образов и объективной реконструкции перцептивного сознания, служащего основанием для оценки уровня знания иностранного языка.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского гуманитарного научного фонда (РГНФ). Проект №15-36-01364.*

## **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПОДХОДОВ К ПРИМЕНЕНИЮ ПЕРЕДАТОЧНЫХ ФУНКЦИЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ**

### **Experimental approach for application of transfer functions to the measurement of systemic haemodynamics**

***Еркудов В.О.1, Пуговкин А.П.,1,3, Верлов Н.А.2, Сергеев И.В.3, Иевков С.А.1***

1 – ГБОУ ВПО СПбГПМУ Минздрава России, 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д.2

2 – ФГБУ «ПИАФ», 188300, Ленинградская обл., г. Гатчина, Орлова роща

3 – Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д.6

Тел: +7 (812) 542-39-83; Факс: +7 (812) 295-40-85; e-mail: verkudov@gmail.com

Целью работы явилось обоснование способов оценки артериального давления (АД) и сердечного выброса (СВ), используя значения АД в периферических сосудах и передаточные функции (ПФ) в остром эксперименте при условии относительно стабильной гемодинамики и при переходных процессах системы кровообращения.

В опытах на 47 крысах-самцах линии Вистар (масса 240–380 г) проводили синхронную регистрацию мгновенных значений СВ и АД в сонных и бедренных артериях в условиях относительно стабильной гемодинамики (8 крыс). Мгновенные значения АД в сонных и бедренных артериях регистрировали в режиме фоновой записи, а затем после введения адреналина гидрохлорида (8 крыс), нитропруссид натрия (8 крыс), инфузии полиглюкина (8 крыс) и моделировании острой кровопотери (15 крыс). К полученным данным применяли анализ Фурье и расчёт обобщенных передаточных функций (ОПФ), связывающих АД в сонных и бедренных артериях в условиях относительно стабильной гемодинамики и после каждого воздействия. Таким образом вычислялись индивидуализированные для каждого воздействия передаточные функции (ИПФ). Используя мгновенные значения СВ и АД в сонных и бедренных артериях рассчитывали обобщенный сосудистый импеданс (ОСИ). Далее, применяя рассчитанные ОПФ, ОСИ и ИПФ для введения адреналина, нитропруссид натрия, полиглюкина и кровопотери, производили реконструкцию значений АД в сонных артериях и СВ, используя результаты регистрации пульсовой кривой АД в бедренных артериях. Указанные значения показателей системной гемодинамики, полученные в результате прямого измерения и рассчитанные при реконструкции, сравнивали друг с другом, используя однофакторный дисперсионный анализ ANOVA. С целью контроля жесткости сосудов в условиях относительно стабильной гемодинамики и после каждого воздействия рассчитывали скорость распространения пульсовой волны (СРПВ) на каротидно-бедренном участке сосудистого русла. Полученные значения СРПВ до и после воздействий сравнивались друг с другом с применением парного критерия Вилкоксона. Выявлено, что введение адреналина гидрохлорида и нитропруссид натрия не привело к статистически значимому изменению СРПВ. Инфузия полиглюкина и моделирование острой кровопотери способствовали статистически значимому увеличению и уменьшению СРПВ соответственно.

Анализ данных показал, что в условиях относительно стабильной гемодинамики и при введении вазоактивных препаратов, когда жесткость сосудов постоянна, значения АД в сонных артериях и СВ могут быть рассчитаны с погрешностью, сравнимой с применением инвазивных способов измерения. При изменениях ОЦК, которые привели к существенному изменению жесткости сосудов, расчет значений АД в системных сосудах целесообразно производить только с применением ИПФ. Применение ОПФ для решения указанных задач оказывается ненадежным, поскольку ведет к значительной погрешности оценки показателей системной гемодинамики.

**ФИЗИКА ГОМЕОСТАТИЧЕСКИХ СИСТЕМ – БИОФИЗИКА СЛОЖНЫХ БИОСИСТЕМ – COMPLEXITY****Physics of homeostatic systems – biophysics of complex biosystems – complexity****Еськов В.М., Еськов В.В., Вохмина Ю.В., Филатова Д.Ю.**

БУ ВО ХМАО-Югры «Сургутский государственный университет», 628415, РФ, ХМАО, Сургут, пр. Ленина, 1

Тел.: +7(3462)763079; E-mail: kafedra\_bin@mail.ru

На физическом уровне молекулы, клетки и органы имеют чёткое и закономерное объяснение, а специфика сложных биосистем (complexity) проявляется именно в динамике поведения сложных биосистем, complexity, которые обозначились J.A. Wheeler как эмерджентные системы. Выделим, что не все ученые относят объекты живой природы к complexity или эмерджентным системам. Это имеет четкое объяснение на уровне организации (самоорганизации) и в динамике поведения таких сложных биосистем, которые мы сейчас обозначаем как системы третьего типа – СТТ, или complexity. Их динамика поведения (якобы хаотичная или стохастическая) не может быть объяснена (как мы сейчас показываем) в рамках законов физики и теории систем, хотя все три нобелевских лауреата, ведущие специалисты в области эмерджентности- complexity: I.R. Prigogine, M. Gell-Mann, J.A. Wheeler, в своих публикациях определяли complexity именно как системы с детерминированным хаосом. В реальности СТТ – complexity не относятся ни к хаотическим, ни к стохастическим системам. В рамках разрабатываемой сейчас теории хаоса-самоорганизации – ТХС особые 5 свойств СТТ резко их отличают от объектов физики и соответственно биофизики, базирующейся на принципах A.V.Hill. Это первая (и глобальная) неопределенность СТТ, которая резко их уводит от обычных для физики объектов и систем. Неопределённость  $x(t_0)$  весьма специфичная, т.к. она отлична от неравномерных и даже равномерных распределений. В рамках современной науки мы не можем задать даже для  $x(t_0)$  функцию распределения  $f(x)$  и не можем говорить о детерминированном хаосе. Величина  $x(t_0)$  обычно точно определяется в рамках современной детерминистской и стохастической науки, т.к. это начальное значение ( $x(t_0)$ ) характеризует любое последующее состояние системы, а не только начальное. В ТХС любое конечное состояние СТТ  $x(t_k)$ , как и  $x(t_0)$ , не может быть определено в виде конкретных функций распределения  $f(x)$  или в рамках детерминированного хаоса, т.е. в виде равномерного распределения. Методы термодинамики неравновесных систем (в частности расчёт энтропии  $E$  для стационарных и эволюционирующих процессов) тоже не показывает существенных результатов. Однако расчёт параметров квазиаттракторов показывает закономерные изменения состояния гомеостаза (эволюция СТТ) или, наоборот, может демонстрировать неизменность гомеостаза. Последнее имеет важное значение для медицины, т.к. возникает возможность отличий нормы от патологии. Живые системы с их 5-ю особыми свойствами (принципами организации) не могут описываться в рамках статистических функций распределения  $f(x)$ , т.к.  $f(x)$  демонстрирует непрерывный калейдоскоп изменений при условии неизменности самого гомеостаза биосистем. Законы термодинамики неравновесных систем И.Р. Пригожина и принципы максимума энтропии и минимума скорости прироста  $p=dE/dt$  для СТТ не выполняются для живых систем – complexity. Для особых СТТ (живых, гомеостатических систем) необходимо рассчитывать матрицы парных сравнений выборок при многократных повторениях измерений параметров вектора  $x(t)$  гомеостатической системы. При этом параметры квазиаттракторов дают эффективные методы расчёта реальных изменений гомеостаза СТТ, т.е. их эволюции.

## СТАТИСТИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ СПОНТАННОГО ДЕЛЕНИЯ ЭНАНТИОМЕРОВ В РАЦЕМИЧЕСКИХ РАСТВОРАХ ТФААС

### The Statistical Mechanism of Spontaneous Fission in the TFAAA Racemic Solutions

***Зленко Д.В.1, Литвин Я.А.2, Стовбун С.В.2***

1 – Биологический ф-т МГУ имени М.В. Ломоносова. 119234, Москва, Ленинские горы 1/12.

2 – Институт химической физики РАН имени Н.Н. Семёнова. 119991, Москва, Косыгина 4.

Тел.: +7(926)6833300; e-mail: [dvzlenko@gmail.com](mailto:dvzlenko@gmail.com)

Известно, что в остывающих гомохиральных растворах трифторацетилованных аминоспиртов (ТФААС) спонтанно формируются сильно вытянутые структуры, получившие название струн [1]. Струны представляют собой высокоструктурированные [2], жесткие супрамолекулярные конструкции, образование которых происходит в основном за счет межмолекулярных ван-дер-ваальсовых сил [3]. Недавно нами было обнаружено, что образование струн возможно также и в рацемических растворах ТФААС, при этом для части образцов дифрактограмма для ксерогеля совпадает с дифрактограммой гомохирального образца того же состава, поэтому есть основания полагать, что каждая струна в таких образцах состоит из молекул только одной хиральности. Таким образом, в системах ТФААС+растворитель, по-видимому, происходит спонтанное деление энантиомеров.

Методом молекулярной динамики (МД) были смоделированы разбавленные рацемические растворы ТФААС. Как было показано ранее, в сильно разбавленных гомохиральных растворах ТФААС молекулы образуют жидкие капли [3], что наблюдается также и в рацемических растворах. Анализ энантиомерного состава капель в рацемических растворах показывает, что в составе мелких капель (3 – 5 молекул) асимметрия состава в среднем не наблюдается. В то же время в каплях большего размера (7 – 10 молекул) наблюдается выраженный (1:3) избыток одного из энантиомеров. В среднем по всем исследованным системам образование капель обогащенных левым или правым энантиомером ТФААС оказывается равновероятным. Анализ энергии парных взаимодействия молекул ТФААС в каплях разного размера и состава показал, что в среднем энергия взаимодействия молекул в гомохиральных парах в крупных каплях, с выраженным энантиомерным избытком, на 1 – 1.5 кДж/моль больше чем в парах с различной хиральностью молекул.

Полученные данные позволяют сформулировать следующий гипотетический механизм спонтанного деления в рассматриваемых растворах. Образование нанокapлей в гомохиральном растворе подчиняется обычным статистическим закономерностям, в следствие чего возможно формирование капель с некоторым избытком одного из энантиомеров. Ввиду того, что энергия взаимодействия двух одинаковых молекул оказывается чуть выше, присоединение к капле молекул находящегося в избытке энантиомера оказывается несколько выгоднее. При интенсивном обмене молекулами это создает предпосылки для усиления асимметрии состава и образования более крупных, практически гомохиральных капель и частиц мезофазы. Как было показано раньше, такие частицы служат зародышами роста струн [3], следовательно, частица мезофазы составленная из правовращающих молекул даст начало правовращающей струне и наоборот.

1. Kostyanovsky R.G. et al. / Mend. Commun. 2005. V. 4. P. 140.

2. Стовбун С.В. и соавт. / ДАН. 2013. Т. 450. № 5. С. 138.

3. Зленко Д.В., Стовбун С.В. / Хим. физика. 2015. Т. 34. № 7. С. 79.



**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КРИОСОХРАНЕННОГО КОСТНОГО МОЗГА В ЭКСПЕРИМЕНТАХ ПО УВЕЛИЧЕНИЮ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ МЫШЕЙ****The use of cryopreservation of bone marrow in experiments on increasing of mice lifespan**

**Карнаухов А.В., Карнаухова Е.В., Сергиевич Л.А., Карнаухова Н.А, Богданенко Е.В., Манохина И. А., Карнаухов В.Н.**

1 – Институт биофизики клетки РАН, 142290, Московская обл., г. Пущино, Институтская, 3

2 – НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

*e-mail: AlexeyKarnaukhov@yandex.ru*

Настоящее исследование основано на разработанной нами в 2009 году информационной теории старения [1]. В соответствии с ней основной причиной старения многоклеточных организмов является информационная деградация клеточного генетического материала (накопления случайных ошибок генома). В качестве основного механизма «омоложения» (снижения числа повреждений) генетического материала при его переходе от родительских особей к их потомкам рассматривается явление кроссинговера при гаметогенезе и последующий конкурентный отбор гамет, участвующих в формировании генетического материала потомков. В рамках имитационной модели показано, что данный механизм обеспечивает устойчивость генофонда популяции на протяжении большого числа поколений, в то время как для отдельного организма наблюдается увеличение числа повреждений генома с возрастом. Из информационной теории старения следует, что существует возможность замедления процесса старения и продления жизни путем замены стволовых клеток стареющего организма на клетки с неповрежденным геномом. Проведенные нами эксперименты на мышах [2] продемонстрировали возможность существенного увеличения средней продолжительности жизни животных (на 34%) при трансплантации стволовых клеток костного мозга от молодых доноров старым реципиентам внутри высоко инбредной линии мышей. Приживаемость клеток донора (длительность их пребывания в организме реципиента) является ограничивающим фактором для еще большего увеличения средней продолжительности жизни. Отметим, что для человека замена клеточного состава может быть реализована путем криосохранения некоторого количества собственного костного мозга с его последующей ауто трансплантацией в пожилом возрасте. В настоящей работе исследуется возможность повышения приживаемости донорских клеток молодых мышей путем использования криосохраненного костного мозга животных. Мы предполагаем, что использование клеточного материала от одного и того же донора для периодической трансплантации стареющему животному позволит минимизировать иммуногенность клеток донора и повысить их приживаемость. Как показали предварительные эксперименты по трансплантации криосохраненных образцов костного мозга, приживаемость и пролиферативный потенциал таких клеток в организме облученных мышей соответствует показателям, которые ранее были получены нами в экспериментах по трансплантации костного мозга без криосохранения. В экспериментах использовалась инбредная линия трансгенных мышей (eGFP+ C57BL/6), часть которых несет ген зеленого флуоресцентного белка, используемого в качестве метки донорских клеток.

1. Карнаухов А.В., Карнаухова Е.В. // Биофизика, 2009, т.54(4): 726-732.

2. Карнаухов А.В., Карнаухова Е.В., Сергиевич Л.А., Карнаухова Н.А, Богданенко Е.В., Смирнов А.А., Манохина И. А., Карнаухов В.Н. // Биофизика, 2014, т. 59(4): 790-795.

## СИМБИОЗ КАК СУЩЕСТВЕННЫЙ ФАКТОР ЭВОЛЮЦИИ

### Symbiosis as a significant factor in evolution

**Карнаухов В.Н., Карнаухов А.В., Яшин В.А., Карнаухова Н.А.**

Институт биофизики клетки РАН, 142290, Московская обл., г. Пущино, Институтская, 3

*e-mail: AlexeyKarnaukhov@yandex.ru*

В момент своего появления (1842-1859) эволюционная теория Дарвина оперировала двумя фундаментальными понятиями, которые лежали в основе эволюционного прогресса живых форм. Это, во-первых, случайная наследуемая изменчивость, и, во-вторых, направленный естественный отбор. Появление несколько позже генетической теории (1865-1900), казалось бы, обогатило теорию Дарвина конкретными механизмами наследуемой изменчивости. Однако, на самом деле, взаимодействие этих теорий привело к сужению исходного дарвиновского варианта эволюционной теории и формированию так называемой синтетической теории эволюции. В рамках этой теории исходное понятие наследуемой изменчивости было заменено понятием генетических мутаций, а понятие естественного отбора, по существу, сводилось к внутри- и межвидовой конкуренции.

Такое искусственное сужение исходных понятий привело к появлению ряда принципиальных проблем, из которых отметим здесь две:

1. Сам по себе генетический аппарат наследования, построенный на базе ДНК, представляет собой исключительно сложную молекулярную машину, который, безусловно, не мог возникнуть вне эволюционного процесса как результат невероятной мутации.

2. Многочисленные попытки построить количественные оценки вероятностей значимых эволюционных событий неизбежно приводили к исчезающе малым величинам.

Разрешение этих и других проблем, на наш взгляд, может быть осуществлено путем включения в эволюционную теорию наряду с факторами генетического наследования и конкуренции также факторов негенетического наследования и симбиотических отношений межвидовой и внутривидовой взаимопомощи (кооперации). Долгое время после открытия явления симбиоза при исследовании лишайников (Фаминцын А.С., Баранецкий О.В., 1867) это явление воспринималось лишь как пример удивительного многообразия природы. Даже более поздние работы, посвященные симбиотическому происхождению хлоропластов и митохондрий, мало изменили отношение к феномену симбиотических отношений в живой природе. Вместе с тем, очевидно, что такое крупное эволюционное событие как возникновение аэробного эукариотического организма на базе «протоэукариотического», в котором поселилась «протомитохондриальная» бактерия, никак не укладывается в парадигму «современного» дарвинизма - синтетической теории эволюции. Действительно, для осуществления и наследственного закрепления этого события никаких генетических изменений (мутаций) участвующих в нем организмов не потребовалось. Во время нашей экспедиции в тропической зоне Атлантического океана (океаническая пустыня) нами было обнаружено обилие симбиотических форм жизни в пробах морской воды. Можно без преувеличения сказать, что симбиотические формы жизни оказались доминирующими среди других планктонных организмов. Уверенность в этом выводе нам давала возможность измерения спектров люминесценции и поглощения отдельных клеток и внутриклеточных структур, что в свою очередь позволяло надежно различать клетки фотосинтезирующих и гетеротрофных организмов. Накопленные к настоящему времени знания позволяют утверждать, что феномен симбиотических отношений в живой природе имеет универсальный характер и не может более игнорироваться современной эволюционной теорией.

**ЭЛЕКТРИЧЕСКОЕ СОПРОТИВЛЕНИЕ ЛЕГКИХ, МЕЖРЕБЕРНЫХ МЫШЦ И ПОЧЕК КРЫС ЛИНИИ НИСАГ****Коломеец Н.Л., Смирнова С.Л., Рощевская И.М.**

Отдел сравнительной кардиологии Коми НЦ Уро РАН, 167982, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 24

тел/факс: (8212) 391451, e-mail: n.kolomeets@cardio.komisc.ru

Крысы линии НИСАГ являются моделью наследственно обусловленной стресс чувствительной артериальной гипертензии (Якобсон и др., 1994). Существенные изменения параметров электрического поля сердца на поверхности тела крыс были выявлены при развитии гипертензии (Рощевский и др., 1988; Шорохов, Рощевская, 2014). Цель работы – выявление изменений электропроводности тканей грудной клетки и почки, как органа-мишени при артериальной гипертензии. Эксперименты проведены на наркотизированных 4 мес. самцах крыс линий Вистар ( $n=6$ ) весом  $238,8 \pm 69,2$  г/ и НИСАГ ( $n=8$ ) весом  $297,6 \pm 35,0$  г. находящихся на искусственном дыхании. Электрический импеданс измеряли у легких, межреберных мышц и левой почки. Сравнивали значения электрического импеданса соответствующих тканей крыс НИСАГ и Вистар при нулевой ( $R_0$ ), характеристической ( $R_c$ ), бесконечной и на спектре частот (активное сопротивление  $R$ ). Значимость различий параметрических данных оценивали критерием Стьюдента для независимых выборок. Вес почек у крыс НИСАГ ( $1,1 \pm 0,1$  г.) значительно увеличен по сравнению с Вистар ( $0,8 \pm 0,3$  г,  $p=0,044$ ). Выявлено значимо меньшие сопротивления  $R_0$  и  $R_c$  почки ( $R_0=899,11 \pm 181,54$  Ом,  $p=0,005$ ;  $R_c=572,73 \pm 129,76$  Ом,  $p=0,007$ ) у крыс НИСАГ в сравнении с Вистар ( $1228,72 \pm 175,29$  Ом и  $774,07 \pm 86,2$  Ом соответственно). Значимо отличалось сопротивление межреберных мышц у крыс линии НИСАГ в сравнении с крысами линии Вистар при нулевой ( $R_{0,НИСАГ}=892,64 \pm 128,27$  Ом и  $R_{0,Вистар}=1638,20 \pm 427,14$  Ом,  $p=0,00003$ ) и характеристической ( $R_{c,НИСАГ}=566,29 \pm 102,76$  Ом и  $R_{c,Вистар}=910,83 \pm 289,10$  Ом,  $p=0,002$ ) частотах, а также при 50 кГц ( $R_{50,НИСАГ}=416,96 \pm 108,85$  Ом и  $R_{50,Вистар}=584,06 \pm 118,97$  Ом,  $p=0,014$ ) и 25 кГц ( $R_{25,НИСАГ}=549,24 \pm 136,21$  Ом,  $R_{25,Вистар}=796,54 \pm 145,35$  Ом,  $p=0,004$ ). Значимо меньше сопротивление легочной ткани при частотах 75 ( $R_{75}=743,28 \pm 207,36$  Ом,  $p=0,026$ ), 50 ( $R_{50}=856,25 \pm 295,79$  Ом,  $p=0,044$ ), 5 ( $R_5=1325,90 \pm 308,91$  Ом,  $p=0,032$ ) у гипертензивных крыс в сравнении с Вистар ( $1077,94 \pm 441,25$  Ом,  $1218,48 \pm 530,9163$  Ом и  $1790,66 \pm 583,7681$  Ом соответственно). Электрический импеданс тканей на низких частотах определяется особенностями структуры органа, уровнем кровоснабжения и содержанием проводящей жидкости в межклеточных пространствах, «плотностью упаковки» структурных элементов в единице объема (Торнуев и др., 2014). При оценке объемного кровотока обычно используются измерения импеданса на частотах 40–100 кГц, при изменении объемов крови и интерстициальной жидкости электропроводность увеличивается на любых частотах (Цветков, 2010). Крысы НИСАГ имеют специфические для гипертензивной болезни морфологические изменения почек (Редина и др., 2014), гипертензии предшествует увеличение объема циркулирующей крови, происходящее вследствие задержки натрия и воды (Багаев и др., 2008). Уменьшение электрического сопротивления легких, межреберных мышц и почек у гипертензивных крыс линии НИСАГ свидетельствует об увеличении объема циркулирующей крови и общего количества жидкости в организме при артериальной гипертензии.

## ТЕОРИЯ НАДЕЖНОСТИ И СТАРЕНИЕ: НАДЕЖНЫЕ СИСТЕМЫ ИЗ НЕНАДЕЖНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ

### Theory of reliability (robustness) and aging: reliable systems from unreliable elements

**Кольтовер В.К.**

Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка, Московская область, Россия

*e-mail: koltover@icp.ac.ru*

Надежность – это свойство объекта выполнять заданные функции в течение заданного времени в заданных условиях. Исследования надежности биологических систем в настоящее время охватывают широкий круг проблем – от механизмов отказов и восстановления биомолекулярных нанореакторов клетки до многоклеточных организмов и экосистем [1-3]. Теоретико-надежностный подход к проблеме старения, предложенный в наших работах, основан на концепции детерминированной надежности биосистем. Предполагается, что (i) любая живая система – это иерархия биомолекулярных конструкций, устроенных в соответствии с генетической программой (информационный план) с целью выполнения заданных функций; (ii) в работе любой конструкции, начиная с ферментов, в силу тех или иных случайных факторов возможен сбой («отказ»); (iii) высокая системная надежность обеспечивается профилактическими мерами – малонадежные функциональные элементы своевременно заменяются новыми; (iv) имеется сравнительно небольшое число критических структур (управляющих элементов), контролирующей профилактику отказов – «вертикаль управления» системной надежностью; (v) надежность работы управляющих элементах снижается со временем. Математическая модель, построенная на основе предложенной концепции объясняет основные количественные закономерности старения – экспоненциальный рост смертности с возрастом («закон Гомпертца») и отрицательную корреляцию между видовой продолжительностью жизни и интенсивностью окислительного метаболизма («закон Рубнера»). Важнейшую роль играет ограниченная надежность митохондриальных нанореакторов электронного транспорта, при сбоях в работе которых возникают супероксидные радикалы ( $O_2^{\bullet-}$ ). Критическую роль играют радикалы  $O_2^{\bullet-}$ , которые возникают в структурах управления системной надежностью, предположительно, в митохондриях специализированных клеток гипоталамуса. Открыты важнейшие эпигенетические регуляторы клеточных процессов – сиртуины, семейство  $NAD^+$ -зависимых деацетилаз, экспрессия которых зависит от редокс-состояния среды. Имеются основания полагать, что радикал  $O_2^{\bullet-}$  как сильный восстановитель способен существенно влиять на соотношение  $NADH/NAD^+$ , и что отрицательная редокс-регуляция активности сиртуинов ведет к существенному замедлению обновления клеточных структур и, как следствие, накоплению продуктов перекисного окисления в клетках и тканях. Продолжительность жизни человека могла бы достичь 250 лет при 100-процентной надежности защиты клеток и тканей от  $O_2^{\bullet-}$ . Таким образом, свободно-радикальные часы – эффективный и надежный механизм реализации генетической программы старения. В рамках концепции ограниченной надежности биосистем находят также объяснение факты продления жизни животных с помощью биоантиоксидантов и аналогичные гормональные эффекты ионизирующей радиации [3].

*Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект 14-04-00593а.*

1. Гродзинский Д.М., Войтенко В.П., Кутлахмедов Ю.А., Кольтовер В.К. Надежность и старение биологических систем. Киев: Наукова думка, 1987.
2. Kitano H. Biological robustness. / Nat. Rev. Genet., 2004. V. 5. P. 826-837.
3. Koltover V.K. Theory of reliability in systems biology: aging versus reliability. In: Recent Advances in Systems Biology Research. N.Y.: Nova Science Publishers Inc., 2014. pp. 109-130.

**КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ КРОВЕНОСНОЙ СИСТЕМЫ МОЗГА КРЫСЫ****Computer simulation of the circulatory system of the rat brain****Копылова В.С.(1), Бороновский С.Е.(1), Нарциссов Я.Р.(1), Crolet J.M.(2)**

1 – НИИ цитохимии и молекулярной фармакологии, 115404, Москва, 6-ая Радиальная ул., д. 24, стр. 14.

2 – Superior Institute for Engineer in Franche-Comte, 25000 Besancon, France

Тел./Факс.: +7 (495) 347-49-87; e-mail: yarosl@biotic.dol.ru

Функциональность кровеносной системы в значительной степени зависит от ее структуры и топологии. За счет ветвления кровеносных сосудов и их оптимального пространственного распределения достигается эффективная перфузия органа сосудистым руслом, обеспечивая органы жизненно важными метаболитами. По мере совершенствования методов численного моделирования и развития визуализации результатов медицинских исследований стало возможным комплексное исследование сосудистых сетей, учитывающее их сложную структуру и различие в масштабах сосудов. Целью данной работы являлась разработка математической модели для построения трехмерных фантомов артериальной системы головного мозга крысы. Был предложен алгоритм создания виртуального фантома, позволяющий масштабировано аппроксимировать мозг крысы с учетом его геометрических размеров. Погрешность отклонения виртуального фантома от реального изображения объекта не превышает 5%. На основании визуального анализа сформулирована геометрическая классификация фантомов мозга крысы, позволяющая описывать наблюдаемые анатомические структуры. Так же был разработан алгоритм создания виртуальной артериальной системы. Предложенный подход основан на разделении структуры кровеносной системы на две части, отличающиеся как функциональными особенностями сосудов, так и методами их моделирования. В силу того, что топология основных артерий головного мозга является достаточно жесткой, и её отличие у различных образцов носит скорее количественный характер, в представлении модели они выделены в отдельную детерминированную структуру. Более мелкие сосуды моделируются стохастическими методами в соответствии с основными принципами и законами ветвления. С использованием построенной сосудистой системы были получены диффузионные градиенты глюкозы в локальной области мозговой ткани.

## ПОВЕДЕНИЕ, СОЗНАНИЕ. БРИТВА ОККАМА. БАКТЕРИЯ, АНТИБИОТИК, ХИЩНИК

Behavior, consciousness. Ockham's razor. Bacteria, antibiotics, predators

Коханов В.С.

КОХАНОВ@yandex.ru

В жизни особи, например бактерии, возникают непредвиденные ситуации, которые связаны с поведением и эволюционными изменениями у других участников биоценоза. На этом этапе эволюционного развития выявлены механизмы репарации ДНК, обеспечивающие сохранение достигнутого организмом совершенства. Мутации можно описать как факторы меняющие емкость экологической ниши в модели ограниченного роста Ферхюльста, возникают они случайно, а потому предугадать появление продуцента антибиотика заранее не возможно. Возникает угроза вымирания: изменение условий в окружающей среде происходит по близкой к экспоненциальной зависимости, тогда как вероятность появления мутации устойчивости к антибиотику остается  $=const \cdot (\text{численность популяции})$ . Если в биоценозе появляется (случайно, но обязательно) хищник, поедающий продуцирующий антибиотик организм, то возникают периодические колебания численности популяции, согласно модели Лотки-Вольтеры. Если чувствительный к антибиотику организм оказывается в местах локального минимума, по численности популяции антибиотикпродуцента, то он может увеличить численность своей популяции экспоненциальным образом, т.е. порядок функций по динамике численности популяций выравнивается, а это дает возможность появления мутации устойчивости к антибиотику. Простейшая поведенческая реакция в виде локомоции появляется у прокариот. Т.е. ПОВЕДЕНИЕ особи призвано компенсировать инерционность адаптивного мутагенеза. ПРОИЗВОЛ в ПОВЕДЕНИИ особи, и в структуре обеспечивающей ПОВЕДЕНИЕ, является необходимым условием на начальном этапе формирования защитной реакции, поскольку является следствием непредсказуемости условий окружающей среды. Структура гликанов зависит протеолиза по анкерному домену фермента, в результате чего получаются растворимые изоферменты, у которых появляется возможность для взаимодействия с сайтами субстрата-акцептора, ранее недоступными для транслируемых мембранноассоциированных изоферментов. Какие факторы инициируют протеолиз – не известно, возможно – функциональное состояние клетки. Структура гликанов обладает огромной информационной емкостью, имеет возможность для конформационных изменений с низким энергетическим барьером, и - для частичного гидролиза под воздействием факторов окружающей среды. Показательна роль гликанов в реакции спорообразования у бактерий. Они блокируют афферентный поток в клетку, т.е. вызывают потерю СОЗНАНИЯ. В состоянии споры ни ДНК, ни протеины цитоплазмы не обрабатывают сигналы окружающей среды. Гликаны, подвергнувшись частичному гидролизу во время неблагоприятного периода, могут сигнализировать клетке о наступлении благоприятного периода. Если локомоция перемещает особь в пространстве, то спорообразование перемещает особь во времени, с аналогичным эффектом. Вероятно, что первичные изменения структуры, обеспечивающие ПОВЕДЕНИЕ и формирующие СОЗНАНИЕ, происходят в гликанах.

1. Ajit Varki et al/Essentials of Glycobiology, 2nd edition. C S H L Press; 2009 784 p.

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАИЛУЧШЕЙ СТРАТЕГИИ ПОВЕДЕНИЯ МИКСАМЕБ *Dictyostelium discoideum* В СИСТЕМАХ ПОДВИЖНЫХ КОНЕЧНЫХ АВТОМАТОВ****Кручинин И. В.**

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,  
физический факультет, Москва, Россия  
E-mail: [iv.kruchinin@physics.msu.ru](mailto:iv.kruchinin@physics.msu.ru)

Объект моделирования: популяция миксамеб *Dictyostelium Discoideum* (DD). При достатке пищи эти амёбы движутся хаотично, питаются, растут и размножаются делением. При отсутствии пищи они через некоторое время начинают выделять в среду цАМФ, служащий хемоаттрактантом. Под действием хемотаксиса амёбы сползаются, агрегируют, образуют макроскопического слизня, который быстро ползет по направлению к теплу и свету.

Из этого следует, что максимально высокая скорость агрегации является выгодной для популяции DD, т.к. позволяет быстро добраться до пищи.

Общая цель работы: построение модели поведения миксамеб на основе парадигмы подвижных конечных автоматов и нахождение наиболее выгодной стратегии поведения DD, т.е. такой стратегии, при которой происходит максимально быстрая агрегации.

Предварительные результаты: на основе модели хемотаксиса DD построен функционал скорости агрегации и реализован алгоритм поиска оптимальных параметров стратегии поведения миксамеб, который реализуется в виде программного кода в среде Matlab.

Результаты: предполагается, что в результате выявления оптимального поведения миксамеб DD удастся добиться более детального понимания механизмов процесса самоорганизации и морфогенеза.

1. Гилберт С.Ф. Биология развития / Третье издание на русском языке, Изд-во Мир, 1993
2. Goldbeter A. Oscillations and waves of cyclic AMP in *Dictyostelium*: A prototype for spatio-temporal organization and pulsatile intercellular communication // Society for Mathematical Biology, 2006
3. Волгин Л.Н. Оптимальное дискретное управление динамическими системами // М.: Наука, 1986
4. J rai-Szab  F. and N da Z. Computer simulation of the *Dictyostelium discoideum*'s aggregation process // 2002

## ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ФОРМИРОВАНИЯ УЕДИНЁННЫХ СТАЦИОНАРНЫХ И ОСЦИЛЛИРУЮЩИХ СТРУКТУР

### INVESTIGATION OF LOCALIZED STATIONARY AND OSCILLATORY STRUCTURES FORMATION MECHANISMS

***Кузнецов М.Б., Полежаев А.А.***

Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН, 119991, Москва, Ленинский проспект, 53

Тел.: +7(967)218-35-96; e-mail: kuznetsovmb@mail.ru

Пространственно-временные структуры, образующиеся в системах, далеких от состояния термодинамического равновесия, широко распространены в природе. Большинство встречающихся структур распространяются на весь объем системы, исключение составляют локализованные структуры, среди которых встречаются стационарные, колеблющиеся – осциллоны, а также уединенные волны – солитоны. Локализованные структуры встречаются во множестве физических систем, а также в химической реакции Белоусова-Жаботинского, протекающей в обращенной масляной микроэмульсии аэрозоля ОТ [1].

Мы показываем, что в реакционно-диффузионной системе, которая находится близко к субкритической бифуркации Тьюринга, под действием жесткого локального возбуждения возможно образование уединенных стационарных структур, несмотря на то, что малые возмущения такой системы затухают со временем. При этом при приближении параметров к бифуркационным значениям возникающие структуры перестают быть уединенными, достраиваясь со временем до диссипативных структур, занимающих всю область моделирования.

Мы предлагаем новое формальное модельное описание возникновения осциллонов через параметрическое влияние уединенных стационарных структур, возникающих в первой системе, на вторую систему, находящуюся в потенциально колебательном состоянии. Благодаря диффузии каждая из возникающих во второй системе осциллирующих структур колеблется как одно целое, при этом близко расположенные осциллоны, колеблющиеся в разных фазах, не взаимодействуют друг с другом, в отличие от широко известных осциллонов в зернистой среде [2].

1. Vanag V. K., Epstein I. R. / Phys. Rev. Lett., 2004. vol.92(12). 128301.

2. Umbanhowar P. B., Melo F., Swinney H. L. / Nature, 1996. vol. 382. p. 793–796.



**ВЛИЯНИЕ ДЕФИЦИТА ФАКТОРОВ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ НА СИСТЕМУ ГЕМОСТАЗА В ГОМОГЕННОЙ И ПРОСТРАНСТВЕННО-НЕОДНОРОДНОЙ ПОСТАНОВКАХ**

**Купраш А.Д.1, Дашкевич Н.М.4, Карамзин С.С.4, Атауллаханов Ф.И.1-5, Пантелеев М.А.1-5, Баландина А.Н.2,3**

1 – МГУ, физический факультет, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 2

2 – ФГБУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева, 117997, Москва, ул.Саморы Машела, 1

3 – ЦТП ФХФ РАН, 119991, Москва, ул. Косыгина, 4

4 – ООО «ГемаКор», 117246, Москва, Научный проезд, 20, стр. 2

5 – МФТИ, факультет биологической и медицинской физики, 141700, Московская обл., г. Долгопрудный, Институтский пер., 9

Тел.: 287-6570 (доб. 5525); e-mail: a\_balandina@inbox.ru

Система свертывания крови – каскад ферментативных реакций, который запускается в сосуде от места повреждения путем контакта плазмы крови с трансмембранным белком тканевым фактором (ТФ) и приводит к формированию фибринового тромба. Дефицит белков свертывания (факторов) приводит к развитию кровоточивости, клинические проявления которой зависят от типа дефицитного белка и его остаточной активности. Существующие методы исследования гемостаза основаны на активации свертывания ТФ, добавленным в объем, однако такой подход не учитывает процессы диффузии. Для того, чтобы выяснить насколько сильно изменяется процесс свертывания при учете пространственной неоднородности, мы сравнили генерацию тромбина и фибрина при активации свертывания *in vitro* в гомогенной и пространственно-неоднородной моделях в плазме крови пациентов с дефицитом различных факторов свертывания. Генерацию тромбина и фибрина изучали в свободной от тромбоцитов плазме здоровых доноров и пациентов с дефицитом факторов: II (фII), V (фV), VII (фVII), VIII (фVIII), IX (фX), X (фX), XI (фXI), XII (фXII). Свертывание активировали в тонком слое плазмы в присутствии фосфолипидных микровезикул (4 мкМ) равномерно распределенным в объеме ТФ (5 пМ) или от поверхности с иммобилизованным ТФ (80 пмоль/м<sup>2</sup>). Для исследования был сконструирован прибор и разработан метод, в основе которого лежит регистрация возбуждаемой диодами УФ спектра флюоресценции продукта реакции тромбина и субстрата (7-амино-4-метилкумарин) и сигнала светорассеяния света диодов в области видимого диапазона от фибринового сгустка. В гомогенной модели кривая генерации тромбина представляет собой пик с максимумом  $A_{\max}$ , который в нормальной плазме составляет  $220 \pm 25$  нМ (N=3).  $A_{\max}$  умеренно снижается (в 1,5-3 раза) в отсутствие фVIII, фIX, фXI и фXII, падает на порядок в отсутствие фII и фVII, свертывание не происходит в отсутствие фV и фX. Распределение тромбина в пространстве представляет собой бегущую волну с четко выраженным пиком, которая распространяется от поверхности с ТФ со скоростью  $V = 38 \pm 5$  мкм/мин (N=3) и имеет амплитуду  $P_{\max} = 58 \pm 13$  нМ (N=3). Скорость роста фибринового сгустка  $V_{\text{fib}}$  совпадает с V. При переходе к пространственно-неоднородной модели в нескольких случаях эффект дефицита факторов изменился. Улучшение свертывания наблюдалось в отсутствие фVII и фXII ( $P_{\max}$ , V и  $V_{\text{fib}}$  в норме), фII и фXI (V и  $V_{\text{fib}}$  в норме,  $P_{\max}$  снижена аналогично  $A_{\max}$ ) и фV (свертывание происходило, при этом волна тромбина не формировалась, а  $V_{\text{fib}}$  была вдвое ниже нормы). При дефиците фVIII и фIX волна тромбина также не формировалась и  $V_{\text{fib}}$  была вдвое ниже нормы. При учете пространственной неоднородности свертывания устойчивость системы повышается по сравнению со свертыванием в случае гомогенной активации: дефицит факторов II, V, VII, XI и XII приводит к менее значимому ухудшению свертываемости.

*Работа поддержана грантами РФФИ 14-04-00670 и 15-54-45036, а также грантом Президента РФ для молодых докторов наук МД-6347.2015.4.*

## **МНОГОМИРОВАЯ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ КВАНТОВОЙ ТЕОРИИ И ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ БИОФИЗИКИ**

### **Many-Worlds Interpretation of the Quantum Theory and Fundamental Problems of Biophysics**

**Намиот В.А.**

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Научно-исследовательский институт ядерной физики, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 1

*e-mail: vnamiot@gmail.com*

В докладе обсуждаются основные моменты, связанные с многомировой интерпретацией квантовой теории [1-6]. Указывается на возможную связь этой интерпретации с фундаментальными проблемами биологии, такими как возникновение жизни из неживой материи, каким образом происходит макроэволюция, а также благодаря чему, в принципе, может существовать такое явление, как мышление. Обсуждается связь многомировой интерпретации квантовой теории с так называемой проблемой «редукции волновой функции». При этом особо обращается внимание на те трудности, которые возникают при попытке представить себе, каким именно образом осуществляется эта «редукция» в многомировой интерпретации. Делается вывод, что предложенные к настоящему времени объяснения того, как это происходит, даже если чисто формально они и не противоречивы, всё же не могут претендовать на роль окончательного ответа на этот вопрос.

1. Deutsch D. The Fabric of Reality: the Science of Parallel Universes and Its Implications. Allen Lane. The Penguin Press. New York. 1997.
2. The Many-Worlds Interpretation of Quantum Mechanics. DeWitt B.S., Graham N. (eds) Princeton. N.J : Princeton Univ. Press. 1973, p.167.
3. Penrose R. The Emperor's New Mind; Concepting Computers, Minds, and the Laws of Physics. Penguin Books. New. York. 1991.
4. Everett H. / Relative state formulation of quantum mechanics. Rev. Mod. Phys., 1957, V. 29. P. 454 -462.
5. Feynman R.P., Hibbs A.R. Quantum Mechanics and Path Integrals McGraw-Hill Book Company. New-York. 1965.
6. Менский М. Сознание и квантовая механика. Фрязино: Век-2, 2011. – 319 с.

**КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИФфуЗИИ МЕТАБОЛИТОВ В ВИРТУАЛЬНЫХ ФАНТОМАХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ ПРИ ОПИСАНИИ ФОРМИРОВАНИЯ ИШЕМИЧЕСКОГО ОЧАГА****Computer modeling of metabolites diffusion in virtual phantoms of biological objects and its application to description of ischemic area appearance****Нарциссов Я.Р.**

НИИ цитохимии и молекулярной фармакологии, 115404, Москва, ул. 6-ая Радиальная, д.24, стр.14; Тел./факс: +7(495)327-49-87; e-mail: yarosl@biotic.dol.ru

Для количественного описания пространственно-временных распределений концентраций химических соединений в среде традиционно используется диффузионное приближение. Непосредственное получение нестационарных градиентов осуществляется путем аналитического или численного решения краевой задачи для уравнения в частных производных параболического типа. Необходимо отметить, что при всем многообразии решенных задач, упомянутых выше, до последнего времени практически отсутствуют универсальные теоретические подходы для оценки диффузии метаболитов в реальных биологических объектах. В первую очередь это обусловлено сложностью их представления в оцифрованном виде, удобном для последующего моделирования. Кроме того, необходимо учитывать сложную геометрию источников вещества, а также пространственную неоднородность области диффузии. Построение компьютерного фантома представляет собой отдельную задачу, которую в определенных условиях удается решить [1]. Тем не менее, даже при детализованном представлении биологического объекта в виде некоторого виртуального компьютерного образа не менее сложным является разработка и построение универсального подхода к описанию пространственно-временных распределений рассчитываемых концентраций метаболитов применительно к конкретному случаю. Предложенные ранее методические приемы позволяют решить подобные проблемы при выполнении некоторых допущений [2]. С использованием моделирования диффузии глюкозы в области, прилегающей к сосудам пиальной оболочки мозга крысы, ранее было показано, что при изменении калибра сосудов под воздействием раствора аминокислоты глицин происходит возрастание амплитуды градиента данного углевода в ткани [3]. Данный результат является еще одним подтверждением значимости протекторного влияния глицина на формирование ишемического очага и состояния энергетики в условиях ишемии и гипоксии [4,5]. Теоретический анализ формирующихся градиентов вблизи точек ветвления кровеносных сосудов позволяет так же сделать вывод о том, что существует некоторая локальная область нервной ткани в непосредственной близости от точки ветвления, в которой концентрация метаболита снижается значительно сильнее при симметричной геометрии бифуркации, чем при асимметричной [6]. Таким образом, архитектура кровеносной системы является дополнительным важным фактором, определяющим трофическое снабжение зоны формирования ишемического очага.

1. Pushkin S.V., Podoprigora G.I., Comas L., Boulahdour H., Cardot J.C., Baud M., Nartsissov Y.R., Blagosklonov O. / Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc., 2007. V.2007. P.1098-1100.
2. Nartsissov Ya.R. / In book: Modern Trends in System Biology. Virtual modeling and Regulation. Moscow, 2010. P.71-80.
3. Нарциссов Я.Р., Тюкина Е.С., Бороновский С.Е., Шешегова Е.В. / Биофизика, 2013. Т.58. С.887-896.
4. Lobysheva N.V., Tonshin A.A., Selin A.A., Yaguzhinsky L.S., Nartsissov Y.R. / Neurochem International, 2009. 54, 322-329.
5. Селин А.А., Лобышева Н.В., Воронцова О.Н., Тоншин А.А., Ягужинский Л.С., Нарциссов Я.Р./ Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2012. Т.153. № 1. С.52-55.
6. Нарциссов Я. Р., Бороновский С. Е., Машковцева Е. В. /Доктор.ру Неврология и Психиатрия, 2015. 5 (106). С.18-20.

## СЕКРЕТИРУЕМЫЙ БЕЛОК NOGGIN4 — ПЕРВЫЙ ЕСТЕСТВЕННЫЙ ДАЛЬНОДЕЙСТВУЮЩИЙ ИНГИБИТОР WNT/ $\beta$ -КАТЕНИНОВОГО СИГНАЛЬНОГО ПУТИ

### Secreted protein Noggin4 is the first natural long-range inhibitor of the Wnt/ $\beta$ -catenin signal pathway

**А. Нестеренко<sup>1,2</sup>, Ф. Ерошкин, А. Бородулин<sup>2</sup>, Е. Орлов<sup>2</sup>, А. Байрамов<sup>2</sup>, Н. Мартынова<sup>2</sup>, Г. Ермакова<sup>2</sup>, Ф. Гюева<sup>3</sup>, А. Белогуров<sup>2</sup>, К. Лукьянов<sup>2</sup>, А. Зарайский<sup>2</sup>**

1 — НИИФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова, 119992, Москва, Ленинские горы, 1

2 — ИБХ имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, дом 16/10

3 — Институт белка РАН, 142290, Московская область, г. Пущино, ул. Институтская, 4  
Тел. 8(495)939-53-58; факс 8(495)939-53-58; e-mail: comcon1@erg.biophys.msu.ru

Секретируемые белки семейства Noggin — известные морфогены, эмбриональные индуктор вторичных осей у самых разных таксонов животных, которые, в том числе, экспрессируются при гастрюляции и отвечают за дорсо-вентральную разметку. Основным механизмом действия классического белка Noggin — связывание BMP и, соответственно, ингибирование BMP-каскада. В отличие от млекопитающих, которые имеют только один белок семейства Noggin, остальные группы позвоночных имеют по меньшей мере три белка этого семейства: у шпорцевой лягушки это белки Noggin1, Noggin2, Noggin4 (Eroshkin, 2006). Белки Noggin1/2 способны по аналогии с Noggin млекопитающих ингибировать BMP-каскад (Bayramov, 2011), однако роль белка Noggin4 оставалась невыясненной. В настоящей работе мы показали, что белок Noggin4 принципиально отличается от Noggin1, как по своим диффузионным характеристикам, так и по функции. Влияние ингибирующего действия Noggin4 на каскад было подтверждено *in vivo* с использованием TopFLASH - люциферазного репортера на канонический Wnt-каскад. Фенотипические изменения, характеризующие ингибирование этого каскада были также обнаружены в эмбрионах, инъецированных Noggin4 mRNA. Путем проведения экспериментов *in vitro* методами коиммунопреципитации и плазмонного резонанса было показано, что Noggin4 взаимодействует с морфогеном канонического Wnt/ $\beta$ -катенинового каскада — белком Wnt8. В ходе экспериментов с фотоотбеливанием конструкций EGFP-Noggin4, РНК которых инъецировалась в дробящуюся яйцеклетку, было показано, что диффузия Noggin4 близка к теоретически предсказанной свободной диффузии, в то время как диффузия белков Noggin1/2 оказывается существенно более низкой. Этот факт интерпретировался нами как различие в адсорбции этих белков на внеклеточном матриксе эктодермальных клеток. Различие в диффузии были описаны при помощи достаточно компактных уравнений, в общем виде характеризующих диффузию, осложненную адсорбцией. Удалось получить выражения, связывающие форму кривой фотоотбеливания, концентрации веществ, константы скорости диссоциации адсорбционного комплекса и коэффициента диффузии. Таким образом, нам удалось обнаружить ингибитор Wnt-каскада с существенно более высоким коэффициентом диффузии, чем основная масса вовлеченных в гастрюляцию морфогенов. Кроме того была охарактеризована подвижность других морфогенов: Noggin1/2 и Wnt8. Полученные данные вносят существенный вклад в понимание разметки первичного плана тела позвоночных и позволяют применять к изучению anteriопостериальной разметки реакционно-диффузионные модели, основанные на различии в коэффициентах диффузии.

Работа выполнена за счет средств гранта РФФИ 14-14-00557.

1. F. M. Eroshkin, G. V. Ermakova, A. V. Bayramov, A. G. Zaraisky, *Gene Expr Patterns* 6, 180 (Jan, 2006).
2. A. V. Bayramov et al., *Development* 138, 5345 (Dec, 2011).

**СИСТЕМНЫЕ МЕХАНИЗМЫ СТРЕССА: ЭКСПЕРИМЕНТ, МОДЕЛЬ, ТЕХНОЛОГИЯ****Integrative framework of stress: experimental data, model, technology*****Парин С.Б.1,2, Полевая С.А.2,1***

1 – Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

2 – Нижегородская государственная медицинская академия, 603950, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Тел.: +7(831)439-04-52; e-mail: polevaia@ipfran.ru

Рассматриваются системные механизмы стресса с позиции авторской трёхкомпонентной теории. Обсуждаются принципиальные отличия системной концепции стресса от теоретических воззрений Г.Селье, связанные с накоплением массы экспериментальных данных, не укладывающихся в классическую теорию. Предлагается математическая модель механизмов стресса, основанная на взаимодействии трёх стресс-реактивных систем (симпатоадреналовой - САС, гипоталамо-гипофизарно-адреналовой - ГГАС и эндогенной опиоидной системы - ЭОС), и новая измерительная технология, позволяющая с точностью до секунд регистрировать начало первой фазы стресса. Проанализированы результаты экспериментальных сессий на 6 видах животных с регистрацией базовых физиологических параметров, а также лабораторных и полевых исследований с участием волонтеров. Использованы экспериментальные модели стресса различной этиологии и степени выраженности. Авторская технология телеметрического мониторинга вегетативной регуляции кардиоритма позволила провести массовые измерения параметров функционального состояния добровольцев в контексте их естественной деятельности, например: студентов во время экзамена, пожарных при тренировках в газовой-дымовой камере, докладчиков, артистов и спортсменов во время выступлений, водителей автотранспорта, и т.д. В результате сформулировано уточнённое, по отношению к классическому, определение стресса: это неспецифический, стадийный, защитный, системный, редуцированный психофизиологический ответ на повреждение или его угрозу. Если первые два тезиса вполне соответствуют классическим представлениям Г.Селье, то следующие требуют обсуждения. Во-первых, стресс ни в коей мере не является адаптационным синдромом: это сугубо защитный, в корне антиадаптивный процесс, направленный не на приспособление к условиям среды, а на противодействие повреждению. Далее, вопреки утвердившемуся со времен Г.Селье мнению, системные механизмы регуляции функций при стрессе не сводятся к взаимодействию двух стресс-реактивных систем (САС и ГГАС), а включают в качестве базовой третью систему – ЭОС, которая, будучи эволюционно древнейшей регуляторной системой, при стрессовой активации обеспечивает прерывание сигналов о рассогласовании между прогнозируемыми и реальными параметрами внутренней среды, что, в конечном итоге, и приводит к развертыванию защиты от повреждения. Именно активация ЭОС провоцирует существенную редукцию регуляторных механизмов, что проявляется в стандартизации вегетативных и психофизических показателей. Разработанная на основе этих данных математическая модель с удовлетворительной надежностью воспроизводит экспериментальные результаты и обеспечивает прогнозирование физиологических эффектов фармакологических средств.

*Работа выполнена при частичном финансировании по гранту РФФИ № 14-06-00390\_a и гранту РГНФ № 15-06-10894\_a.*

## **РОСТ ИНТЕНСИВНОСТИ ЭНЕРГО-ВЕЩЕСТВЕННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В ЭВОЛЮЦИИ ГЕОБИОСФЕРЫ ЗЕМЛИ**

### **Intensity growth of energy-matter interactions in the evolution of Earth's geobiosphere**

***Печуркин Н.С.1, Шуваев А.Н.2, Сомова Л.А.1***

1 – Институт биофизики СО РАН, 660036, Академгородок, 50/50.

2 – Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, Сибирский Федеральный Университет, 660041, Свободный пр., 79/10, Красноярск

*Тел: +7(391)249-53-19, e-mail: nsla@akadem.ru*

Эволюционная динамика одного из основных типов фундаментальных взаимодействий – взаимодействия энергии и вещества - прослежена на примере развития нашей планеты, поверхность которой подвергается потокам энергии от Солнца в течение нескольких миллиардов лет. Из-за ограниченности вещества на Земле, как и на любой другой планете, непрерывная накачка потоком лучистой энергии приводит к циклизации трансформаций и переносов вещества по возникающим градиентам. Сквозная эволюция энерго-вещественных взаимодействий идёт по пути роста количества энергии, используемого каждой единицей массы. Особую роль в развитии взаимодействия энергии и вещества сыграл длительный естественный отбор на накопление воды на планете. Ее фазовые трансформации (лед, вода, пар) и механические переносы являются самым распространенным энерго-вещественным процессом. На основе водных циклов, циклических переносов и трансформаций оказалась возможной химическая трансформация веществ, развившаяся со временем в биологическую трансформацию. Этот вид взаимодействия энергии и вещества обладает наибольшей эффективностью. Удивительно, но вполне закономерно с энергетических позиций, развитие и нынешнее доминирование человечества как энергетически наиболее активного вида по захвату энергии и осмысленной организации ее новых потоков, в частности, на основе органических остатков былых биосфер. В процессе технологической эволюции человечества показатель, характеризующий интенсивность энергообмена для самых активных (теплокровных) животных, возрос еще в 20 раз, в пересчете на технологическую энергию, используемую «средним» жителем планеты. Таким образом, победа нашего вида в планетарной эволюции легко укладывается в магистральное направление сквозной эволюции энерго-вещественных отношений: многократный рост энергии звезды, использованной для трансформации вещества на поверхности облучаемой планеты.

**ИЕРАРХИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ПЕРВИЧНЫХ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ И МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В КЛЕТКАХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ****Hierarchical model of primary photosynthetic and metabolic processes in microalgae cells**

***Плюснина Т. Ю., Ризниченко Г. Ю., Рубин А. Б.***

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический ф-т, кафедра биофизики, Россия, 119991, Москва, Ленинские горы 1, стр. 12  
+7(495)9398902, plusn@yandex.ru

Накопление большого массива данных о структуре и функциях разных клеточных систем, а также развитие компьютерных технологий дают стимул для создания многочисленных моделей «электронной клетки», включающих процессы разных иерархических уровней, таких как экспрессия генов, метаболические реакции, реакции переноса электронов в дыхательной и фотосинтетической цепях. Часто для описания разных иерархических уровней используется различный математический аппарат: дифференциальные уравнения, разностные схемы, оптимизационные задачи и т.д. При создании интегральных моделей одну из наиболее актуальных проблем представляет собой задача объединение моделей процессов, имеющих разные характерные времена и описываемых моделями разного типа.

В данной работе рассматривается иерархическая модель растительной клетки, объединяющая процессы центрального метаболизма и первичные реакции–фотосинтеза. Реакции первичных процессов фотосинтеза описываются дифференциальными уравнениями и включают в себя разделение зарядов в фотосистеме 2, восстановление пула пластохинонов и изменение концентрации окислительно-восстановительных эквивалентов NAD(P)H. Метаболические реакции гликолиза и цикла Кальвина, распад и накопление крахмала, заданы потоковыми уравнениями. Два уровня модели связаны между собой через окислительно-восстановительные эквиваленты NAD(P)H, которые могут образовываться и расходоваться как в первичных процессах фотосинтеза (т.н. динамическая часть модели), так и в метаболических реакциях (стехиометрическая часть модели).

Разработан формальный алгоритм для объединения динамического и стехиометрического уровней модели и определены правила, по которым сигнал из динамической части передается в стационарную часть модели в выбранные интервалы времени. Изменение NAD(P)H используется как выходной сигнал из фотосинтетической части модели и как входной сигнал в метаболической части. В результате, на выбранных интервалах времени реализуются различные распределения метаболических потоков, отражающие изменения в работе фотосинтетического аппарата.

Иерархическая модель была применена для описания перестроения метаболизма клеток микроводорослей при возникновении нехватки элементов минерального питания. В качестве источника информации об активности первичных процессов фотосинтеза использовались результаты измерения кривых индукции флуоресценции хлорофилла *a*. Модель позволила описать экспериментально наблюдаемое скачкообразное снижение фотосинтетической активности и переключение метаболизма крахмала с синтеза на разложение в клетках водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* при серном голодании. Модель также позволила получить картину изменения метаболических потоков в клетках *Chlorella vulgaris* в ответ на развитие условий азотного голодания при истощении среды в процессе выращивания культуры. Иерархическая модель, таким образом, позволяет исследовать взаимосвязь реакций различных клеточных систем на стрессовые воздействия.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-04-00326-а.*

## **БИОИНФОРМАЦИОННЫЙ ПОИСК МИ-РНК РЕГУЛЯТОРОВ ГЕНОВ – СУПРЕССОРОВ ОПУХОЛЕЙ**

**Покудина И.О., Пушкин А.А.**

Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону

МиРНК являются важными регуляторами экспрессии мРНК. Установлено, что они способны к регуляции мРНК, связываясь с ней не полностью, при этом величина коэффициента связывания миРНК с мРНК прямопропорциональна ее регуляторной способности.

Биоинформационный поиск с использованием программного обеспечения и баз данных позволяет точно определить, какими миРНК регулируется ген и их степень связывания, что обеспечивает точную подготовку к последующим экспериментам.

Нами были исследованы гены – онкосупрессоры: EGFR, KRAS, BRAF, MAPK1, BCL2, CASP3, TP53, MDM2. Оценка количества сайтов связывания с коэффициентом связывания выше 95 и определение миРНК, регулирующих экспрессию нескольких генов, проводилась при помощи базы данных «MirTarBase» и в базе данных «miRBase с помощью программного обеспечения «mscanner».

В результате обработки данных «MiTarBase», показано, что 20 миРНК с коэффициентом связывания выше 95 являются регуляторами не менее 2-3 генов из исследуемой группы : hsa-miR-145-5p, hsa-miR-128-3p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-30a-5p, hsa-miR-15b-3p, hsa-let7-5a, hsa-miR-15a-5p, hsa-miR-16-5p, hsa-miR-34a-5p, hsa-miR-375, hsa-miR-7-5p, hsa-miR-143-3p, hsa-miR-125b-3p, hsa-miR-296-5p, hsa-miR-25-3p, hsa-miR-30d-5p, hsa-miR-605-5p, hsa-miR-504-5p, hsa-miR-26b.

По данным, полученным в результате обработки данных базы «miRBase», выявлено 9 миРНК, регулирующих от 2 до 9 генов: hsa-mir-619, hsa-mir-5096, hsa-mir-1273g, hsa-mir-1273e, hsa-mir-5585, hsa-mir-5095, hsa-mir-1273h, hsa-mir-1972-2, hsa-mir-1285-1.

*Гранты Минобразования России № 1878 и ЦКП «Высокие технологии» № RFMEFI59414X0002.*



**ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ МИЦЕЛИЯ ПРИ МИНИМАЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ВНЕШНИХ ФАКТОРОВ****Mycelium luminescence under minimal effect of environmental factors****Пузырь А.П., Медведева С.Е.**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биофизики СО РАН, 660036, Красноярск, Академгородок, д.50, стр. 50  
e-mail: apuzyr@mail.ru

Вопрос о существовании биоритмов люминесценции светящихся базидиомицетов остается не ясным. Одни авторы наблюдают суточные ритмы люминесценции мицелиальных культур грибов [1-4], другие не находят достаточных доказательств для подтверждения этого [5,6]. Нами проведен ряд экспериментов с целью регистрации люминесцентного сигнала в процессе роста мицелия *Armillaria* sp. и *Neonothopanus nambi* в условиях минимального воздействия внешних факторов (температура, свет, вибрация). Для этого люминометр был помещен в темную комнату, расположенную в подвале ИБФ СО РАН, с ограничением доступа в нее. Программное обеспечение позволяло в течение 2 суток с интервалом в 1 минуту непрерывно регистрировать люминесценцию. Было выяснено, что после помещения в прибор чашки Петри с культурой светящегося мицелия, как правило, наблюдается увеличение люминесценции, которая через некоторое время плавно выходит на некий уровень. Этот уровень в дальнейшем может равномерно без суточных и часовых колебаний повышаться (если происходит рост культуры) или понижаться (если заканчиваются питательные ресурсы). Плавное изменение люминесценции может быть нарушено в случае: 1) открывания крышки камеры люминометра – охлаждение за счет разности температур в комнате и камере люминометра (1,5-2°C); 2) извлечения образца из прибора для нагрева или охлаждения – изменение температуры; 3) извлечения образца из прибора и открывание крышки чашки Петри – изменение температуры, влажности, газового состава; 4) извлечения образца из прибора и открывание крышки чашки Петри, нанесение механической травмы – изменение температуры, влажности, газового состава, повреждение мицелия. Изменение уровня люминесценции после выше указанных действий наблюдается уже через 1 минуту. Возвращение люминесценции к первоначальному уровню занимает в зависимости от изучаемого воздействия от нескольких часов до нескольких суток. Не обнаружена реакция люминесценции мицелия на свет. Реакция соответствует ответу, получаемому при открывании крышки камеры люминометра в темноте без извлечения чашки Петри – т.е. объясняется изменением температуры.

Таким образом, при регистрации люминесценции возможно наложение нескольких факторов, что при быстрой реакции на воздействие и медленным возвратом в первоначальное состояние может быть интерпретировано как биоритмы. Следовательно, при изучении биоритмов необходима регистрация люминесценции в специальном помещении с минимальным изменением температуры и на специализированном приборе, в котором камера образца отделена от электронной части, что исключит нагрев образца в приборе.

1. Berliner M.D. / Science, 1961, VOL. 134. P.740.
2. Calleja G.B. and Reynolds G.T. / Trans. Br. Mycol. Soc. 1970. V.55(1). Pp.149-168.
3. Камзолкина О.В. Беккер З.Э., Егоров Н.С. / Биол. науки 1984. Т.1. С.73-77.
4. Oliveira A.G., Stevani C.V., Waldenmaier H.E. et al. / Curr Biol. 2015. V.25(7). Pp.964-968.
5. Mihail J.D., Bruhn J.N. / Mycologia. 2007. V. 99(3). Pp.341-350.
6. Mihail J.D. / Fungal biology. 2015. V.119. Pp.528-537.

## МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ КАЛЬЦИЕВОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ В ТРОМБОЦИТЕ ПРИ АКТИВАЦИИ ЧЕРЕЗ PAR1 И PAR4 РЕЦЕПТОРЫ

### Mathematical model of platelet calcium signaling after activation through PAR1 and PAR4 receptors

***Сवेशникова А.Н.1,2, Демьянова А.В.2, Пантелеев М.А.1,2.***

1 – Физический факультет МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 2

2 – ФНКЦ Детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева, 117198, Москва, Саморы Машела, 1

*e-mail: sveshnn@yandex.ru*

Тромбоциты, безъядерные клетки, участвующие в свертывании крови, в норме активируются при повреждении сосуда. Активация тромбоцита сильными агонистами (тромбин, коллаген) приводит к агрегации клеток и выставлению фосфатидилсерина на поверхности субпопуляции тромбоцитов (т.н. сверхактивированные тромбоциты). Мембраны сверхактивированных тромбоцитов на порядки ускоряют реакции свертывания плазмы крови. На тромбоците существует несколько рецепторов к тромбину, два из которых – PAR1 и PAR4 – являются связанными с Gq-белками, и запускаемые ими сигнальные пути полностью совпадают. Целью настоящей работы является исследование роли сигналов от PAR1 и PAR4 с помощью математической модели активации тромбоцита тромбином с валидацией модели на экспериментальных данных. Построенная математическая модель состоит из 42 обыкновенных дифференциальных уравнений, описывающих распространение активационного сигнала от плазматической мембраны тромбоцита в цитозоль, эндоплазматический ретикулум и митохондрии. Интегрирование модели проводилось в стохастическом приближении методом  $\tau$ -leap. Для валидации модели были поставлены эксперименты по измерению динамики концентрации кальция и разделению на субпопуляции тромбоцитов (отмытые гель-фильтрованные клетки загружались краской Fura Red, метились флуоресцентно меченным аннексином V, активировались тромбином или SFLLRN (агонист PAR1) и анализировались на проточном цитометре в непрерывном режиме). В нашей предыдущей работе [1] было предсказано, что при активации тромбоцита только через PAR1 рецептор в цитозоле наблюдаются осцилляции концентрации кальция в течение 40-60 с, приводящие к повышению концентрации кальция в матриксе митохондрий и открытию митохондриальных пор в субпопуляции тромбоцитов. В настоящей работе мы показали, что доля тромбоцитов с открытой митохондриальной порой, предсказанная моделью, совпадает с долей сверхактивированных тромбоцитов, наблюдаемой в эксперименте при той же концентрации активатора. При активации тромбином через PAR1 и PAR4 рецепторы в цитозоле тромбоцита наблюдаются незатухающие осцилляции в течение десятков минут, однако при этом средняя концентрация кальция в популяции тромбоцитов снижается, как в модели, так и в эксперименте. Для активации тромбином доля сверхактивированных тромбоцитов, предсказанная моделью, также совпадает с экспериментальными данными. При теоретическом исследовании показано, что сигнал от PAR1 рецептора является определяющим для образования субпопуляций, в то время как сигнал от PAR4 рецептора в основном влияет на динамику ответа. Аналогичное влияние эти рецепторы имеют и на концентрацию кальция и инозитолтрифосфата в цитозоле. Таким образом, в результате работы показано, что несмотря на совпадение сигнальных путей от PAR1 и PAR4 рецепторов в тромбоците, их роли в активации различны, и только совместное действие этих рецепторов позволяет тромбоциту быстро активироваться и находиться в активированном состоянии достаточно долгое время.

**КИНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ОБРАЗОВАНИЯ БЕЛОК-БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ ПЛАСТОЦИАНИНА И ЦИТОХРОМА f И ИХ СВЯЗЬ С ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКИМИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯМИ МЕЖДУ БЕЛКАМИ****Kinetics of plastocyanin-cytochrome f complex formation and their electrostatic interaction*****Федоров В. А., Хрущев С. С., Коваленко И. Б.***

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический ф-т, кафедра биофизики, Россия, 119991, Москва, Ленинские горы 1, стр. 12  
+7(495)9390289, xbgth@yandex.ru

Молекулярное моделирование событий, происходящих в процессе функционирования живых систем, позволяет глубже понять физические основы процессов жизнедеятельности. В процессе взаимного сближения и взаимной ориентации молекул важную роль играют геометрия поверхности белков и их электростатические взаимодействия. Для оценки влияния электростатических взаимодействий между белками в процессе их сближения на пути образования комплекса были проанализированы траектории сближения белков и рассчитаны значения энергии электростатического взаимодействия между белками. Расстояние между атомами металлов, входящих в состав данной пары белков, было выбрано в качестве параметра, характеризующим скорость переноса электрона от цитохрома f к пластоцианину. В процессе диффузионного сближения двух молекул электростатические взаимодействия оказывают влияние на взаимную ориентацию молекул уже при расстоянии между активными центрами 60-70 Å, поскольку энергия электростатического взаимодействия между молекулами на этих расстояниях меньше нуля. В то же время, в вычислительном эксперименте показано, что скорость сближения активных центров при расстояниях от 70 до 35 Å обусловлена не столько их электростатическими взаимодействиями, сколько случайной диффузией молекул белков. При дальнейшем сближении активных центров электростатическое взаимодействие приводит к ускорению их сближения за счет нахождения белков в выгодной взаимной ориентации. Вычислительные эксперименты проводились с использованием суперкомпьютера Ломоносов в Суперкомпьютерном центре Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова [3].

*Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проекты 15-07-08927, 14-04-00302 и 15-04-08681.*

1. Хрущев С.С., Абатурова А.М., Дьяконова А.Н., Устинин Д.М., Зленко Д.В., Федоров В.А., Коваленко И.Б., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б. Моделирование белок-белковых взаимодействий с применением программного комплекса многочастичной броуновской динамики ProKSim // Компьютерные исследования и моделирование, 2013, т. 5, № 1, с. 47-64
2. Хрущев С.С., Абатурова А.М., Дьяконова А.Н., Федоров В.А., Устинин Д.М., Коваленко И.Б., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б. Моделирование взаимодействий белков фотосинтетической электрон-транспортной цепи фотосинтеза методом броуновской динамики // Биофизика, 2015, т. 60, № 2, с. 270-292.
3. Воеводин Вл.В., Жуматий С.А., Соболев С.И., Антонов А.С., Брызгалов П.А., Никитенко Д.А., Стефанов К.С., Воеводин Вад.В. Практика суперкомпьютера "Ломоносов" // Открытые системы. – Москва: Издательский дом "Открытые системы", N 7, 2012. С. 36-39.

## ДЕТЕРМИНИЗМ, СТОХАСТИКА И ХАОС-САМООРГАНИЗАЦИЯ В ОПИСАНИИ ГОМЕОСТАЗА

### Determinism, stochastics and chaos-selforganization in the description of homeostasis

***Филатова О.Е., Филатова Д.Ю., Майстренко Е.В., Русак С.Н.***

БУ ВО ХМАО-Югры «Сургутский государственный университет», Россия, 628400, Сургут, пр. Ленина, д. 1

Тел.: +7(3462)763150; E-mail: kafedra\_bin@mail.ru

Более 150 лет происходит изучение и развитие понятия гомеостаза, однако только в 21-м веке мы вплотную подошли к расшифровке этого понятия как состояния биосистемы и процесса. Показывается, что традиционные представления в рамках детерминизма (функциональный анализ) или стохастики (когда возникает вероятностная неопределенность или определенность) не могут описывать гомеостазис У.Б. Кеннона (сам этот физиолог это понимал) и его последователей. В рамках новой теории хаоса-самоорганизации показывается резкая граница между детерминизмом, стохастикой (и детерминированным хаосом) и системами третьего типа (СТТ), которые обладают 5-ю особыми свойствами (принципами самоорганизации) и которые можно описывать в рамках понятий квазиаттракторов. Показывается кинематика движения квазиаттракторов (КА) в фазовых пространствах состояний, вводится понятие скорости эволюции сложных биосистем – complexity, которое отлично от определения Пригожина – Гленсдорфа. Одновременно вводятся понятия неопределенностей 1-го и 2-го типа и аналог принципа Гейзенберга для complexity при их описании в фазовых пространствах состояний (ФПС). В теории хаоса и самоорганизации мы различаем два типа движений: движение  $x(t)$  в пределах КА (это стационарное состояние СТТ в ФПС, но оно является обычным движением в ДСП, к которому применимы все статистические методы расчета); движение КА в ФПС как эволюция СТТ. В последнем случае мы будем рассматривать движение КА в виде движения его центра и изменения объема  $V_G$ . В целом, доказано, что для сложных биосистем (СТТ – complexity) существуют другие понятия стационарных режимов, которые отличны от детерминизма (когда  $dx/dt=0$ ) и от стохастики (когда функции распределения  $f(x)$  сохраняются для разных выборок). В теории хаоса – самоорганизации – вектор состояния СТТ  $x(t)$  совершает непрерывное хаотическое движение, в пределах ограниченных объемов фазовых пространств, что и представляет гомеостаз СТТ. Иными словами, гомеостаз – это неизменность параметров КА, а не самих компонент вектора  $x(t)$ . Для сравнения двух состояний  $x(t)$  в моменты времени  $t_1$  и  $t_2$  предлагается рассчитывать параметры квазиаттракторов и если объемы КА или координаты их центров изменяются по определенным правилам (обозначены в работе), то мы говорим об эволюции гомеостаза. Эволюция гомеостаза может быть поступательной (с постоянной скоростью  $v$  или ускорением  $A$ ) или циклической, когда движение КА в ФПС происходит криволинейно. В медицине (при заболевании и выздоровлении) эволюция гомеостаза происходит обычно циклически (если только заболевание не принимает хронические формы). Параметры эволюции гомеостаза отдельного организма можно использовать в индивидуализированной медицине для оценки эффективности лечения. Эволюция гомеостаза (локально) может быть использована в физиологии труда и спорта, в геронтологии, психофизиологии, в экологии человека.

1. Еськов В.М. и др. // Вестн. МГУ. Сер. 3: Физика. Астрономия. 2014. № 5, 41-46.

2. Еськов В.М. и др. // Вестн. МГУ. Сер. 3: Физика. Астрономия. 2015. № 2. С. 1.

3. Еськов В.М. и др. // Вестник новых медицинских технологий. 2011. Т. 18. № 3. С. 331-332.

**МАТЕМАТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА КРИВЫХ ИНДУКЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА ДЛЯ РАННЕГО ОБНАРУЖЕНИЯ СТРЕССОВЫХ СОСТОЯНИЙ У РАСТЕНИЙ И МИКРОВОДОРОСЛЕЙ****Mathematical methods for early stress detection in higher plants and microalgae based on analysis of chlorophyll fluorescence transient**

***Хрущев С. С., Плюснина Т. Ю., Ризниченко Г. Ю., Рубин А. Б.***

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический ф-т, кафедра биофизики, Россия, 119991, Москва, Ленинские горы 1, стр. 12  
+7(495)9391402, [styx@biophys.msu.ru](mailto:styx@biophys.msu.ru)

Измерение кинетики нарастания (индукции) флуоресценции хлорофилла при освещении клеток микроводорослей и растений – широко применяемый метод определения эффективности первичных процессов фотосинтеза в экологическом мониторинге, агро- и биотехнологии. Зависимость интенсивности флуоресценции от времени носит сложный многофазный характер и содержит информацию о различных стадиях переноса электрона в электрон-транспортной цепи хлоропласта. Обычно при анализе экспериментальных данных по индукции флуоресценции на индукционной кривой визуально выделяют отдельные фазы и определяют их амплитуды и характерные времена, однако получаемые оценки не всегда достаточно точны, кроме того, этот способ непригоден для определения параметров неявно выраженных фаз.

Предлагаемый нами метод спектральной мультиэкспоненциальной аппроксимации кривой формализует процедуру определения числа фаз и их количественных характеристик, что позволяет выявить дополнительные фазы индукционной кривой, неразличимые при визуальном анализе. Появление дополнительных или исчезновение типичных фаз на индукционной кривой свидетельствует об изменении характера функционирования фотосинтетического аппарата в ответ на изменение внешних условий. Анализ индукционных кривых культур микроводорослей показал высокую чувствительность метода в выявлении раннего ответа клеток микроводорослей на стресс, вызванный серным [1] и азотным [2] голоданием. Метод спектральной мультиэкспоненциальной аппроксимации позволяет также модифицировать JIP-тест, разработанный Р. Штрассером [3] для определения энергетических параметров электронного транспорта, и избежать привязки фаз индукционной кривой к фиксированным моментам времени. Это дает возможность расширить диапазон применения JIP-теста для разных экспериментальных условий.

На основе предложенного метода нами создано специализированное программное обеспечение *ruPhotoSyn* [4], позволяющее проводить комплексный анализ кривых индукции флуоресценции. Программа написана на языке Python и может использоваться в операционных системах Windows и Linux. Модульная архитектура позволяет легко добавлять новые методы анализа данных.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-04-00326-а.*

1. Плюснина Т.Ю., Хрущев С.С., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б. / Биофизика, 2015, т. 60, № 3, с. 487–495.
2. Фролов А.Е., Хрущев С.С., Плюснина Т.Ю., Конюхов И.В., Погосян С.И., Ризниченко Г.Ю. / Экологические и биологические системы, г. Москва, МГУ, 23 июня 2015 г. (в печати).
3. Strasser R.J., Tsimilli-Michael M., Srivastava A. Chlorophyll a Fluorescence: A Signature of Photosynthesis / ed. Papageorgiou G.C., 2004, p. 321–362.
4. Хрущев С.С., Плюснина Т.Ю., Ризниченко Г.Ю. / Математическая биология и биоинформатика: V Международная конф., г. Пушино, 19-24 октября 2014 г. М: МАКС Пресс, с. 59–60.

## МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ АКТИВАЦИИ КОНТАКТНОГО ПУТИ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ НА ЦИРКУЛИРУЮЩИХ МИКРОВЕЗИКУЛАХ.

### Mathematical modeling of blood coagulation contact pathway activation by circulating microparticles

**Челушкин М.А.<sup>1</sup>, Свешникова А.Н.<sup>1,2</sup>**

1 – Физический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 2; 2 – ФНКЦ ДГОИ им. Д. Рогачева, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1  
e-mail: ma.chelushkin@physics.msu.ru

Процесс свертывания крови принято разделять на сосудисто-тромбоцитарное звено и плазменную систему свертывания. Плазменная система представляет собой сложную сеть биохимических реакций, в которой условно выделяются внешний и внутренний пути. Внешний путь запускается при повреждении стенок сосуда, внутренний – при контакте с чужеродной поверхностью. Во втором случае активируются белки контактного пути – фактор XII, калликреин (прекалликреин) и высокомолекулярный кининоген. Как показали недавние исследования [1], контактная активация свертывания крови запускается на поверхности циркулирующих в плазме микровезикул – частиц форменных элементов крови или клеток эндотелия, образованных в результате их активации или гибели.

Цель настоящей работы – построение математической модели активации контактного пути на циркулирующих микровезикулах, учитывающей взаимодействие факторов свертывания XI, XII, калликреина и высокомолекулярного кининогена с поверхностью микровезикулы.

Базовая модель представляет собой систему 14 обыкновенных дифференциальных уравнений, описывающих взаимодействие факторов друг с другом в плазме и на поверхности микровезикулы и обмен молекулами между этими средами. Для описания влияния белков плазмы крови, модель была расширена до 35 ОДУ. Интегрирование системы проводилось методом LSODA в среде COPASI ([www.copasi.org](http://www.copasi.org)) и комбинированным методом (IDA/CVODE) в среде VCell (<http://www.nrcam.uchc.edu/>).

Для описания активации контактного пути на отмытых микровезикулах [1], было сделано предположение о равном вкладе калликреина и активных факторов XI и XII в общую скорость расщепления субстрата. При таком предположении модель хорошо описывает экспериментальные данные [1] по общей амидолитической активности белков после активации контактного пути *in vitro* отмытыми микровезикулами в плазме, разбавленной в 50 раз, как с учетом плазменных ингибиторов в модели, так и без них. В частности в модели воспроизводится, наблюдаемый в эксперименте феномен быстрой остановки роста амидолитической активности. Причем в модели это происходит из-за того, что все сайты связывания на микровезикуле оказываются заняты.

Увеличение концентрации микровезикул и разбавление плазмы при моделировании (как с учетом плазменных ингибиторов, так и без) приводит к увеличению наблюдаемой концентрации активных белков контактного пути (после активации). Гиперкоагуляционное состояние при умеренном разбавлении плазмы наблюдалось и в экспериментах [2], причем эффект сильнее при контактной активации, чем при активации свертывания по внешнему пути. При разбавлении плазмы в модели наблюдается сильный эффект насыщения.

1. Lipets, E., Vlasova, O., et. al. / PLoS ONE, 2014. Vol. 9. e87692.

2. Синауридзе Е.И. / Диссертация на соискание уч. степ. доктора биол. наук, Москва, 2013.

**ОБ ИНТЕРПРЕТАЦИИ ЭМОЦИЙ В ИСКУССТВЕННОЙ КОГНИТИВНОЙ СИСТЕМЕ****On interpreting the emotions in the artificial cognitive system****Чернавская О.Д., Чернавский Д.С.**

Физический институт им П.Н.Лебедева 119991, Москва, Ленинский проспект, 53  
Тел. +7(499)1326296; e-mail: [olgadmitcher@gmail.com](mailto:olgadmitcher@gmail.com)

В рамках естественно-конструктивистского подхода к моделированию мышления (ЕКП, [1,2]) мы представляем следующую концепцию. Согласно выводам Динамической Теории Информации (ДТИ, [3]) когнитивная система должна быть разбита на две подсистемы, для генерации информации и рецепции ее извне. При этом в подсистеме генерации должен с необходимостью присутствовать случайный элемент («шум») для создания перемешивающего слоя  $Z(t)*\zeta(t)$ , где  $0 < \zeta(t) < 1$  – случайная функция,  $Z(t)$  – амплитуда шума. Наша интерпретация эмоциональных проявлений человека соответствует изменению амплитуды шума в искусственной системе. В первом приближении рост амплитуды шума соответствует состоянию тревоги, напряжения и т.п. («отрицательные» эмоции), а в состоянии релаксации и удовольствия амплитуда шума должна падать.

Поскольку известно, что эмоции человека зависят от уровня и состава нейромедиаторов в организме, мы предлагаем систему уравнений, связывающую амплитуду шума  $Z(t)$  с агрегатной переменной  $\mu(t)$ , соответствующей разности побуждающих и тормозящих нейромедиаторов. В рамках такой модели удастся качественно описать экспериментально наблюдаемые явления стресса и шока [4,5].

1. Чернавская О.Д., Чернавский Д.С., Карп В.П., Никитин А.П. О подходе к моделированию мышления с позиций динамической теории информации. Сб. По ред. Редько, М.: УРСС, 2014, С. 29–88
2. Chernavskaya O.D., Chernavskii D.S., Karp V.P., Nikitin A.P., Shchepetov D.S. 2013. An architecture of thinking system within the Dynamical Theory of Information. // *BICA Journal*. 6, 147-158.
3. Чернавский Д.С. Синергетика и информация: Динамическая теория информации. М.: УРСС, 2004. С. 287.
4. Парин С.Б. Алгоритмы обработки физиологических сигналов в экстремальных состояниях. Труды XV Международн. конф. ICNC, Ростов-на-Дону. 2009. Издательство ЮФУ, с. 224-227.
5. Parin S.B., Tsvetlov A.V., Yakhno V.G. Models of neurochemistry mechanism of stress and shock based on neuron-like network. // *Proc. of Int. S. "Topical Problems of Bionics"*, 2007. P. 245-246.

## РОЛЬ PAR1 СИГНАЛИЗАЦИИ И БЕЛКА TMEM16F В ОБРАЗОВАНИИ СУБПОПУЛЯЦИЙ ТРОМБОЦИТОВ

### Role of PAR1 signaling and TMEM16F protein in platelet subpopulation formation

Шахиджанов С.С.1, Шатурный В.И.1, Пантелеев М.А.1,2 Свешникова А.Н.1,2

1 – Физический факультет, МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы 1, стр. 2

2 – ФНКЦ Детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева, 117198, Москва, Саморы Машела

e-mail: shakhidzhanov.s@yandex.ru

Тромбоциты это безъядерные клетки, циркулирующие в кровотоке, которые активируются, слипаются и образуют тромб при повреждении сосуда. Активация тромбоцитов различными агонистами (АДФ, SFLLRN, коллаген и т.п.) приводит к их адгезии к стенкам сосуда и агрегации. Кроме обычной активации, существует явление сверхактивации тромбоцитов, когда часть популяции выставляет на внешней стороне мембраны фосфатидилсерин ( $PS^+$  субпопуляция) и приобретает свойство на порядки ускорять свертывание плазмы крови. Сверхактивация вызывается только сильными активаторами, такими как коллаген, тромбин, SFLLRN и другие. Несмотря на недостаточную изученность процесса образования  $PS^+$  субпопуляции тромбоцитов высказывались предположения, что белок TMEM16F играет решающую роль в этом процессе [1]. В недавней экспериментальной работе было показано, что белок TMEM16F обладает кальцийзависимой скрамблазной активностью [2, 3].

С целью изучения механизмов образования  $PS^+$  субпопуляции тромбоцитов, на основе наших предыдущих работ [4-6] нами была разработана мультикомпаратментная математическая модель кальциевой сигнализации, вызванной активацией рецептора PAR1 с помощью SFLLRN. Полный сигнальный каскад был разбит на 4 тесно связанных между собой сигнальных блока, правильная работа каждого из которых была подтверждена на основе литературных данных.

Полученная модель описывает активацию TMEM16F при стимуляции рецептора PAR1 с помощью SFLLRN и предсказывает образование  $PS^+$  субпопуляции тромбоцитов в зависимости от количества SFLLRN. Результаты модели согласуются с ранне полученными данными [4-7]. Модель предсказывает, что основным механизмом, приводящим к разделению субпопуляций является гетерогенность популяции тромбоцитов. Таким образом нами была разработана модель кальциевой сигнализации, описывающая разделение тромбоцитов на субпопуляции.

1. Yang H., Kim A. и др. / Cell, 2012. Т.151(1). С.111-122.
2. Yu K., Whitlock J.M. и др. / Elife, 2015. 4:e06901, doi: 10.7554/eLife.06901
3. Brunner J.D., Lim N.K. и др. / Nature, 2014. Т.516(7530) С.207-212.
4. Sveshnikova A.N., Ataulakhanov F.I. и др. / Mol Biosyst. Т.11(4) С.1052-1060.
5. В. И. Шатурный, С. С. Шахиджанов. Математическое моделирование сигнализации тромбоцитов через P2Y12 рецептор. Математика. Компьютер. Образование. Сб. трудов XXI, 2014.
6. С. С. Шахиджанов, В. И. Шатурный. Модель разделения субпопуляций тромбоцитов, активированных через рецептор PAR1. Математика. Компьютер. Образование. Сб. трудов XXI, 2014.
7. Suzuki J., Umeda M. и др. / Nature, 2010. Т.468(7325) С.834-838.



**ФОРМИРОВАНИЕ ПОРОГОВ И ДИНАМИКИ ОТВЕТА В ФЕРМЕНТАТИВНЫХ КАСКАДАХ: РОЛЬ НАСЫЩЕНИЯ, КООПЕРАТИВНОСТИ И ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ОБРАТНЫХ СВЯЗЕЙ****Response dynamics and activation thresholds in enzyme cascades: roles of cooperativity, saturations and positive feedbacks*****Шепелюк Т.О.1, Пантелеев М.А.2-4***

1 – Факультет фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, 119192, Москва, Ломоносовский пр-т., д. 31, корп. 5

2 – Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, 119991, Москва

3 – ФГБУ ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздрава России, 117997, Москва

4 – Физический факультет Московского государственного университета

Тел.: +7(915)376-26-77; e-mail: shepelyuktaisya@gmail.com

Ферментативный каскад представляет собой совокупность химических реакций, ферменты-участники которой последовательно активируют друг друга через протеолиз или (де)фосфорилирование. Биохимия многих ферментативных каскадов хорошо изучена, но единого мнения в вопросе базовых принципов их устройства не существует. Так, существуют противоречивые утверждения о влиянии положительных обратных связей (ПОС) на динамику ответа систем. В предыдущих работах были высказаны предположения о том, что наличие ПОС (активации вышестоящих ферментов нижестоящими) необходимо для формирования порога по активации [1], подразумевающего радикальное изменение ответа системы при стимуляции выше некоторого уровня. Однако, в других работах был получен порог, зависящий от констант реакций [2,3], или делалось заключение, что ПОС не формируют порога [4]. Целью данной работы было систематическое исследование взаимосвязи структуры простого каскада и его функционирования. Особое внимание было уделено вопросу существования порогов и динамике ответа систем при различных ПОС. Аналитически и численно (с помощью пакета MATLAB) была исследована модель одношагового каскада, в которой два фермента взаимно активируют друг друга и необратимо ингибируются. Проведено сравнение различных типов активации ферментов (линейной и нелинейной: с суммарным порядком реакции  $\leq 1$  (гиперболической) и  $>1$  (квадратичной, типа Хилла и др.)) и активирующего сигнала (стационарный «вток» или ненулевая начальная концентрация — «впрыск» — фермента). Каскады без или со слабой (ингибирование превышает активацию) ПОС представляют собой системы с нулевым (в случае «впрыска») или ненулевым (в случае «втока») стационарным состоянием и с невзрывной кинетикой, пропорциональной активирующему сигналу. Только нелинейная (порядок реакции  $>1$ ) активация ферментов приводит к взрывному ответу и нелинейной зависимости стационарного ответа от величины активации «втоком» (мягкий порог). Сильная ПОС приводит к потере описанного стационарного состояния — переключению «режима» (параметрический порог). Системы с линейной или нелинейной (порядок реакции  $\leq 1$ ) активацией ферментов имеют неустойчивое нулевое или устойчивое ненулевое стационарные состояния и с взрывной кинетикой уходят на бесконечность или в устойчивое стационарное состояние под действием любого активирующего сигнала. Системы с нелинейной (порядок реакции  $>1$ ) активацией ферментов бистабильны и в них существует гистерезис. Результаты анализа позволяют разрешить противоречия в представлениях о роли ПОС и типа активации ферментов в формировании порогов разных типов.

1. Семенов В.В., Ханин М.А. / Биофизика, 1990. Т. 35. С. 139-41
2. Beltrami E., Jesty J. / Applied Mathematics, 1995. Т. 92. С. 8744-8
3. Jesty J., Beltrami E., Willems G. / Biochemistry, 1993. Т. 32. С. 6266-74
4. Qu Z., Vondriska T. M. / Physical Biology, 2009. Т. 6. С. 016007

## АЛГЕБРАИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИНАМИКИ ПОПУЛЯЦИЙ

### Algebraic modeling of dynamics of populations

**Яковенко Г.Н.**

Московский физико-технический институт (государственный университет), 141700, Долгопрудный, Институтский пер, 9

Тел: (495) 576-57-33; факс: (495) 408-68-69; e-mail: yakovenkog@gmail.com

Обобщаются следующие математические модели изолированной популяции или взаимодействия популяций: Модель Мальтуса, биомасса увеличивается по экспоненте; Модель с обострением, биомасса за конечное время увеличивается до бесконечности; Логистическая модель Ферхюльста, при  $t \rightarrow \infty$  биомасса стремится к постоянной величине; Модель Лотки-Вольтерра взаимодействия типа «хищник-жертва». Предлагается несколько направлений, по которым обобщаются указанные модели. Во-первых, в модели учитывается неопределенность (робастность), которую свойственно вносить в окружающей среде во взаимодействие биологических субъектов: перепады температуры и давления, дуновения ветра, суточные и сезонные изменения, охота и рыболовство, экологические катаклизмы. Эта неопределенность учтена в уравнения модели не только постоянных параметров, но и достаточно произвольных функций времени (нестационарная робастность). Во-вторых, нелинейности, входящие в уравнения вводятся не только с целью учесть желаемое поведение популяций, но и с целью добиться дополнительных свойств. В частности, функциональная мощность непредсказуемого влияния окружающей среды, вызывает функциональную мощность преобразований пространства состояний. За счёт целенаправленного введения нелинейностей можно добиться того, что все возможные преобразования (при разных функциях) принадлежат конечно-параметрической группе. В-третьих, устраняется субъективизм, которого вносит в модель конкретный выбор переменных состояния, и следующие из этого выбора рассуждения о линейности-нелинейности. На основе алгебр и групп Ли строятся модели, инвариантные к выбору переменных состояния, т. е. модель не изменяется при любой, в том числе и нелинейной, неособенной замене переменных [1].

1. Яковенко Г.Н. Теоретико-групповой анализ динамики взаимодействующих популяций // Электр. журнал «Исследовано в России». — 88, 2003. С. 981–990. (<http://zhurnal.apere.larn.ru/articles/2003/088.pdf>)

**ГИДРОУДАРНО-КАВИТАЦИОННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ НА ВОДУ, ИЛИ КУДА ДЕВАЮТСЯ ПРОТОНЫ?****Hydraulic – cavitation impact on the water or what happens to the protons?****Яхно Т.А. 1, Уваров В.М. 2, Санин А.Г. 1, Казаков В.В. 1**

1 – Институт прикладной физики РАН, 603950, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46;

2 – ОАО «НИИ «Гермес» Федеральное космическое агентство, 456208, г. Златоуст Челябинской области, ул. Парковый проезд, 3

e-mail: yakhta13@gmail.com

В работе исследовано изменение некоторых физико-химических параметров питьевой воды после гидроударно-кавитационного воздействия (ГКВ) на нее с помощью оригинального устройства [1]. Установка представляла собой настольный аппарат, состоящий из роторно-статорного модуля, выполненного из нержавеющей стали, закрепленного на штативе и погружаемого в пластиковый сосуд емкостью 6 л. Обрабатываемый объем воды составлял 5 л. При включении в сеть (220 В) ротор начинал вращение с частотой 2750 об./мин. Вода, поступая в модуль через специальные окна, подвергалась ГКВ. При этом в сосуде создавалась вихревая воронка. В качестве материала в разных экспериментах использовали бутилированную минеральную питьевую «Воду Сарова» (минерализация < 0,5 г/дм<sup>3</sup>), водопроводную воду и 0,9% раствор NaCl. Солевой раствор готовили за сутки до эксперимента, хранили при комнатной температуре в закупоренной банке. Часть раствора использовали в качестве контроля, другую часть подвергали ГКВ. Время обработки пробы составляло 1 или 1,5 часа в разных экспериментах. Обработанную и необработанную (контроль) пробы помещали в одинаковые пластиковые бутылки с крышками и использовали для исследований в течение 1-3 дней. Всего было проведено 17 экспериментов.

Показано, что процедура обработки приводит к дегазации воды и водных солевых растворов, достоверному повышению pH (на 14%), снижению поверхностного натяжения (на 17%), повышению удельной электропроводности (на 5,7%), скорости ультразвука (на 0,3%) и снижению скорости кристаллизации соли из высыхающих капель солевых растворов (на 61%). Наблюдаемые изменения релаксируют со временем. Аналогичный профиль физико-химических изменений воды наблюдался и при других видах безреагентных воздействий на нее [2,3]. При этом показано [2], что модифицированная вода приобретает биологическую активность: увеличивает в 3-4 раза синтез фактора некроза опухолей иммунно-компетентными клетками как *in vivo*, так и *in vitro*, приводит к ингибированию обратной транскриптазы вируса иммунодефицита человека, а также к ускорению спонтанного гидролиза белков в растворах.

Высказано мнение, что однонаправленные изменения свойств воды при разных видах физического воздействия неспецифичны, и реализуются, прежде всего, через разрушение ее равновесной крупно-кластерной структуры, дегазации и перехода в метастабильное состояние. Рассматриваются разные версии снижения pH и поверхностного натяжения, в том числе, переход свободных протонов в гидроний-ионы, образование «бабстонов» [4] и возможное изменение равновесного соотношения спиновых изомеров H<sub>2</sub>O [5].

1. Уваров В.М. Свидетельство на полезную модель «Активатор» № 20257, 31.07.2002.
2. Гуляев Ю.В., Еремин С.М., и др. / Журнал радиоэлектроники 2005, 11, 1-8.
3. Научный журнал КубГАУ, 2012, 81(07), 1-13. <http://ej.kubagro.ru/2012/07/pdf/48.pdf>
4. Bunkin N.F., Suyazov N.V., et al. / J. Chem. Phys, 2009, 130, 134308.
5. Pershin S. M., Bunkin A. F., et al. / Laser Physics, 2009, 19(3), 410–413.

## **ДИНАМИКА МЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВЫСЫХАЮЩИХ КАПЕЛЬ ЖИДКИХ СРЕД В ОЦЕНКЕ ИХ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОГО СТАТУСА**

### **Dynamics of mechanical properties of drying droplets of liquid media in their physical – chemical status estimation**

***Яхно Т.А., Санин А.Г., Казаков В.В., Яхно В.Г.***

Институт прикладной физики РАН, 603950, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46

*e-mail: yakhta13@gmail.com*

Высыхание капли многокомпонентной жидкости, сидящей на твердой гидрофильной подложке, обычно сопровождается рядом согласованных сложных процессов, определяемых термином «самоорганизация» [1]. Испарение растворителя приводит к постепенному сгущению раствора, агрегации и седиментации его компонентов. Неравномерное распределение температуры по куполообразной поверхности капли [2] вызывает процессы тепломассопереноса и формирование в конечном итоге твердотельной центрально-симметричной фигуры с развитием механических напряжений и их последующей релаксацией [3]. В рамках данного исследования мы регистрировали динамику механических свойств образующегося твердотельного осадка с помощью акустической импедансометрии [4] и использовали данный параметр для количественного сравнения модельных [5,6] и природных жидкостей разного состава. Показано, что динамика механических свойств высыхающих капель чутко реагирует на изменение химического состава и дисперсности жидкостей. Важными параметрами при этом являются pH и ионная сила исходных растворов. Эти особенности динамических процессов делают метод пригодным для количественной экспресс-оценки соответствия испытываемых образцов своим эталонам, что является важной технологической задачей и актуальной социальной проблемой. Проведены успешные испытания информативности методологического подхода для оценки качества молока и молочной продукции, соков, жидкостей технического назначения и лекарственных средств [7]; медицинской экспресс-диагностики [8] и скрининга уровня эндогенной интоксикации у больных ожоговой болезнью по анализу сыворотки крови и мочи [9]. Получены убедительные данные о перспективности использования метода в ветеринарии для выявления лейкозо – и туберкулезоносительства у крупного рогатого скота [10]. Ведутся работы по подготовке первой пользовательской версии прибора для проведения независимых испытаний в профессиональных профильных лабораториях.

1. Яхно Т.А., Яхно В.Г. / ЖТФ, 2009, 79, 8, 133-141.
2. Яхно Т.А., Санина О.А., и др. / ЖТФ, 2012, 82, 7, 22-29.
3. Giorgiutti-Dauphiné F., Pauchard L. / Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects, 2015, 466, 203–209.
4. Яхно Т.А., Санин, А.Г., и др. / ЖТФ, 2009, 79,10, 22-29.
5. Яхно Т.А., Казаков В.В., и др. / ЖТФ, 2007, 77, 4, 123-127.
6. Яхно Т.А., Яхно В.Г., и др. / Нелинейный мир, 2007, 1-2, 47-54.
7. Ilyazov R., Khilko A., et al., / Scientific Israel- Technological Advantages, 2012, 14, 1, 106-141.
8. Yakhno T., Sanin A., et al., / IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine, 2005, 24, 2, 96-104.
9. Санина О.А., Яхно Т.А., Санин А.Г. / Клинико-лабораторный консилиум, 2011, 3, 38, 52-59.
10. Yakhno T.A., Sanin A.G., et al. / J. Biomedical Science and Engineering, 2015, 8, 1-23. <http://dx.doi.org/10.4236/jbise.2015.81001>

# **Экологическая биофизика**

## ФОТОСИНТЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ

### Photosynthetic activity of woody plants in the conditions of anthropogenic load

Алиева М.Ю., Магомедова М.Ю., Маммаев А.Т., Пиняскина Е.В.

ФГБУН Прикаспийский институт биологических ресурсов Дагестанского научного центра РАН, 367025, г. Махачкала, ул. Гаджиева, д. 45

Тел.:8-988-429-21-22; e-mail:misidunika@mail.ru

С нарастанием влияния антропогенных факторов происходят изменения в строении ассимиляционного аппарата растения на всех уровнях, отмечается тенденция к снижению фотосинтетической активности. Сильное сокращение рабочей фотосинтезирующей поверхности листа приводит к снижению темпов накопления сухого вещества, уменьшению создания и отложения органических веществ, нужных растению для роста и развития. От состояния фотосинтетического аппарата зависит не только продуктивность, но и возможность выживания растений в городе.

Изучены фотосинтетические характеристики световых и теневых листьев древесных растений г. Махачкала произрастающих на территориях с высокой степенью транспортной нагрузки. Исследовались Клен остролистный (*Acer platanoides* L.) и Ясень обыкновенный (*Fraxinus excelsior*) как часто используемые в городских посадках виды. Выбраны визуально неповрежденные деревья, находящиеся в одинаковых условиях освещенности и увлажнения. Для каждой из древесных пород изучались особи примерно одного возраста, для соблюдения идентичности метеорологических условий измерения проводились в утренние часы одного дня. Исследования проводились в период физиологической и вегетативной активности объектов. Измерение параметров флуоресценции проводилось на портативном хлорофилл-флуориметре MINI-PAM Heinz Walz. GmbH

В большинстве случаев у световых и теневых листьев имеются существенные морфологические различия и различия в механизме фотосинтеза. Световые листья, как правило, мельче и толще и имеют больший объем и больше хлорофилла на единицу поверхности, чем теневые листья. Световые листья имеют более высокую интенсивность фотосинтеза на единицу листовой поверхности и достигают светового насыщения при большей интенсивности света, чем теневые листья.

При сравнении квантового выхода фотосинтеза у теневых листьев *Клена остролистного* и *Ясеня обыкновенного* в парковой зоне и на проспекте отчетливо наблюдаем высокие величины этого показателя у опытных образцов, тогда как у контрольных он несколько ниже. У световых же листьев ясеня и клена, произрастающих вблизи проспекта отмечается достоверное снижение фотосинтетической активности в сравнении с контрольными световыми листьями (0,785 и 0,770 - 0,812 и 0,793 соответственно). Величина квантового выхода фотосинтеза световых листьев контрольной группы несколько выше, чем у теневых тогда как у опытных образцов теневые листья обладают более высокой фотосинтетической активностью. Необходимо учесть дополнительное воздействие повреждающих факторов влияющих на фотосинтетическую систему опытных образцов произрастающих у условиях повышенной транспортной нагрузки. Сочетанное воздействие интенсивной инсоляции и высокой транспортной нагрузки снижает уровень квантового выхода фотосинтеза исследуемых групп растений. По всем изучаемым флуоресцентным характеристикам *Acer platanoides* L. и *Fraxinus excelsior* демонстрируют относительную устойчивость к высокой инсоляции и загрязняющим факторам среды.

**ЯМР – СПЕКТРОСКОПИЯ И РЕЛАКСАЦИЯ ВОДЫ ОБРАЗЦОВ ЦВЕТОЧНОГО МЕДА ДИКИХ И ДОМАШНИХ ПЧЕЛ****NMR spectroscopy and water relaxation of the samples of the floral honey from wild and cultural bees**

***Т.А.Бабушкина, Т.П.Климова, А.А.Кудашов, В.В.Новиков, А.С.Перегудов.***

ФБГУ Институт элементоорганических соединений РАН им.А.Н.Несмеянова  
119991, Москва, ул. Вавилова, 28  
*tab@ineos.ac/ru*

Мед является сложной композицией сахаров (глюкоза и фруктоза) и других биологически активных веществ различной природы. Эти компоненты (белки, свободные аминокислоты, пигменты, витамины и др.), присутствующие в меде, придают ему своеобразные органолептические, питательные и медицинские свойства, чрезвычайно сильно зависящие от растений, с которых он собирается пчелами. Качество меда, его аутентичность изучается различными методами, в том числе, и ЯМР – спектроскопией (например, [1 – 3]). Так, было показано методом ЯМР  $^{13}\text{C}$ , что термически преобразованный мед можно идентифицировать по распределению аномеров глюкозы [1].

Нами были изучены образцы башкирского меда из заповедника «Шульган-Таш» диких (бортовой мед) и домашних пчел. Были измерены спектры ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$ , а также времена спин-решеточной и спин-спиновой протонной релаксации водных растворов меда. Минорные компоненты меда были исследованы методом TOCSY. Было показано, что спектры ЯМР  $^{13}\text{C}$  обоих сортов меда практически не отличаются друг от друга и соответствуют ненагретому меду. Однако спектры ЯМР  $^1\text{H}$  в области проявления минорных компонент (аминокислоты) были различны для бортового меда и меда из ульев. Так, в спектрах бортового меда интенсивность сигналов протонов пролина и ацетилхолина больше, чем в спектрах меда из ульев.

Время протонной спин-решеточной релаксации  $T_1$  воды растворов меда того же порядка, что и  $T_1$  объемной воды. Температурная зависимость ( $5 - 50^\circ\text{C}$ )  $T_1(T)$ , в отличие от обычной воды, подчинялась аррениевскому закону с одной константой  $\ln T_1 \sim E_a / RT$ . Значения  $E_a$  для воды растворов меда из ульев были больше (14.2kJ/mol), чем  $E_a$  для воды растворов бортового меда (12.1kJ/mol). Эти значения характерны для  $E_a$  дистиллированной воды в высокотемпературном диапазоне, где основной вклад в значения  $T_1$  дают вращательные движения «свободных» молекул воды.

Время протонной спин-спиновой релаксации  $T_2$  воды водных растворов меда были много короче (0.15 ÷ 0.50 с), чем для объемной воды (~ 1.5 с). Такое уменьшение значения  $T_2$  может быть обусловлено водой, которая взаимодействует с гидроксильными группами сахаров. Величины  $T_2$  меда диких пчел при нагреве образцов выше  $30^\circ\text{C}$  слабо изменялись в пределах ошибки эксперимента, что указывало на постоянство скорости обмена протонов между водой и гидроксильными протонами углеводов.

1. Иванова И.К., Корякина В.В., Шиц Е.Ю., Федорова А.И. /Химия растительного сырья 2011 № 4 С.153.
2. Ribero R., Marsico E.T., Cameiro C., Monteiro M., Conte C., Mano S., Jesus E. /LWT –J. Food Sci.Tech. 2014 V.55 P.90
3. Consonni R., Cagliani L./J.Agric.Food.Chem. /2008 V.56. P.6873

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ФЛУОРОМЕТРИИ В БИОМОНИТОРИНГЕ ВОДНОГО ОБЪЕКТА

### Using fluorometry method in biomonitoring of water object

*Беспалова С.В., Романчук С.М., Васильев А.В., Сергеева Е.С., Чуфицкий С. В.*

Донецкий национальный университет, 83001, Донецк, ул. Университетская, 24

*e-mail: donnu.rector@mail.ru*

Постоянное усиление техногенной нагрузки и проблема контроля качества воды делает необходимым проведение систематического мониторинга водного объекта. В мире (Израиль, Индия, Россия и др.) реализован целый ряд научных проектов по системному мониторингу водных объектов с применением в качестве биоиндикаторов водорослей. Одним из методов биомониторинга является метод флуориметрии, который обладает высокой чувствительностью к изменению содержания биоиндикаторов (фитопланктона), позволяет относительно быстро получать результаты измерений и не требует дополнительной обработки, позволяя при этом дифференцировать водоросли по их групповой принадлежности. Для оценки эффективности метода флуориметрии при биоиндикации водоемов техногенно - трансформированного Донбасса была исследована динамика концентрации хлорофилла ( $n_F$ ) в фитопланктоне в течение вегетационного периода. Для этой цели использовали флуорометр фитопланктона РНУТО-РАМ фирмы Walz (Германия), позволяющий оценивать как общую для фитопланктона величину  $n_F$ , так и значения концентраций для доминирующих в нем систематических групп водорослей. В качестве объекта исследований была выбрана р. Кальмиус, поскольку она является одной из наиболее техногенно нагруженных водных артерий Донбасса. Забор проб производился относительно двух первых от истока крупных предприятий – шахты им. А. Ф. Засядько и ЗАО «Донецксталь» – металлургический завод». В ходе работы рассматривались четыре мониторинговые точки (створа). Створ № 1 – на выходе Верхнекальмиусского водохранилища, которое образовано практически у истока реки и поблизости отсутствуют промышленные предприятия, поэтому можно считать, что экологическая обстановка в створе № 1 не значительно отличается от истинного истока. Створ № 2 – на слиянии р. Кальмиус с притоком, в который сливаются отработанные воды шахты им. А. Ф. Засядько. Створ № 3 – на выходе Нижнекальмиусского водохранилища и створ № 4 – ниже по течению от места слива стоков ЗАО «Донецксталь» – металлургический завод». Наибольшая концентрация хлорофилла отмечалась в створе № 3 – около  $54,64 \text{ мкг/дм}^3$ . Среднее для створа № 3 значение концентрации составляло  $32,79 \pm 7,88 \text{ мкг/дм}^3$ , тогда как для источника данный показатель был в 3 раза меньшим  $10,98 \pm 4,99 \text{ мкг/дм}^3$ . Сравнение результатов для створов № 1 и № 2, а также № 3 и № 4 показало, что концентрация хлорофилла значительно снижалась после попадания в водную среду поллютантов. Так,  $n_F$  уменьшалось почти в 2 раза после сбросов в р. Кальмиус отработанных вод шахты им. А. Ф. Засядько и почти в 1,6 раза после стоков ЗАО «Донецксталь». Следует отметить, что максимум  $n_F$ , который наблюдали в конце июля – начале августа, лежал в пределах периода «цветения» синезеленых водорослей. При этом в створах с повышенным техногенным эффектом (№ 2 и № 4, соответственно) пики  $n_F$  практически неразличимы на фоне общего колебания  $n_F$ .

Таким образом, флуориметрический метод позволяет в техногенно-трансформированных водоемах определять концентрацию хлорофилла фитопланктона ( $n_F$ ) и прогнозировать тенденции ее изменения; определять наличие экологически неблагоприятных факторов (в том числе поллютантов); прогнозировать гиперразвитие микроводорослей, т. е. выделять периоды «цветения».



**СРАВНЕНИЕ БИОИНДИКАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА НЕКОТОРЫХ БИОФИЗИЧЕСКИХ И ГИДРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ НА ПРИМЕРЕ РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА****A comparative analysis of biophysical and hydrobiological indicators of water bodies ecological state with rybinsk reservoir as a case study****Бобырев П.А.**

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова

Тел.: +74959395560, e-mail: pbobyrev11@gmail.com

В работе исследован биоиндикационный потенциал некоторых биофизических и гидробиологических показателей экологического состояния водных объектов. Для анализа были использованы данные по Рыбинскому водохранилищу 2010 и 2011 года. В роли факторов рассматривали физико-химические характеристики вод, включенные в программу наблюдений. В качестве биофизических индикаторов были использованы показатели быстрой флуоресценции проб с включенной и выключенной подсветкой. Также был измерен уровень флуоресценции фильтрата для расчета показателей флуоресценции непосредственно фитопланктона. Помимо показателей быстрой флуоресценции в качестве биоиндикаторов были использованы параметры OJIP-кривых флуоресценции фитопланктона, в частности, средние скорости изменения флуоресценции на отдельных фазах и на всей кривой. В качестве гидробиологических индикаторов были использованы численности и биомассы отделов фитопланктона и пробы в целом, показатели таксономической структуры сообщества (параметры ранговых распределений численностей для видов и отделов, индексы выравненности, индекс Шеннона и Симпсона), индекс сапробности и средний объем клеток в пробе. Анализ данных проводили методом локальных экологических норм (методом ЛЭН), позволяющим рассчитать величины границ нормы индикаторов (ГНИ) и границ нормы факторов (ГНФ) на основании объективных критериев. Проведен корреляционный анализ связей между различными индикаторами. Индикаторы с коэффициентами корреляции больше 0,80 по модулю считали сильно скоррелированными. Далее проведена кластеризация индикаторов, объединение которых не приведет к потере информативности матрицы корреляций. Для проверки гипотезы о принадлежности значений индикаторов за два года к единой генеральной совокупности был применен критерий Манна-Уитни, показавший, что различия двух лет достоверны для 17 из 56 индикаторов. Поэтому дальнейшее исследование проводили для трёх временных групп – 2010 год, 2011 год и оба года вместе. Эффективность испытанных индикаторов определяли на основании параметров, рассчитанных методом ЛЭН: числа факторов, существенно влияющих на индикатор, достаточности программы наблюдений для диагностики причин неблагополучия значений биоиндикатора и силы связи между индикатором и фактором. На большинство показателей флуоресценции действуют температура воды, прозрачность и ХПК. Также стоит отметить, что есть факторы, не регистрируемые показателями флуоресценции при заданной доверительной вероятности. Полученные связи были проанализированы с позиций их влияния на физиологию фотосинтетического аппарата. Полученные ГНФ были сопоставлены с ПДК. Было отмечено, что значения ПДК строже полученных в работе ГНФ в некоторых случаях на два порядка. Подобные результаты свидетельствуют как о высокой чувствительности биоиндикаторов, так и о том, что нормативы ПДК недооценивают влияние факторов, считая низкие их концентрации неопасными.

*Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ №14-04-00143*

## **ХАОТИЧЕСКИЕ КВАЗИАТТРАКТОРЫ СООБЩЕСТВ ЗООПЛАНКТОНА МАЛОГО ПРИТОКА РАВНИННОГО ВОДОХРАНИЛИЩА И ИХ ИЗМЕНЕНИЯ В АНОМАЛЬНО ЖАРКИЕ ГОДЫ**

**Chaotic quasi- attractors of the zooplankton community of small flow of flatland reservoir and their changes in the abnormally hot years**

***Болотов С.Э.1,3, Мухортова О.В.2, Козлова В.В.3, Крылов А.В.1***

1 – Институт биол. внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, 152742, Ярославская обл., п. Борок

2 – Институт экологии Волжского бассейна РАН, 445003, Тольятти, ул. Комзина, 10

3 – БУ ВО ХМАО-Югры «Сургутский гос. университет», г. Сургут, ул. Энергетиков, 22

e-mail: *alhimikhmu@yandex.ru*

Исследование хаотической динамики планктонных сообществ малых и средних притоков равнинных водохранилищ, а именно непредсказуемой вариабельности их жизненных показателей, может выступать эффективным вспомогательным инструментом диагностики экологических последствий влияния природных (погодно-климатическая изменчивость) и антропогенных (гидроэкологическая зональность речной системы, обусловленная выклиниванием подпора и его уровенным режимом) факторов, а также позволяет комплексно охарактеризовать поведение вектора состояния зоопланктоценозов и прогнозировать развитие патогенетических состояний, связанных с нарушениями в системе гомеостаза сообществ в изменяющихся условиях среды. Цель работы – анализ параметров хаотических квазиаттракторов сообществ зоопланктона устьевой области малого притока Рыбинского водохранилища и оценка реакции хаотической системы сообществ в условиях погодных аномалий жарких лет. Зоопланктон собирали планктоботометром 1–2 раза в месяц с мая по октябрь фонового 2009 и аномально жарких 2010-2011 гг. в зоне свободного течения реки Ильдь, зонах ее устьевой области (*Ia* – переходная притока с преобладанием (90%-я обеспеченность) речных вод, *Ib* – фронтальная, со значительными вертикальными градиентами и отчетливым расслоением минерализованных речных и опресненных водохранилищных вод, и *Iв* – переходная приемника с преобладанием водных масс водохранилища) и Волжском плёсе Рыбинского водохранилища. Сообщества зоопланктона характеризовали на основе комплекса 23-х экологически значимых параметров развития, рассчитанных в программе «*FW-Zooplankton*», реализующей также идентификацию параметров хаотических квазиаттракторов (КА), описывающих движение вектора состояния зоопланктоценозов в 23-х мерном фазовом пространстве синэкологических параметров.

Зоопланктон водной системы притока сложен весьма богатым (>250 видов) составом. Наибольшее видовое богатство и специфическая биоценотическая структура характерны для устьевой области притока и, особенно, ее фронтальной зоны. По сравнению с сообществами граничащих водных объектов устьевая область характеризуется наиболее высокими величинами удельного числа видов, численности, биомассы и продукции зоопланктона. Погодные термические аномалии приводят к нарушению фоновой структуры сходства видового состава зоопланктона зон устьевой области, снижению их фаунистической и биоценотической специфики. Максимальные значения параметров КА формируются в устьевой области притока, и особенно ее фронтальной зоне, зоопланктон которой отличается выраженной хаотичностью, и которую по совокупности признаков (повышенному видовому богатству и развитию краевого эффекта) мы определяем как экотон. Параметры аттракторов сообществ обусловлены особенностями режима гидроэкологических зон и межгодовой метеорологической изменчивостью, а в условиях аномалий жарких лет сигнализируют о нарушениях в системе гомеостаза зоопланктоценозов.

*Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (проект № 15-34-50235).*

**ОБЕСПЕЧЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОЙ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ИНСОЛЯЦИИ ФОТОБИОЛОГИЧЕСКОЙ АРХИТЕКТУРНОЙ ОБОЛОЧКИ****Providing the optimal insolation of a photobiological architecture shell for microalgae cultivation**

**Бузало Н.С., Ермаченко П.А., Перевязка Д.С.**

ЮРГПУ (НПИ) имени М.И. Платова, физико-математический факультет,  
кафедра прикладной математики

КубГУ, биологический факультет, кафедра генетики, микробиологии и биотехнологии  
+7 (988) 992-73-45, [neo-ecology@mail.ru](mailto:neo-ecology@mail.ru), [www.neo-ecology.net](http://www.neo-ecology.net)

Согласно опубликованным докладам «Всемирной программы оценки водных ресурсов» (UN-WWAP), более 1,2 млрд. людей живут в условиях постоянного дефицита пресной воды, и продолжающаяся урбанизация усугубляет ситуацию. Помимо угрозы здоровью, отсутствие надлежащей обработки биологических отходов влечёт за собой продовольственный кризис из-за безвозвратных потерь половины добываемого сейчас фосфора в результате эрозии почв (20%) и сброса сточных вод (30%) [1].

Для решения данной проблемы нами сделана попытка применения генеративного подхода к проектированию распределённой в городской среде системы фотобиологических очистных сооружений на базе светопроницаемых архитектурных оболочек с микроводорослями [2].

Используя упрощённые зависимости потребления биогенных элементов (*Active Sludge Model*), была предложена математическая модель, состоящая из блока минерализации с фосфатаккумулялирующими бактериями (ASM2) и блока фотобиореакторов (ASM-A). Результаты вычислительных экспериментов позволили сделать предположение о возможности стабильного роста микроводорослей в условиях неравномерного поступления сточных вод за счёт биогенных элементов, аккумулированных в биомассе активного ила [1, 2].

В данной модели помимо поступления бытовых стоков неавтономными параметрами также являлись уровень освещённости и температура, зависящие от плотности застройки. С целью получения этих данных была сформулирована математическая модель теплового баланса фотобиореакторов [2].

Впоследствии разработан метод поиска формы несущей конструкции сооружений с помощью генетического алгоритма оптимизации. В качестве целевого критерия использовалось произведение функций толерантности для микроводорослей по уровню освещённости и температуре, что можно интерпретировать как удельный прирост биомассы в сутки на квадратный метр архитектурной оболочки [3].

После оптимизации формы каркаса, предназначенного для крепления фотобиореакторов, стало возможным получать более объективные данные по инсоляции и нагреву среды с микроводорослями при культивировании в реальных городских условиях.

1. Buzalo N., Ermachenko P., Bulgakov A., T. Bock. / 32nd International Symposium on Automation and Robotics in Construction and Mining. Connected to the Future June 15-18, 2015, Oulu, Finland. 751-759.
2. Buzalo N., Ermachenko P., Bulgakov A., Zakharchenko N. / Proceedings of Creative Construction Conference 2015. June 21–24, 2015, Krakow, Poland. P. 22-27. <http://2015.creative-construction-conference.com/>
3. Buzalo N., Ermachenko P., Bulgakov A., Schach R. / ICSC15 - The CSCE International Construction Specialty Conference, June 8-10, 2015, Vancouver, British Columbia. P.443-449. <http://icsc15.engineering.ubc.ca/proceedings/>

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЗЕЛЕННЫХ ВОДОРОСЛЕЙ CHLORELLA И SCENEDESMUS ДЛЯ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД В ФОТОБИОРЕАКТОРЕ

### Using the green algae *Chlorella* and *Scenedesmus* for treatment of wastewater in the photobioreactor

**Воронова Е.Н., Щеголькова Н.М., Погосян С.И.**

Биологический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, РФ, 119234, г.Москва, Ленинские Горы 12  
факс. (495) 939-11-15; e-mail: pogosyan@biophys.msu.ru

Фотоавтотрофные микроорганизмы (микроводоросли) при культивировании на промышленных и канализационных сточных водах способны утилизировать из них химические загрязнители — биогенные элементы, органические вещества, тяжелые металлы. Для эффективного использования энергии света и поддержания выбранного сообщества водорослей применяются закрытые фотобиореакторы (ФБР) с интенсивным перемешиванием биомассы. Кольцевой ФБР является одним из наиболее эффективных с точки зрения фотофизических свойств для культивирования сообществ микроводорослей. Измерения параметров флуоресценции хлорофилла и спектров поглощения света суспензией позволяют на ранних стадиях выявить дефицит минерального питания или какие-либо другие причины снижения эффективности фотосинтеза клетками водорослей, а также контролировать скорость роста водорослей и корректировать условия освещения в ФБР в режиме реального времени.

В экспериментах была использована вода, полученная с городских очистных сооружений, прошедшая стадии биологической очистки и готовая к сбросу в природные водоемы (БОВ). В этой воде остается довольно высокая концентрация биогенных элементов — соединений азота и фосфора. Для утилизации биогенных элементов были использованы сообщества микроводорослей *Chlorella sp.* и *Scenedesmus quadricauda*.

Значительные накопления биомассы водорослей наблюдаются уже через 5 часов после начала культивирования водорослей с БОВ. Высокая эффективность фотосинтеза в течение всего времени культивирования свидетельствует о правильном подборе условий культивирования. Аммонийный, нитратный и нитритный азот практически полностью удаляются из БОВ в течение одних суток пребывания в ФБР с суспензиями *Chlorella sp* или *Scenedesmus*. Содержание общего азота в БОВ через сутки снижается почти в 40 раз. При дальнейшем культивировании содержание общего азота увеличивается за счет прироста водорослей, на что указывает и повышение количества взвешенного вещества. В процессе работы фототрофного звена очистки БОВ почти в 3 раза снижается содержание фосфатов. Видимо, дальнейшее снижение концентрации фосфатов не происходит в связи с лимитированием по азоту, который к этому времени практически полностью извлечен из среды.

**МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИНАМИКИ ЧИСЛЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИЙ ТАЕЖНЫХ КЛЕЩЕЙ (IXODES PERSULCATUS) С УЧЕТОМ ЧИСЛЕННОСТИ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ****Modeling population dynamics of the taiga tick (*Ixodes persulcatus*) taking into account the number of small mammals****Вшивкова О.А.<sup>1,2</sup> Неверова Г.П.<sup>3</sup>, Фрисман Е.Я.<sup>3</sup>**

1 – Красноярский научный центр СО РАН, 660036, Красноярск, ул. Академгородок, 50

2 – Сибирский федеральный университет, 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79/10

3 – Институт комплексного анализа региональных проблем ДВО РАН, Биробиджан, ул. Шолом-Алехейма, 4

Тел.: +7(391)243-14-48; факс: +7(391)249-53-78; e-mail: oavshivkova@mail.ru

Данное исследование посвящено одной из классических задач математической биологии (раздел биофизики): изучению закономерностей популяционной динамики конкретного биологического вида, а именно иксодовых клещей. Различные виды иксодовых клещей распространены практически повсеместно: в западной Европе, в Северной Америке, в России. В Сибири и на Дальнем востоке основную опасность представляют популяции таежного клеща (*Ixodes persulcatus*), особенности распространения которых активно исследуются в последнее время. Присутствие иксодовых клещей в экосистемах чрезвычайно опасно, так как они являются переносчиками природно-очаговых заболеваний животных и человека, таких как клещевой энцефалит и клещевой боррелиоз (болезнь Лайма). Успешное решение задач профилактики клещевого энцефалита и совершенствования эпидемиологического прогноза зависит от развития теоретических методов описания и анализа динамики численности популяций клеща.

В данной работе предлагается и исследуется модифицированная модель «ресурс-потребитель» направленная на описание динамики численности популяции клеща (потребитель) с учетом плотности мелких млекопитающих – прокормителей (ресурс). Мелкие млекопитающие оказывают существенное влияние на плотность популяции клеща, т.к. являются основными прокормителями клеща на начальных (преимагинальных) фазах развития. Блок «потребитель» представляет собой систему уравнений, описывающих динамику численности популяции клеща с учетом возрастной структуры. Блок «ресурс» также представляет собой систему уравнений, описывающих динамику численности популяции мышевидных грызунов с учетом особенностей их жизненного цикла и плотностно-зависимой регуляции. Проведено подробное аналитическое и численное исследование предлагаемой модели. Показано, что в системе могут наблюдаться сложные динамические режимы, обусловленные учетом возрастной структуры и особенностями взаимодействия видов. В частности, при одних и тех же значениях параметров модели могут сосуществовать разные динамические режимы. Вид достигаемого динамического режима определяется начальными условиями. На основе натурных данных о численности популяций таежного клеща (*Ixodes persulcatus*) и его прокормителей, обитающих на территории заповедника Столбы в Красноярском крае, проведена апробация модели.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 15-31-50285 мол\_нр

## **К ОЦЕНКЕ ТРОФИЧЕСКОЙ РОЛИ БАКТЕРИЙ В МОРСКИХ ЭКОСИСТЕМАХ**

### **To the estimate of trophic role of bacteria in marine ecosystems**

**А.П.Гордиенко**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт Морских биологических исследований им. А.О.Ковалевского РАН (ФГБУН ИМБИ РАН), 299011, Севастополь, пр. Нахимова, 2

Тел.: +7(978)023-31-42; e-mail: [apgard@gmail.com](mailto:apgard@gmail.com)

Трофическая функция бактериопланктона заключается в трансформации органического вещества в доступную для питания организмов форму. Интенсивность деструкционных процессов находится в прямой зависимости от количества колониальных бактерий, детрито-бактериальных ассоциаций и детрита. Исходя из этого, целью работы являлся количественный учет бактериальных клеток в агрегатах и детрито-бактериальных ассоциациях, который был выполнен при одновременном использовании прямого учета бактериопланктона и биолюминесцентного определения количества бактерий по содержанию АТФ.

При анализе и обсуждении материалов, были использованы результаты экспедиционных исследований, полученные автором в морях средиземноморского типа, в отличающихся по трофности районах. Дополнительно обрабатывали и анализировали архивные материалы по численности и морфологической структуре бактериопланктона открытых и прибрежных акваторий средиземноморского бассейна. Дифференцировку морфологических форм проводили одновременно с количественным учетом, применяя стандартную методику прямого микроскопирования.

Показано, что содержание бактериальных агрегатов, размеры, которых превышает 1,5мкм, в отличающихся по трофности водах варьировало в широких пределах: от 12,5% в олиготрофных водах, до 95,6% в продуктивных водах. При этом средние величины в продуктивных водах Тропической Атлантики были выше, чем в малопродуктивных водах. Среднее содержание агрегатов в Тирренском и Черном море (70,1%) было несколько выше, чем в малопродуктивных водах северо-восточного сектора Тропической Атлантики. Наиболее сильно бактериопланктон был агрегирован вблизи берегов.

Для многих тонких фильтратов бактериопланктон является более важным источником питания, чем фитопланктон. Для грубых фильтратов, которые потребляют только агрегированную часть бактериопланктона, бактериальная биомасса является важным резервом дополнительного питания. Особенно велика степень использования бактериальной продукции следующим трофическим уровнем в олиготрофных водах, где бактерии выступают как основные первопроизводители пищи для микрозоопланктона при активном включении в процесс трофодинамики растворенного органического вещества. Увеличение численности палочковидных форм (чаще всего в скоплениях на отдельных горизонтах) связано с появлением легкодоступного органического вещества за счет разложения клеток фитопланктона, зафиксированного на этих же горизонтах. Следует предположить, что основными факторами, вызывающими изменение соотношения морфологических групп бактерий в различных акваториях, в зависимости от глубины и т.п., являются трофические взаимоотношения и обеспеченность субстратом для развития тех или иных форм. Анализ имеющихся у нас материалов показал, что соотношение основных морфологических групп бактерий палочек и кокков является характеристикой функционального состояния бактериопланктона, зависящей от целого ряда факторов.

## МОДЕЛЬ ХИЩНИК — ЖЕРТВА С НИЖНЕЙ КРИТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТЬЮ ЖЕРТВЫ И КОНКУРЕНЦИЕЙ ХИЩНИКОВ ЗА ОТЛИЧНЫЙ ОТ ЖЕРТВ РЕСУРС

Model predator—prey with a lower critical prey density and competition for non-prey resource among predators

Губарев А.А.

Донецкий национальный университет, 83001, Донецк, ул. Университетская 24

E-mail: Gubarev\_A\_A\_@mail.ru

Обычно, в моделях отношения хищник — жертва, например, в модели учитывающей ограниченность ресурсов жертвы и конкуренцию хищников за отличный от жертв ресурс [1], с увеличением конкуренции хищников, плотность последних в стационарном состоянии не возрастает. В данной работе исследуется модификация изложенной в [1] модели с нижней критической плотностью жертвы и конкуренцией жертв путём введения конкуренции хищников за отличный от жертв ресурс. В этой модели в некоторой области параметров с увеличением конкуренции хищников в стационарном состоянии возрастает не только плотность жертв, но и плотность хищников.

Система дифференциальных уравнений, описывающая взаимодействующие популяции хищников и жертв, имеет вид

$$\dot{x} = ax(x-L)\left(1 - \frac{x}{K}\right) - bxy, \quad \dot{y} = -cy + dxy - ey^2 \quad (1)$$

где  $x$  и  $y$  — плотности жертв и хищников,  $a$  — коэффициент, характеризующий «мобильность» [2];  $K$  — емкость популяции;  $L$  — критический порог численности,  $c$  — естественная смертность хищника;  $e$  — коэффициент линейного увеличения смертности с ростом плотности популяции;  $b$  — удельная скорость потребления популяцией хищников популяции жертвы при единичной плотности обеих популяций;  $d/b$  — коэффициент переработки потреблённой хищником биомассы жертвы в собственную биомассу. После выполнения замены  $x = Ku$ ,  $t = \frac{\tau}{aK}$ ,  $y = \frac{a}{b} Kv$  система (1) принимает вид

$$\dot{u} = u(u-l)(1-u) - uv, \quad \dot{v} = -\varepsilon v(m-u + \delta v), \quad (2)$$

где  $\varepsilon = d/a$ ,  $l = L/K$ ,  $m = c/(dK)$ ,  $\delta = ea/(db)$ .

Параметр  $\delta$  — пропорционален коэффициенту линейной зависимости смертности хищников от плотности популяции и отвечает за интенсивность их конкуренции. В работе построены параметрические и фазовые портреты системы. В области устойчивости стационарных состояний найдена подобласть, в которой с увеличением параметра  $\delta$  (при фиксированных остальных параметрах) плотность хищников в стационарных состояниях возрастает ( $\Omega_+$ ). С увеличением значения параметра  $\delta$  область  $\Omega_+$  в пространстве параметров  $m$  и  $l$  убывает. Этот результат можно интерпретировать следующим образом. В динамике увеличение конкуренции хищников приводит к увеличению плотности жертв, что и вызывает возрастание плотности хищников в устойчивом стационарном состоянии.

1. Базыкин А.Д. Нелинейная динамика взаимодействующих популяций. — Москва-Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2003.

2. Апонин Ю. М., Апонина Е. А. / Компьютерные исследования и моделирование. 2009. Т. 1, № 1. С. 51–56.

## СЕЛЕН КАК ПРОТЕКТОР ОТ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

### Selenium as a protector from unfavorable physical and chemical factors of environment

*Гусейнов Т.М., Гусейнова С.Я., Яхъяева Ф.Р., Гулиева Р.Т.*

Институт физики НАНА, Баку, пр. Г. Джавида, 33

*thuseynov@physics.ab.az*

Изучение последствий воздействия таких распространенных неблагоприятных факторов окружающей среды, как ультрафиолетовое излучение, электрические поля высокой напряженности, а также химические загрязнители – нитратные соединения на ускорение окислительно-деструктивных процессов и их лимитирование в биообъектах является актуальной задачей. В регуляции этих процессов участвует антиокислительная (АО) система, важным компонентом которой является селен.

В модельных опытах в качестве объекта исследования были использованы эритроциты человека и животных, отличающихся по метаболизму селена.

Результаты опытов показали, что интенсивное УФ-облучение и воздействие больших доз электрического поля высокой напряженности (ЭПВН) на эритроциты приводит к ускоренному накоплению метгемоглобина (MetHb), превышая 50-70%, причем для случая УФ-облучения оно более заметно. Активность селеноэнзима глутатионпероксидазы (ГП) при экстремальных значениях УФ-облучения ( $>180-200$  кДж/м<sup>2</sup>) угнетается полностью, а при действии ЭПВН (100 кВ/м, 5 час. эксп.) уменьшается на  $\approx 40\%$  в сравнении с контролем. Также в обоих случаях происходит ускорение перекисного окисления липидов (ПОЛ) (накопление продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой). А экзогенно включенный селен в эритроцитах (путем предварительного обогащения животных (морская свинка, крыса) селенитом натрия ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) 0,5 мг на кг массы животного) в обоих случаях увеличивает их резистентность к окислению. Включенный в эритроциты животных селен может усиливать АО свойства и без дополнительного вклада ГП-механизма.

Также было изучено действие оксида азота (в качестве источника NO использованы нитропруссид натрия (доза 1,0 мМ) и нитрит натрия (доза 0,7 мМ)), инициирующего окислительную модификацию гемоглобина. Показано, что при часовой инкубации с нитропруссидом натрия накопление MetHb достигает 100% против контроля, уменьшение активности ГП в этом случае составляет  $\approx 20\%$ , в то время как накопление продуктов ПОЛ незначительно ( $<20\%$ ). А при часовой инкубации с нитритом натрия накопление MetHb значительно увеличивается ( $\approx 10$  раз) по сравнению со случаем с нитропруссидом натрия. Изменение активности ГП близко к контролю, а активация ПОЛ в этом случае не наблюдается. Последующее обогащение инкубационной среды селеном после предварительной инкубации с нитропруссидом натрия приводит к определенному замедлению накопления MetHb ( $\approx 50\%$ ) по отношению к варианту инкубирования эритроцитов только с нитропруссидом натрия. Для случая с нитритом натрия наблюдается незначительное уменьшение накопления MetHb (до 20%). Активность ГП, как и для нитропрussa натрия, так и для нитрита натрия, увеличивается всего на 10-15%. Замедление ПОЛ происходит также в обоих случаях по сравнению с контролем ( $\approx 30\%$  и  $\approx 20\%$ , соответственно).

Анализируя полученные данные можно утверждать, что селен принимает определенное участие в лимитировании окислительных процессов, индуцированных различными по своей природе неблагоприятными факторами окружающей среды.



## ЗАЩИТА ПОПУЛЯЦИИ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ОТ ТОКСИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НАНОМАТЕРИАЛАМИ НА ПРИМЕРЕ ШУНГИТА

### Protection of population microalgae toxic factors nanomaterials example shungit

**Даллакян Г.А**

119991, Кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ им. Ломоносова,

honaris@bk.ru

Шунгит- минерал, содержащий в основном углерод, кварц силикатные слюды, а также фуллереноподобные структуры от 0,0001 до 0,04 мас.%, и эффективно использующиеся в нанотехнологии. Целью настоящей работы является исследование функционального состояния фотосинтетического аппарата водорослей *Scenedesmus quadricauda* во время роста культуры, в среде с синглетным кислородом тяжелыми металлами и шунгитом, а также изучение действие шунгита, как инактиватора различных токсических соединений.

Объектом исследования была альгологически чистая культура *Scenedesmus quadricauda*. Ее выращивали при температуре 25°C и круглосуточном освещении 15 мкмоль квантов м<sup>-2</sup>.с<sup>-1</sup> в течение 30 дней. В среду культивирования добавляли бенгальский розовый в концентрациях 2,5 мг/л, шунгита 100г/л, бихромата калия 3мг/л, сульфата кадмия 1,5 мг/л. Функциональное состояние фотосинтетического аппарата определяли по параметрам флуоресценции хлорофилла. Численность клеток подсчитывали в камере Горяева, живые и мертвые клетки определяли люминесцентным микроскопом.

Показано, что стимулируется рост культуры *S. quadricauda* в присутствии шунгита по сравнению с ростом культуры в чистой среде. Рост культуры улучшается при комбинированном действии бихромата калия и шунгита, по сравнению с ее ростом в присутствии только бихромата калия. Аналогичная зависимость наблюдается, когда в среде вместо бихромата калия добавляем бенгальский розовый или сульфат кадмия. Однако, кинетика этих процессов отличается в зависимости от токсикантов. Количество живых клеток уменьшалось в течение опыта, и составляла от 30 до 4 % в зависимости от этих соединений среде. Количество пигментов в пробах с токсикантами во время роста культуры всегда меньше, чем в пробах без него. Для оценки защитного свойства шунгитаспециально было исследовано влияние высокой концентрации сульфата кадмия 1,5 мг/л (1500 раз выше ПДК) на развитие популяции. Даже при таких высоких концентрациях шунгит инактивирует действие токсиканта. Эффективность фотосинтеза была наиболее низкой в пробах с сульфатом кадмия. Кинетика индукции флуоресценции показала, подавление процесса фотосинтеза в присутствии токсикантов, и наоборот, значимых нарушений фотосинтеза не обнаружено в присутствии шунгита.

Различными методами было показано, что с помощью шунгита можно инактивировать токсическое действие соединений имеющие разные химические структуры. Необходимо также отметить, что каждый из токсикантов, отличается по механизму действия на клетку водорослей, однако, ответная реакция клетки, на действия токсиканта схожа. Обсуждается возможные механизмы защитного действия шунгит на чужеродные вещества, как сорбента, антиоксиданта, катализатора и др.

## **БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ И МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ФОРМИРОВАНИЯ ВЕРТИКАЛЬНОЙ СТРУКТУРЫ ЭКОСИСТЕМЫ ОЗЕРА ШИРА**

### **Formation of the vertical heterogeneity in the Lake Shira ecosystem: the biological mechanisms and mathematical model**

**Дегерменджи Н.Н.**

Красноярский государственный медицинский университет, 660022, Красноярск, ул. Парт. Железняк, 1

Тел.: +7(391)2431579; факс: +7(391)2433400; e-mail: nn1947@yandex.ru

Проблема выяснения ключевых механизмов, отвечающих за сосуществование микроорганизмов в водных экосистемах относится к числу основных в водной экологии как научно обоснованные способы поддержания биоразнообразия и управление видовым составом аквациенозов. Для гомогенных перемешиваемых водных сообществ, культивируемых в лабораторных условиях (в хеостате) теоретически и экспериментально доказано, что число стационарно сосуществующих популяций не превосходит числа плотностных контролирующих рост факторов (ПКРФ) среды [1]. Однако в реальных водных экосистемах, хотя и имеет место диффузия и адвекция, но явно присутствует пространственная неоднородность. В связи с этим возникает вопрос о степени переноса теории сосуществования видов, созданной для гомогенных системах, на пространственно гетерогенные водные ценозы. Проанализированы сезонные экспедиционные вертикальные распределения физико-химических и биологических компонентов экосистемы термически стратифицированного озера Шира за 1996-2014 годы. На основе: а) механизма взаимодействия планктонных популяций аэробных и анаэробных зон через круговорот углерода и серы; б) механизмов лимитирования первичной продукции (светом, фосфором) и ингибирования (светом) и в) экспериментальных кинетических характеристик планктонных популяций экосистемы оз. Шира создана блок-схема взаимодействий биологических компонентов в экосистеме озера. Создана математическая модель вертикальной структуры планктона озера, базирующаяся на блок-схеме экосистемы и учитывающая турбулентную диффузию вещества по вертикали. Показана роль каждого из механизмов: выедания, светового и биогенного лимитирования – в формировании вертикальных неоднородностей и особенно заглубленных максимумов биомассы цианобактерий. Достигнута адекватность теоретических кривых стратификации биолого-химических компонентов экспедиционным наблюдениям цианобактерий, бактерий серного цикла, кислорода, сероводорода. Расчеты показали, что для большей адекватности параметров сероводородной зоны необходимо введение потоков аллохтонной органики. Впервые теоретически по форме кривой распределения сероводорода дискриминирована связь между аллохтонным потоком органики и потоком сероводорода со дна как факторами управления сероводородной зоной. Установлен теоретический предел глубины подъема сероводородной зоны при аллохтонной нагрузке органикой. Математическая модель как инструмент исследования позволила строго проверить ряд биологических гипотез о ключевых механизмах вертикальной зональности и роли ПКРФ. Адекватность модели способствовала оценке значения внешних потоков органики и сероводорода как «рычагов» управления стратификацией популяций.

1. Degermendzhy A.G., Adamovich V.A., Pozdiaev V.N./ Int J of Cybernetics and Systems, 1998.V.20. P.501-541.

**МОДЕЛЬ УРБОЭКОСИСТЕМ КАК СОПРЯЖЕННЫХ АКТИВНЫХ СРЕД****Model of urboecosystems considered as conjugate active media**

***Дерюгина Н.Н., Левашова Н.Т., Мельникова А.А., Поспелов Н.А., Семина А.Е., Сидорова А.Э***

МГУ имени М.В.Ломоносова, физический факультет, кафедра биофизики, кафедра математики  
*derunat@gmail.com, natasha@npanalytica.ru, melnikova@physics.msu.ru, nik-pos@yandex.ru, syoanya@yandex.ru, sky314bone@mail.ru,*

Представления об активных средах использованы для построения модели пространственно-временной самоорганизации в природно-антропогенных экосистемах – урбоэкосистемах (УЭС) [1, 2]. Образующиеся в УЭС регулярные динамические структуры характеризуются устойчивыми или неустойчивыми режимами развития. УЭС – нелинейные динамические макро-структуры, характеризующиеся множественностью режимов самоорганизации, образующие иерархические системы из сопряженных природных и антропогенных подсистем, сложную систему положительных и отрицательных обратных связей между ними.

В основе модели лежит модифицированное авторами уравнение Фитцхью-Нагумо. В качестве функции интенсивности активатора рассмотрена интенсивность антропогенных процессов, а в качестве функции интенсивности ингибитора – природных процессов. Управляющие параметры рассматриваемой системы связаны с природными и антропогенными факторами, определяющими длину и форму автоволн. Скорости природных процессов много меньше скоростей антропогенных процессов. Порог возбуждения УЭС непосредственным образом связан с интерференцией флуктуаций в неравновесных открытых системах, а также с зависимостью критических параметров экосистемы от свойств и режимов функционирования экосистемы. Одним из таких параметров является параметр, определяемый численностью и плотностью населения – параметр активации. Высокие значения этого параметра нарушают динамическое сопряжение локальных трансформаторов энергии, вещества и информации, снижают «буферную емкость» природных подсистем и увеличивают нелинейность, а, следовательно, и неустойчивость системных процессов.

Расчеты показали, что при наличии нескольких пиков плотности населения в системе отмечается формирование автоволн как активатора, так и ингибитора. С течением времени распределение становится стационарным. При определенных значениях управляющих параметров в системе создаются условия, достаточные для формирования автоволн. В этом случае стационарное распределение функций активатора и ингибитора между пиками плотности населения близко к насыщению, а решение имеет четко выраженные внутренние переходные слои. Эти области можно интерпретировать как окраины «спальных районов» или граничные области между мегаполисами и городами-спутниками.

Развиваемый подход дает возможность адекватного описания антропогенных воздействий в возбудимой среде УЭС. Управление параметрами автоволновой среды посредством локальных воздействий активатора может быть существенным для слабозбудимых сред, в которых возможно существование пространственно локализованных импульсов. Внесение внешних локализованных воздействий способно влиять на макроскопическую картину автоволновой динамики самоорганизации УЭС.

1. Сидорова А.Э., Мухартова Ю.В., Яковенко Л.В. / ВМУ. Серия 3. Физика. Астрономия. 2014, № 5 – С.29-35
2. А.Э. Сидорова, Н.Т. Левашова, А.А. Мельникова, Л.В. Яковенко., // Биофизика, 2015, том 60, вып. 3, С. 574-582

## О ВЛИЯНИИ НИЗКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ДЕЙТЕРИЯ ВОДЫ НА ЖИВЫЕ СИСТЕМЫ

### About influence of deuterium depleted water on living systems

**Джимак С.С.1, Басов А.А.2, Барышев М.Г.1**

1 – Кубанский государственный университет, 350040, Краснодар, ул. Ставропольская, 149

2 – Кубанский государственный медицинский университет МЗ РФ, 350063, Краснодар, ул. Семидесятина, 4

Тел.: +7(861)219-95-05; факс: +7(861)219-95-19; e-mail: jimack@mail.ru

Проведен ряд исследований влияния воды с пониженным (40-100 ppm) относительно природного (150 ppm) содержанием дейтерия на различные живые системы, изучено влияние обедненной по дейтерию воды на организм различных поколений лабораторных крыс в физиологических условиях, в ходе которых установлено, что наиболее существенное и быстрое снижение равновесия D/H наблюдалось в плазме крови, на 36,2%, а также в лиофилизированных тканях почки (на 15,8%). Менее выраженное уменьшение дейтерия характерно для тканей печени (на 9,3%) и сердца (на 8,5%). Была зафиксирована стабилизация скорости реакций изотопного обмена в крови и тканях изученных органов крыс, начиная со второго поколения. Показано, что модификация только питьевого режима не позволяет существенно изменить содержание дейтерия в тканях метаболически активных органов в связи с параллельным поступлением дейтерия в составе пищевых веществ [1].

Исследовано влияние реакций изотопного обмена дейтерий–протий (D/H) на морфофункциональные показатели и состояние антиоксидантной системы крови у крыс в физиологических условиях и при экспериментальном хроническом эндотоксикозе гепаторенального генеза. Показано, что введение в питьевой рацион крыс обедненной по дейтерию воды сопровождается коррекцией метаболических процессов, повышением функциональной активности системы неспецифической защиты и увеличением прироста массы тела на 42-е сут в группе животных, прошедших в течение 14 сут этап предварительной адаптации с изменением соотношения D/H в организме [2].

Обнаружена зависимость влияния изотопного состава воды на концентрацию клеточной биомассы нефтеокисляющей актинобактерии *Rhodococcus erythropolis* ВКМ Ас-2017Д при культивировании на жидких питательных средах, в зависимости от условий постановки эксперимента, включающих последовательное использование разных питательных субстратов – сахарозы и гексадекана. Показано, что при инокуляции клетками *Rhodococcus erythropolis* ВКМ Ас-2017Д, выращенными на средах с сахарозой и содержаниями дейтерия в воде, на которой была приготовлена питательная среда 81 и 104 ppm, аналогичных по минеральному и изотопному составу сред с гексадеканом, наблюдается существенное увеличение выхода клеточной биомассы по сравнению с контрольным образцом, в котором использовали воду с концентрацией дейтерия, равной 151 ppm [3].

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ для поддержки молодых российских ученых МК-1568.2014.4, ГЗ Минобрнауки РФ № 1269.*

1. Джимак С.С., Барышев М.Г. и др. / Биофизика, 2014. Т.59. С.749-756.
2. Джимак С.С., Басов А.А. и др. / Известия РАН. Серия Биологическая, 2015. №5. С. 518-527.
3. Самков А.А., Джимак С.С. и др. / Биофизика, 2015. Т.60. С.136-142.

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БИОХИМИИ АРГ-Х ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ПРИ САМООРГАНИЗАЦИИ СУПРАСТРУКТУР ИНТЕРФАЗНОЙ ХРОМАТИНОВОЙ МАТРИЦЫ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ****Experimental analysis of biochemistry of Arg-X proteolytic system in self-organization suprastructures of interphase chromatin matrix of plants in the conditions of ecological adaptation*****Иванова Э.А., Вафина Г.Х., Иванов Р.С.***

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Уфимский институт биологии Российской академии наук 450054, г. Уфа, пр. октября, 69  
e-mail: [evilina@anrb.ru](mailto:evilina@anrb.ru)

В настоящее время вопросы биохимической адаптации живых систем переходят в разряд рассмотрения супрамолекулярной химии, то есть «химии запрограммированных несущих информацию молекул» [1]. Как известно, хроматиновая матрица это центр управления биологии развития, который представляет собой сложную биогетерополимерную структуру, с длинным и гибким полимером ДНК, где ядерная протеомика реализует генетические и эпигенетические подпрограммы развития. Удобной естественной моделью для анализа механизмов действия ядерной протеомики, а также «практического прогнозирования» некоторых особенностей молекулярно-генетической гетерополимерной реорганизации хроматина являются клеточные ядра растений. Топологический подход в теории прогнозирования биологии развития, включает в себя построение логико-математической схемы для фенотипических, эпигенетических и биохимических сетей специфичности [2]. В связи с тем, что протеом хроматиновой матрицы богат аминокислотой аргинином, хвостовая часть, которого выходит за пределы нуклеосомной организации, и тем самым подвержена активной реорганизационной модификации со стороны окружающей среды, то мы сфокусировали своё внимание на анализе возможного адаптационного процессинга в зонах аргинин – X (Арг-Х) ограниченного протеолиза.

Целью данного этапа работы был анализ локализации активности Арг-Х протеолиза в негистоновых и гистоновых блоках гетерополимерных супраструктур (нуклеоплазмы, хроматина, ядерного матрикса: C1\S фазы клеточного цикла), как возможных зон, откликающихся на адапционные конформационные перестройки тотального интерфазного хроматина при индукции ростового морфогенеза зрелых зародышей яровой и озимой пшениц. Работа проведена с использованием патентов, разработанных в лаборатории [3-5]. Показано, что сигнальный резонанс Арг-Х активности в условиях адаптации к холоду связан с ядерным матриксом, где происходит сборка и функционирование ферментативных комплексов репликации и транскрипции. Известно, что ядерный матрикс рассматривается как активная динамическая структура, которая участвует в формировании больших энзиматических и регуляторных комплексов, контролирующей топологию и функцию ДНК. Как известно, организм представляет собой интегрированные сети биохимических процессов находящихся в постоянной динамике и изменяющихся в результате воздействия внутренних и внешних условий. В этой связи надмолекулярные описания формообразовательных процессов ценны тем, что в них уже интегрированы взаимодействия многих макромолекул.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 14-04-31243.*

1. Лен Жан-Мари. Супрамолекулярная химия. 1998. Глава 7. С.103-110.
2. Том Р. Структурная устойчивость и морфогенез. 2002. Глава 8. С.120-123.
3. Иванова Э.А., Вафина Г.Х. / Патент № 2408602 от 10 января 2011.
4. Иванова Э.А., Вафина Г.Х. / Авторское свидетельство № 1701747 от 01 сентября 1991.
5. Иванова Э.А., Вафина Г.Х. / Авторское свидетельство № 1733471 от 15 января 1992.

## ОПТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАСТЕНИЙ И ИХ ИЗМЕНЕНИЕ ПОД ВЛИЯНИЕМ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВ

### Optical characteristics of plants and their change under the influence of abiotic stresses

**Канаш Е.В., Панова Г.Г., Осипов Ю.А., Русаков Д.В., Лekomцев П.В.**

ФГБНУ «Агрофизический научно-исследовательский институт, 195220, Санкт-Петербург, Гражданский пр. 14

Тел.: +7(812)535-56-76; факс: +7(812)534-19-00; e-mail: ykanash@yandex.ru

Качественные и количественные изменения биохимического состава и структуры листьев определяют оптические свойства, могут быть зарегистрированы с помощью контактных и дистанционных сенсоров и использованы для исследования механизмов стрессовой реакции, устойчивости и адаптации растений. Цель данной работы – исследование неспецифических изменений оптических характеристик листьев при окислительном стрессе, вызванном умеренной почвенной засухой, дефицитом основных элементов минерального питания (N, P, K) и выявление критериев для оценки потребности растений в поливе и удобрении. Спектры отражения листьев в диапазоне от 400 до 1100 нм с шагом 0.3 нм регистрировали *in situ* с помощью миниатюрной оптоволоконной спектрорадиометрической системы фирмы OceanOptics (США). Объект исследования – растения пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и ячменя (*Hordeum vulgare* L.), выращенные в светостановках. Оптические индексы, которые были применены для диагностики состояния растений, позволяют оценить емкость (интенсивность) фотосинтетической системы (*ChlRI* – индекс отражения хлорофилла) и эффективность превращения энергии света в фотохимических процессах фотосинтеза (*SIPi* – отношение суммы каротиноидов к сумме хлорофиллов, *PRI* – эффективность использования фотосинтетически активной радиации, *ARI* – содержание антоцианов, *R<sub>800</sub>* – критерий рассеяния света, зависящий от структуры листа) [1-2]. Для оценки водного статуса был использован индекс отражения воды [3]. Изменение оптических характеристик листьев растений в условиях дефицита питания или воды включает уменьшение концентрации хлорофилла, усиление тепловой диссипации, накопление каротиноидов, антоцианов и флавонолов и характеризует активность “downregulation” фотосистемы II. При сильном угнетении роста происходит резкое уменьшение концентрации хлорофилла, и соответственно индекса хлорофилла. Сигналом угнетения растений при неглубоком или мало выраженном стрессовом воздействии, а также на ранних этапах возникновения стресса, когда концентрация хлорофилла не меняется или меняется незначительно и видимые симптомы повреждения отсутствуют, служит увеличение *SIPi*, *PRI*, *ARI*, *R<sub>800</sub>*, сигнализирующее о снижении эффективности работы фотосинтетического аппарата и торможении роста. Аналогичные изменения происходят и под влиянием УФ-В радиации [1,3]. Полученные результаты свидетельствуют, что реакция на окислительный стресс, возникающий в ответ на облучение, дефицит воды или питания является неспецифической. Степень изменения значений индексов под влиянием абиотических стрессоров, тесно связанная с изменением нетто продуктивности, может служить мерой устойчивости растений. Определение индексов отражения, характеризующих активность фотосинтетического аппарата и физиологическое состояние растений, в полевых условиях показало, что они могут быть также применены и для дистанционной диагностики состояния фитоценозов [2].

1. Канаш Е.В., Осипов Ю.А. /Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале XXI века XII съезд Русского ботанического общества: материалы Всероссийской конференции: в 6 книгах. 2008. С. 59-62.
2. Kanash E.V., Osipov Yu.A./Precision Agriculture 2009 Papers presented at the 7 th European Conference on Precision Agriculture Wageningen. ed. by: E.J. van Henten, D. Goense and C. Lokhorst. 2009. С. 81-88.
3. Kanash E.V., Panova G.G., Blokhina S.Yu. / Acta Horticulture. 2013. V. 1009. P. 37-44.

**СИНХРОНИЗАЦИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КРОНЫ ЛИСТВЕННЫХ ДЕРЕВЬЕВ  
ФАКТОРАМИ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ****Synchronization in photosynthetic competence of deciduous trees crown by environmental factors*****Кашулин П.А., Калачёва Н.В.***

Полярно-альпийский ботанический сад-институт Кольского НЦ РАН, ул. Ферсмана 18-А, 184209, Апатиты, Россия

e-mail: falconet1@yandex.ru

Для оценки влияния изменений климата на устойчивость ресурсных лиственных деревьев и декоративных кустарников в Кольской субарктике проводили мониторинг сезонной активности их фотосинтетического аппарата (ФСА). Анализировали индикаторные особи деревьев разного возраста: *Salix caprea* L., *Populus tremula* L., *Betula pendula* Roth и окультуренных кустарников: *Lonicera edulis* Turcz. Ex Freyn., *L. tatarica* L., *Syringa josikaea* Jacq. fil.. Эффективность и текущее состояние ФСА оценивали, измеряя флуориметром РАМ-2100, «WALZ, Effetrich» ФРГ, импульсную амплитудно-модулированную флуоресценцию хлорофилла листовых пластинок в разных частях кроны *in situ*. В вечернее время измеряли минимальную  $F_0$ , максимальную –  $F_m'$  и переменную  $F_v$  флуоресценцию хлорофилла в естественных световых условиях с начала формирования листьев до листопада, а также ФАР, УФ радиацию, температуру и влажность. В многодневной динамике флуоресценции выявлены общие, специфичные видовые и возрастные особенности. У берёзы, осины, ивы выявлены полунедельные, около пяти суточные и около двухнедельные ритмы  $F_v$  и  $F_m$ , вероятно, связанные с ритмами ФАР и УФ радиации. В летние месяцы активность ФСА и реакция листьев на изменения среды зависели от их положения на дереве и условий освещения, формируя хаотичность усредненной динамики измеряемых величин. Осенью, по мере снижения суточных температур, согласованность динамики разных листьев росла, достигая максимума при экстремально низких температурах. Коэффициенты корреляции двух взаимно удаленных листьев сирени в июле, августе, сентябре и октябре составили: 0,8419; 0,7980, 0,8727 и 0,9924, соответственно, коэффициенты наклона графиков парной линейной регрессии стремились к единице. Синхронизацию физиологической активности ассимиляционных органов при критических температурах наблюдали и у других видов. Общей закономерностью динамики были рост регулярности ритмов в последние декады жизни листьев и синхронность ритмов флуоресценции. При умеренных температурах такой связи не наблюдали, каждый лист характеризовался своими уровнями фотохимической конверсии, регулируемых нефотохимических процессов и необратимых потерь поглощенной световой энергии. В экстремальных погодных условиях менялись не только перераспределение каналов утилизации энергии на уровне отдельных ассимиляционных органов, происходили интегральные изменения динамики фотосинтетических функций на уровне организма, рост цикличности работы ФСА листьев, синхронизация их физиолого-биохимических функций. Цикличность отдельных модулей способствует синхронизации физиологической активности кроны в целом, повышая устойчивость растительного организма.

## ВЛИЯНИЕ ЦИКЛИЧЕСКОГО ЗАМОРАЖИВАНИЯ И ОТТАИВАНИЯ НА МЕХАНИЧЕСКУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО *QUERCUS ROBUR L.*

Influence of cyclic freezing and thawing upon the mechanical stability of pedunculate oak *Quercus robur L.*

**Корниенко В.О.**

Донецкий национальный университет, биологический ф-т, 83050, г. Донецк, ул. Щорса, 46.

e-mail: dayterry@rambler.ru

Механическая устойчивость древесных растений является важным аспектом общей устойчивости насаждений и отдельно растущих деревьев. В промышленных городах степной зоны часто экстремальные для древесной растительности природные условия произрастания сочетаются со значительной техногенной нагрузкой. В результате повреждённые растения или их части могут обламываться под действием статических и динамических нагрузок, становятся опасными для здоровья и жизни горожан, а также приносят экономические убытки. Быстро изменяющиеся климатические условия, повышают вероятность обрушения деревьев в неспецифических местах произрастания, поэтому отдельного внимания заслуживает возможное экологическое и биологическое следствие температурного изменения механических свойств древесины. По К. Никласу наиболее значимыми геометрическими и механическими свойствами, определяющими механическую устойчивость древесного растения, являются – площадь сечения, момент сопротивления ( $I$ ), длина ствола и его диаметр, а также модуль упругости ( $E$ ), предел прочности и плотность древесины [1]. Поскольку  $E$  прямо отражается на жёсткости ствола и побегов, можно утверждать, что при переходе к отрицательным температурам устойчивость дерева к нагрузкам возрастает [2]. Интерес представляют также циклические переходы температуры от положительных значений к отрицательным и обратно [3]. С влажностью древесины связаны также показатели, которые определяют устойчивость целого дерева или его частей к статическим и динамическим механическим нагрузкам. Изменение модуля упругости в зависимости от влажности происходит нелинейно [4]. Большинство данных по механическим свойствам древесины, получено в исследованиях, проведенных на образцах, высушенных до 12–15% (строительная древесина). Вследствие этого полученные для технической древесины значения некорректно применять в расчётах устойчивости живого дерева. В работе было изучено изменение модуля упругости в зависимости от влажности ( $W=93–0\%$ ) и температуры ( $T=240–316$  K) древесины 3-х – 5-ти летних побегов дуба черешчатого. Снижение модуля упругости вследствие чередования процессов замораживания и оттаивания приводит к пропорциональному уменьшению механической устойчивости древесных растений умеренного климата. Величина изменения модуля упругости замороженного образца к оттаявшему варьировала от 10 до 18%. Риск облома или безвозвратной деформации ствола и побегов подвержены деревья с минимальным отношением диаметра к высоте ( $<0,01$ ). Наименьшее значение критической статической нагрузки при чередовании заморозки–оттаивания древесины зафиксировано для подростка *Quercus robur L.* в исследованных насаждениях – 180 грамм. Высота таких растений или же их отдельных побегов близка к критической, достигая которую дерево деформируется или обламывается под действием собственного веса.

1. Niklas K. J. Chicago: University of Chicago Press. 1992. 622 с.
2. Корниенко В.О., Нецветов М.В. Промышленная ботаника. 2013. Вып. 13. С. 180–186.
3. Szmurka M.B. Campan M., Laurenzi W. Pro Ligno. 2012. Vol 8 (1). P. 35–43.
4. Wegst U.G.K. American Journal of Botany. 2006. P. 1439–1448.



**ПОТРЕБЛЕНИЕ КИСЛОРОДА ИММОБИЛИЗОВАННЫМИ АЭРОБНЫМИ БАКТЕРИЯМИ РОДА RHODOCOCCUS, GLUCONOBACTER, COMAMONAS КАК ПОДХОД ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ЗАМЕЩЕННЫХ МОНОАРОМАТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ**

**The consumed oxygen speed by aerobic bacteria as an approach to the determination of some substituted monoaromatic compounds**

***Кувичкина Т.Н.1, Будина Д.В.2, Олькова А.С.2, Решетилов А.Н.1***

1-ФАНО ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, 142290 г. Пущино Московской области пр. Науки, 5

2-ФГБОУ ВПО Вятский государственный гуманитарный университет Институт естественных наук, 61000270 г. Киров (обл.), ул. Красноармейская, 26

*e-mail kuv@ibpm.pushchino.ru*

Взаимодействие некоторых ксенобиотиков (в частности, замещенных моноароматических соединений) с аэробными бактериями приводит к изменению их дыхательной активности, обусловленной, в том числе, окислением соединения оксидоредуктазами микроорганизма с потреблением молекулярного кислорода. Это свойство бактерий может быть использовано в аналитических целях. Целью работы являлось исследование влияния некоторых замещенных моноароматических соединений: фенола, 2,4-динитрофенола, натриевой соли бензол-1,2-дикарбоновой (орто-фталевой) кислоты и пара-толуолсульфоната на дыхательную активность соответствующих иммобилизованных бактерий рода *Rhodococcus*, *Gluconobacter*, *Comamonas*. Оценка содержания соединения, используя иммобилизованный микроорганизм, не является высокоспецифической, однако может быть применена для решения ряда аналитических задач. Бактерии выращивали на агаризованной среде или в колбах на качалке. Биомассу отделяли, промывали буфером. Биомассу ресуспендировали в буфере и иммобилизовали методом физической адсорбции или методом включения в гель. Биорецептор фиксировали на кислородном электроде, который служил преобразователем биохимического сигнала в электрический. Плазмидсодержащий бактериальный штамм 32-1, выделенный из почв Западно-Сибирского нефтегазового бассейна, при росте активно утилизировал фенол в качестве единственного источника углерода и энергии. Этот штамм использовали для регистрации активации дыхания, вызванной добавлением фенола. Предел определения фенола составлял 5 мкМ. В течение 30 часов регистрируемый сигнал оставался стабильным. 2,4-Динитрофенол вызывал активацию дыхания у иммобилизованных клеток штамма актинобактерий *Rhodococcus erythropolis* HL PM-I. Предел определения 2,4-динитрофенола составлял 25 мкМ. В течение 14 суток регистрируемый сигнал оставался стабильным. Добавление натриевой соли бензол-1,2-дикарбоновой (орто-фталевой) кислоты к иммобилизованным клеткам бактериального штамма *Gluconobacter oxydans* 9.4 вызывало изменение его дыхательной активности. Предел определения составлял 0,25 мМ. В течение 6 суток регистрируемый сигнал оставался стабильным. Пара-толуолсульфонат вызывал активацию дыхания у иммобилизованных клеток плазмидсодержащего бактериального штамма *Comamonas testosteroni* BS 1310 (pBS 1010), который был выделен из активного ила аэрируемых биологических очистных сооружений ПО «Новомосковскбытхим». Предел определения пара-толуолсульфоната составлял 5 мкМ. В течение 14 суток регистрируемый сигнал оставался стабильным. Основываясь на свойствах ферментных систем микроорганизмов, подобраны пары бактерии-вещество. Их взаимодействие может быть полезно как для изучения свойств микроорганизма, так и для оценки содержания изучаемых соединений в водной среде.

## **БИОФИЗИЧЕСКИЙ ПОДХОД В ИССЛЕДОВАНИИ СТЕПЕНИ ДЕГРАДАЦИИ ПОДВЕРЖЕННЫХ ЗАСОЛЕНИЮ ПОЧВ**

### **Biophysical approaches in studies of degradation affected by salt of the soil**

**Магомедова М. Х.-М., Маммаев А.Т., Алиева М.Ю., Пиняскина Е.В.**

ФГБНУ ПИБР ДНЦ РАН

Тел.: +7(989)487-17-43, e-mail: milan-rom@mail.ru

За последние 35-40 лет на севере Дагестана очень остро стоит вопрос аридизации, деградации земель, злободневной стала проблема засоления почв. Почвы сильно истощены. Потери гумуса в них составляют 25 – 30% и они не восполняются. Ветровой эрозии подвержено 60% пастбищных земель, более 50% почв в той или иной степени засолено. Необходимо проведение грамотного мониторинга земель на строго научных принципах, с учетом экологических последствий.

К настоящему времени еще нет исчерпывающего научного объяснения механизмов формирования и устойчивости почвенной структуры. Гумус - основной источник энергии в самых разнообразных почвенных процессах. Он является аккумулятором азота, в нем содержится 80-95% почвенного азота. Этот азот имеет особое значение в решении экологических и экономических задач.

Предложены биофизический метод измерения зависимости квантового выхода фотосинтеза растений от содержания гумуса и азота в почвах с различной степенью засоления. Проведен анализ почвы на засоленность, содержание гумуса и концентрацию азота в почвах с трех опытных площадок (бугристый солончак, лугово-болотная почва и типичный солончак), измерялись квантовый выход фотосинтеза и количество фотосинтетических пигментов растений Кермек Мейера (*Limonium Meyeri*).

Обнаружена прямая корреляция квантового выхода фотосинтеза с содержанием гумуса и концентрацией азота в почвах: чем выше содержание гумуса и азота в почве, тем выше показателя интенсивности квантового выхода фотосинтеза растений. Содержание Хл *a*, *b* и каратиноидов обратно коррелирует с содержанием гумуса и азота в почвах. Наименьшая концентрация гумуса и азота в почве стимулирует растения на увеличение содержания фотосинтетических пигментов, что позволяет растению уменьшить нагрузку на фотосинтетический аппарат, т.е. снизить интенсивность самого фотосинтеза на единицу пигмента. Прямой зависимости квантового выхода фотосинтеза и соотношения содержания пигментов в растениях, содержания гумуса и азота от засоленности почвы по плотному остатку нами не обнаружено.

Выявленная нами прямая корреляция интенсивности фотосинтеза и обратная корреляция содержания пигментов в растениях с содержанием гумуса и азота в почве, позволяет нам предложить биофизический метод измерения квантового выхода фотосинтеза, как метод обнаружения признаков деградации почвы на начальных этапах возникновения дисбаланса.

**ФИЗИОЛОГО - БИОФИЗИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ ИНТРОДУКЦИИ НЕКОТОРЫХ СОРТОВ ВИШНИ ПО ВЫСОТНЫМ ГРАДИЕНТАМ****Physiological - biophysical indicators at introduction of some varieties cherries on altitudinal gradients****Маммаев А. Т. 1, Пиняскина Е.В. 1, Алиева М.Ю. 1, Магомедова М.Х-М.**

ФГБУН ПИБР ДНЦ РАН, 367025. Махачкала, ул. М. Гаджиева, 45

тел.: 8(8722)67-58-81; e-mail: epoha09@mail.ru

Важной научной, экологической и хозяйственной проблемой является испытание и введение в практику зеленого строительства и садоводства новых видов, форм и сортов растений, с учетом высотных градиентов и антропогенных нагрузок. Этим задачам удовлетворяют проведенные нами исследования сравнительных особенностей физиолого- биофизических показателей при интродукции новых для Кавказского региона сортов вишни (*Cerasus vulgaris*, 10 сортов) на экспериментальных базах, размещенных на разных высотных климатических уровнях (от -20 до 2000 метров над уровнем моря). Представлял большой научный интерес сравнительное изучение прохождения фенофаз разными сортами вишни на разных высотных уровнях и их адаптационные возможности, отражаемые биометрическими показателями, в сопряженности с флуоресцентными характеристиками, отражающими фотосинтетическую активность (ФСА) хлорофиллсодержащих тканей растений.

Флуоресцентные показатели листьев регистрировали на флуориметре лаборатории биофизики ПИБР ДНЦ РАН, а полевые исследования на портативном хлорофилл - флуориметре M1NI-PAM Yeinz Walz GmbH (Германия).

Нами установлено, что сроки начала фенологических фаз исследуемых сортов определяются различным отношением сортов к условиям внешней среды и в первую очередь к температуре, влажности воздуха и высотному уровню. Детерминируемые рельефом изменения общеклиматического фона местности производят очень существенные в жизни растений изменения их роста, развития, биологической продуктивности и физиологических свойств.

Наши исследования показали, что в условиях Дагестана у большинства испытываемых сортов вишни созревание плодов наступает в среднем спустя 45-70 дней после цветения. В Прикаспийской низменности срок созревания плодов наступает через 45-50 дней после цветения, а в условиях среднегорья через 45-60 дня, а в горном Дагестане этот показатель продлевается до 70 дней (сорт Апухтинская).

Исследования показали, что соотношение основных максимумов флуоресценции листьев растений (F 680 и F735 нм) коррелирует с состоянием ФСА и может явиться отличительным видовым признаком.

Отношение интенсивностей флуоресценции F785/ F735 в процессе вегетации вишни претерпевает сложные изменения. До периода созревания плодов это отношение не претерпевает существенных изменений. На всех высотных уровнях, с момента созревания плодов этот показатель резко возрастает. Указанная закономерность может быть связана с состоянием ФСА.

Проведенное исследование дает основание рекомендовать методы индукции флуоресценции хлорофиллсодержащих органов растений для оценки их адаптационных возможностей при интродукции.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК МИКРОВОДОРОСЛЕЙ МЕТОДОМ ИНДУКЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА А

### Investigation characteristics of algae by the method of chlorophyll *a* fluorescence induction

**Маторин Д.Н.1, Габбасова Д. Т.1, Братковская Л. Б.1, Алексеев А.А.2**

1 – Биологический факультет МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12

2 – Северо-Восточный федеральный университет им. М.К.Аммосова, г. Якутск

Тел.: +7(495)939-39-68; факс: +7(495)939-11-15; e-mail: matorin@biophys.msu.ru

Метод флуоресценции хлорофилла *a* используется для оценки обилия фитопланктона в различных океанологических работах [1]. На кафедре биофизики Биологического факультета МГУ разработана и сертифицирована «Методика измерений обилия и индикации изменения состояния фитопланктона в природных водах флуоресцентным методом» (ФР.1.39.2011.11246, ПНД Ф 14.2.268-2012) [2], а также разработан целый комплекс портативных приборов (сертифицированный флуориметр «МЕГА», погружной и проточный флуориметры) для регистрации характеристик фитопланктона [3].

Для оценки работы фотосинтетического аппарата водорослей перспективно использовать метод измерения индукционных кривых флуоресценции с высоким временным разрешением (от 10 мкс) [4]. Проведен анализ индукционных кривых быстрой и замедленной флуоресценции микроводорослей в присутствии солей хрома и метилртути. Показано, что эти вещества ингибируют электронный транспорт на донорной части ФСII и увеличивают долю Qв-невосстанавливающих центров. В результате этого наблюдается замедление скорости восстановления пигмента РЦ ФС1- P<sub>700</sub>. Регистрация индукционных кривых была апробирована на природном фитопланктоне в отделяемых водоемах Белого моря. Предлагается использовать параметры индукционных кривых быстрой и замедленной флуоресценции для раннего обнаружения появления токсических веществ в водной среде.

1. Matorin D.N. et al. / Oceanologia. 2004, V. 46, P. 519-531.
2. Маторин Д.Н., Осипов В.А., Рубин А.Б. / М.: Альтрек. 2012. 131 с.
3. Маторин Д.Н., Рубин А.Б. / М.–Ижевск: ИКИ-РХД. 2012, 256 с.
4. Antal T.K. et al. / Photosynthesis Research. 2009, V. 102, P. 67-76.

**ВИДОВАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ СЕЗОННОЙ ВАРИАбельНОСТИ ХАРАКТЕРИСТИК  
БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ГРЕБНЕВИКОВ ЧЁРНОГО МОРЯ****Specific difference of the bioluminescence characteristics season variability of the Black Sea  
stenophores**

***Машукова О.В., Токарев Ю.Н.***

ФГБУН "Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН", 299011,  
Севастополь, Пр. Нахимова, 2

Тел.: +7(978)704-30-86; факс: (8692)55-78-13; e-mail: y.tokarev@gmail.com

Известно, что основной вклад в формирование поля биолюминесценции в Чёрном море вносит микропланктон: бактерии и динофлагелляты [3]. Однако, сравнительно недавно вселившиеся сюда гребневики отряда LOBATA *Mnemiopsis leidyi* (A. Agassiz, 1865) и *Bolinopsis vitrea* (L. Agassiz, 1860), а также отряда BEROIDA *Beroe ovata* (Maier, 1912), оказавшие значительное влияние на его экосистему, также являются светящимися организмами. При этом интенсивность биолюминесценции ктенофор вселенцев в сотни тысяч раз превосходит свечение любого представителя микропланктона. Поэтому существенный интерес представляют исследования сезонной динамики параметров светоизлучения этой группы организмов, а также сравнение этих показателей с подобными характеристиками *Pleurobrachia pileus* (O.F. Muller, 1776) – единственного аборигенного гребневика Чёрного моря отряда CIDIPPIDA. Поскольку находки *Bolinopsis vitrea* носят не регулярный характер и не ясно, сумеет ли он натурализоваться в Черном море, эксперименты проводили исключительно с первыми двумя видами гребневикув-вселенцев и *Pleurobrachia pileus*.

Плевробрахия обитает в холодных водах, тогда как мнемипсис и берое предпочитают прогретые прибрежные воды. Определено влияние температурных условий на характеристики биолюминесценции гребневикув, во многом объясняющее их сезонную вариабельность. Используя механическую и химическую стимуляцию, изучили основные характеристики биолюминесценции животных (амплитуда, энергия, а также длительность светоизлучения) [2, 4]. Совокупность приведенных материалов позволила детально оценить особенности реакции обитающих в Черном море гребневикув на вертикальное распределение температуры и ее сезонные изменения в прогреваемом слое. Показано, что у мнемипсиса амплитуда биолюминесценции увеличивается с ростом температуры, тогда как у берое и плевробрахии она резко снижается при температуре выше 20°C. Выявленная видоспецифичность параметров светоизлучения гребневикув подтвердила возможность использования биолюминесценции для уточнения экологических особенностей видов и их сезонной дифференциации [1].

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ р\_юг\_а-14-45-01534.*

1. Заика В.Е., Токарев Ю.Н., Машукова О.В. Видовые различия гребневикув Черного моря в реакциях на изменение температуры // МЭЖ.-2014.- Т.13, №1. – С. 17-25.
2. Машукова О.В. Сезонная вариабельность биолюминесценции черноморского гребневика-вселенца *Beroe ovata* Mayer 1912 (Stenophora: Beroidea) // Наук. Зап. Терноп. Нац. Пед. Ун-ту. Сер. Биол. – 2010. – № 3 (44). – С. 156–159.
3. Токарев Ю.Н. Основы биофизической экологии гидробионтов. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2006. 342 с.
4. Токарев Ю.Н., Машукова О.В., Василенко В.И. Биолюминесценция черноморских гребневикув-вселенцев *Mnemiopsis leidyi* и *Beroe ovata* при механической и химической стимуляции // Экология моря. – 2008. – Вып. 76. – С. 61–66.

## ХАРАКТЕРНЫЕ СИГНАЛЫ ЭПР ПРИРОДНЫХ СИСТЕМ АПШЕРОНСКОГО ПОЛУОСТРОВА

### Characteristic EPR signals of natural systems of the Apsheron Peninsula

***Насибова А.Н.1, Халилов Р.И.1,2***

1 – Институт Радиационных Проблем НАН Азербайджана, г. Баку, ул. Б.Вахабзаде 9

2 – Бакинский Государственный Университет, г. Баку, ул. З.Халилова 23

Тел: (+99450)5102681; e-mail: aygun.nasibova@mail.ru

В некоторых природных системах Апшеронского полуострова (Азербайджан) нами изучены характерные сигналы Электронного Парамагнитного Резонанса, которые принадлежат предварительно магнитным наночастицам оксидов железа (магнетит  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  и маггемит  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ).

Проведенные исследования последних лет методом ЭПР показали, что магнитные наночастицы оксидов железа широко распространены в живой и неживой природе [1-4]. Для выяснения механизмов биогенной генерации магнитных наночастиц в природных системах мы изучали влияния радиации и других стресс факторов (УФ-радиация, температура и т.д.) на некоторые виды растения [1] и образцов нефти Апшеронского полуострова. Проведенные исследования и измерения показали, что при увеличении дозы радиации и других стресс факторов у растений амплитуда широких сигналов ЭПР ( $\Delta H \approx 400$  Гс,  $g = 2,29$ ), характерных магнитным наночастицам увеличивается. Такая закономерность наблюдалась во всех изучаемых нами видах растений [3]. Это дает основание прийти к такому выводу, что стресс фактор в определенных условиях стимулирует генерацию наночастиц в растениях.

Особый интерес представляет обнаружение методом ЭПР магнитных наночастиц в составе структурных элементов нефти Апшеронского полуострова. В некоторых образцах нефти из конкретных нефтяных месторождений Апшеронского полуострова мы наблюдали широкие сигналы ЭПР ( $\Delta H \approx 400$  Гс,  $g = 2,29$ ) характерные магнитным наночастицам. Присутствие магнитных наночастиц в нефти обуславливает возможность управления технологически важными свойствами нефти при помощи внешнего магнитного поля.

Сходство сигналов ЭПР показывает, что в этих природных системах происходят процессы биоминерализации и в конечном итоге при определенных условиях происходит формирование парамагнитных центров.

Авторы работы [4] в природных системах – в образцах коллоидных частиц нефти парафина тоже получили характерные сигналы ЭПР ( $\Delta H \approx 320$  Гс;  $g = 2,25$ ), которые типичны для суперпарамагнитных наночастиц оксидов железа.

Нами исследования в этом направлении интенсивно продолжаются.

1. R.I.Khalilov, A.N.Nasibova., V.A.Serezhenkov, M.A.Ramazanov, M.K. Kerimov, A.A.Garibov, and A.F. Vanin. / Biophysics, 2011, vol.56, N2, pp.316-322.
2. G.B.Khomutov, K.V.Potapenkov, Y.A.Koksharov, B.V.Trubitsin, A.N.Tikhonov, M.D.Mamedov, A.N.Nasibova, S.M.Ismailova, R.I.Khalilov. /XII International Conference on Nanostructured Materials (Nano-2014). 2014, Moscow, Russia.
3. А.Н.Насибова, Р.И.Халилов, Б.В.Трубицин, чл. корр. НАНА А.А.Гарибов, А.Н.Тихонов./ Доклады Академии Наук Азербайджана.2013, LXIX, №2, стр.31-39.
4. Лесин В.И., Кокшаров Ю.А., Хомутов Г.Б. / Транспорт и обработка нефти. 2009. С.95-97.

**ВЛИЯНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО ЛИМИТИРОВАНИЯ С ЗАПАЗДЫВАНИЕМ НА ДИНАМИКУ ЧИСЛЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИЙ****Dynamic regimes of population dynamic model with time lag*****Неверова Г.П., Фрисман Е.Я.***

Институт комплексного анализа региональных проблем ДВО РАН, 679016, г. Биробиджан, ул. Шолом-Алейхема, 4

Тел.: +7(42622) 61362; факс: +7(42622) 61362; e-mail: galina.nev@gmail.com

В начале 70-х годов, в основном благодаря базовым работам Р. Мэя и А.П. Шапиро математическая экология пополнилась достаточно простыми моделями, основанными на рекуррентных уравнениях. Оказалось, что они обладают колоссальным разнообразием динамических режимов. Вместе с тем, попытки применения этих моделей, к описанию и прогнозу динамики численности природных популяций часто оказывались малопродуктивными. В ряде случаев модельное описание удавалось существенно улучшить, если ввести в уравнения эффекты запаздывания. Наиболее убедительные результаты были получены для модели Рикера и ее модификации с запаздыванием. В частности, была предпринята попытка описания динамики *Zeiraphera diniana* Gn. на основе модели Рикера при различных значениях лага [1]. Следует отметить, что обстоятельного исследования модификации данной модели при введении запаздывания до сих пор не проводилось.

Данная работа посвящена исследованию влияния плотностно зависимой регуляции с запаздыванием на динамику численности популяции на основе модифицированной модели Рикера. Такой подход позволяет учесть степень уменьшения величины необходимых ресурсов, связанного с их потреблением предыдущими поколениями. В работе изучены особенности динамического поведения модели для значений лага 1, 2, 3. Показано, что возникает явление мультирежимности [2]: при одних и тех же значениях демографических параметров популяция может демонстрировать различные типы динамики, либо стабильную, либо периодическую, либо хаотическую. Выявлено, что зависимость популяционной динамики от интенсивности восстановления ресурсов, необходимых для жизнедеятельности вида, приводит к тому, что популяция в большинстве случаев демонстрирует квазипериодическую динамику. При этом двухгодичные колебания возможны в достаточно узком диапазоне значений параметров и, как правило, реализуются, когда ограничение роста численности осуществляется преимущественно через плотностно-зависимую регуляцию в текущем году. Используя результаты полученных аналитических и численных исследований, мы дополнили анализ динамики численности листовёртки листовенничной (*Zeiraphera diniana* Gn.), опубликованный в [1]. Показано, что оценка параметров [1] находится в зоне квазипериодической динамики, а именно в окне периодичности, соответствующему колебаниям с периодом 18. Цикл длины 18 возникает в результате бифуркации удвоения периода цикла длины 9. Дополнительно для этих же значений параметров был построен бассейн притяжения. Оказалось, что начальное приближение не оказывает влияния на тип достигаемого асимптотического режима.

*Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 15-29-02658 офи\_м.*

1. Nedorezov L.V., Sadykova D.L. //Ecological Modelling. 2015. V. 297. P. 26-32.
2. Фрисман Е. Я., Неверова Г. П., Кулаков М. П., Жигальский О. А. //Доклады Академии Наук. 2015. Т. 460. № 4. С. 488–493.

## ИЗУЧЕНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ПАРАМЕТРОВ ЛИСТЬЕВ ПШЕНИЦЫ, ВЫРАЩЕННЫХ В СРЕДЕ С ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ

**Study fluorescence characteristics of photosynthetically active of leaves of wheat cultivated in the environment with heavy metals**

***Пиняскина А.В. 1,2, Гаджиева И.Х. 2***

1 – ФГБУН ПИБР ДНЦ РАН, 367025, г. Махачкала, ул. М. Гаджиева, 45

2 – ФГБОУ ВО ДГУ, 367025, г. Махачкала, ул. Батырая, 4

e-mail: [vlasova.sashaasv@yandex.ru](mailto:vlasova.sashaasv@yandex.ru)

Было исследовано действие  $Cd$  и  $Sr$  в различных концентрациях на отдельные ростовые процессы, а также клеточные механизмы изменения фотосинтетической активности. В качестве объектов использованы изогенные линии Rht 9, Rht 13, Rht 17 сорта пшеницы «Мироновская 808». Измерения проводились на 5, 10 и 15 сутки после прорастания семян.

В результате эксперимента обнаружено, что соли кадмия ингибируют рост в длину надземной и подземной части, но слабо влияют на количество корней. К 15 суткам наблюдалась адаптация к солевому стрессу.

Соли стронция на начальных этапах стимулировали ростовые процессы, а на 15 сутки в большей степени ингибировали длину корня и гипокотыля. Минимальные биометрические показатели были зафиксированы на последние сутки измерений.

Необходимо отметить, что у всех проростков пшеницы выращенных в растворах кадмия наблюдался сильный хлороз листьев, который усиливался с увеличением концентрации раствора соли.

Установлено, что в малых концентрациях  $Ti$  оказывали стимулирующее действие на фотосинтез. Возможно, что усиление фотосинтетических процессов связано с увеличением активности ФС II и обусловлено общей активизацией метаболизма растений в ответ на слабое действие стрессора.

Исследованные металлы в высоких концентрациях снижали интенсивность фотосинтеза.

Подавление металлами квантовых выходов флуоресценции ( $F_0$ ) и максимальной флуоресценции ( $F_m$ ) хлорофилла проростков пшеницы как и кинетика процесса свидетельствуют о быстрой инактивации фотосистемы II (ФС II). На основании анализа индукционных кривых флуоресценции хлорофилла всех сортов (Rht 9, 13, 17) можно предположить, что на ранних стадиях токсическое действие  $Cd$  и  $Sr$  в исследованных концентрациях проявляется не только в подавлении электронного транспорта ФС II, но и в уменьшении степени энергизации фотосинтетических мембран. Используя кривые индукции флуоресценции, мы разделили различные типы флуоресценции, приводящие к снижению квантового выхода ФС II. Исходя из анализа формы, кинетики индукционной кривой (её медленной – восстановительной фазы), можем говорить о восстановлении различных компонентов нефотохимического тушения флуоресценции, степени фотоингибирования, электронном транспорте между стромой (или цитоплазмой) и переносчиками электронов в тилакоидных мембранах.

Эффективность преобразования энергии в процессе фотосинтеза зафиксировано у сорта Rht 9 - 0,758, несколько ниже у сорта Rht 13, в то время, как в контроле  $\gamma = 0,77$  и 0,758, соответственно. Теоретически максимальное значение  $\gamma$  имеют растения, растущие в благоприятных условиях 0,83, однако на практике этот показатель несколько ниже - 0,8



**ИССЛЕДОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БЕРЕЗ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЫСОТНОГО ГРАДИЕНТА****Study fluorescence characteristics of photosynthetically active birch depending on altitudinal gradient*****Пиняскина Е.В.1,2, Маммаев А.Т.1, Алиева М.Ю.1, Магомедова М.Х-М.1***

1-ФГБУН ПИБР ДНЦ РАН, 367025, г. Махачкала, ул. М. Гаджиева, 45

2-ФГБОУ ВО ДГУ, 367025, г. Махачкала, ул. Батырая, 4

Тел: 8(8722)67-58-81, e-mail: [elpin1@rambler.ru](mailto:elpin1@rambler.ru).

Дагестан является великолепной экспериментальной площадкой для изучения действия как биотических, так и абиотических факторов на организмы, исследования адаптационных изменений, объясняющих механизм и природу адаптивности и устойчивости у растений к различным стресс-факторам. Проведенные нами исследования флуоресцентных характеристик «городских» и «высотных» берез проводилось в июле и августе. Исследовали динамику изменения фотосинтетической активности растений в течение летних месяцев и исследовали флуоресцентные показатели берез в зависимости от вертикальной зональности. Полученные нами данные показали увеличение максимальной флуоресценции ( $F_m$ ) у городских берез *B. pendula* относительно *B. litwinowii* в июле (почти в 1,09 раза) и августе при практически равной величине фоновой флуоресценции ( $F_0$ ). Та же тенденция прослеживалась и у Гунибских берез, что связано, видимо, с видовыми особенностями. При сравнении квантовых выходов флуоресценции ( $F_0$  и  $F_m$ ) по высотному градиенту, у городских берез *B. litwinowii* и *B. pendula* июльские показатели были почти в 1,25 раза выше относительно Гунибских, обратная корреляция наблюдалась в августе месяце. Зафиксированные нами флуоресцентные показатели в августе были ниже июльских у все объектов. Снижение уровня сигнала  $F_0$  и  $F_m$  связывают с активацией реакций темновой фазы фотосинтеза (фотохимическое тушение) и увеличением тепловой диссипации в светособирающей антенне ФС2 (нефотохимическое тушение). Низкие значения  $F_0$  и  $F_m$  у городских берез могут свидетельствовать об усилении конкурирующего с флуоресценцией процесса – фотохимических реакций перераспределения зарядов между антенными комплексами и ФС II и могут рассматриваться как фотопротекторные реакции. Кроме того, величина  $F_0$  может изменяться при воздействии неблагоприятных факторов – высокие температуры, избыточное освещение и др. (температура в городе в период исследований составляла +32- +36°C). Эффективность фотохимического превращения поглощенной световой энергии в ФС2 ( $Y = F_v/F_m$ ) составляла у Гунибских образцов  $0,81 \pm 0,02$  в июле, что указывает на высокую потенциальную фотосинтетическую активность исследованных растений и приближается к теоретической. Изменение интенсивности фотосинтеза по высотному профилю обратно коррелирует с изменением суммарного содержания хлорофиллов,  $a$  и  $b$ . По нашим данным соотношение содержания хлорофилла  $a/b$  почти в 2 раза выше у городских берез. Соотношение (Хл/Кар) составляло *B. litwinowii Doluch* Гуниб - 7,9, *B. pendula Roth* (Гуниб) - 9,8, *B. litwinowii Doluch* (город)-15,3, и *B. pendula Roth* (город)-19,0. Процентное содержание каротиноидов у горных берез почти в 2 раза выше чем у городских, что связано с протекторной функцией. Климатические условия, часто являясь ингибиторами и активаторами биоэнергетических процессов, протекающих в тилакоидах растительных клеток, способны оказывать влияние на эффективности первичных процессов фотосинтеза, нарушения которых отражаются в изменении флуоресценции хлорофилла,  $a$  и появляются задолго до видимых изменений физиологического состояния растений. Изменение структурных, физиолого-биохимических и биофизических реакций исследуемых растений связано с высотным градиентом и является следствием действия совокупности абиотических факторов.

## **ВЛИЯНИЕ КИСЛОТНЫХ ДОЖДЕЙ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ЛИСТЬЕВ ГОРОХА**

**The effect of acid rain on the ultrastructure and functional characteristics of the photosynthetic apparatus of pea leaves**

***Полищук О.В., Водка М.В., Белявская Н.А., Хомочкин А.П., Золотарёва Е.К.***

Институт ботаники им. М.Г.Холодного НАН Украины, ул. Терещенковская, 2, 01004, Киев, ул. Терещенковская, 2; Украина  
Тел/факс + 380(44)2723231; email: *polishch@yandex.ru*

Кислотные дожди (КД) являются наиболее распространенным следствием антропогенного загрязнения окружающей среды, затрагивающим значительную часть территорий индустриально развитых государств. Кислотные осадки в виде дождя, снега, тумана или росы пагубно влияют на состояние природных экосистем, повреждают растительность либо непосредственно – листья, либо косвенно – через почву и корневую систему, способствуя более высокой растворимости таких токсичных металлов, как кадмий, ртуть и свинец и их освобождению из донных отложений и почв. В условиях закисления почвы атмосферные загрязнения приводят к деградации лесов и изменению видового разнообразия природных экосистем. Целью настоящей работы являлось изучение влияния имитированного кислотного дождя на функциональные и ультраструктурные характеристики фотосинтетического аппарата листьев гороха, а также проверка предположения о роли тилакоидной карбоангидразы в негативном влиянии КД на фотохимическую активность хлоропластов.

В условиях лабораторной имитации кислотного дождя (ИКД) исследовались ультраструктура и функциональные показатели фотосинтетического аппарата (ФСА) листьев гороха. Листья 14-дневных растений гороха опрыскивали водным раствором  $\text{NaNO}_3$  (0.2 мМ) и  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (0.2 мМ), (рН 5.6, контрольный вариант), либо тем же раствором, подкисленным до рН 2.5 с помощью слабого эквимольного раствора  $\text{HCl}$  и  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (кислотный вариант). Функциональные характеристики ФСА оценивали методом индукции флуоресценции хлорофилла. Показано уменьшение эффективности фотосинтетического электронного транспорта на 25 %, что сопровождалось ростом квантового выхода тепловой диссипации избыточных квантов света на 85 %. Ультраструктурные изменения хлоропластов после двух суток обработки листьев ИКД регистрировали методом трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ). При этом наблюдались изменения в строении гран, неоднородность упаковки тилакоидов в гранах, что проявлялось в увеличении ширины внутритилакоидного пространства и толщины мембран гранальных тилакоидов по сравнению с контролем. В хлоропластах, изолированных из листьев, обработанных ИКД, был подавлен электронный транспорт, повышен уровень тепловой диссипации энергии света и подавлена миграция светособирающих пигмент-белковых комплексов, а также снижена карбоангидразная активность. Выдвинуто предположение о возможной инактивации тилакоидной карбоангидразы под воздействием ИКД и об ее участии в ингибировании фотохимической активности хлоропластов. Полученные данные свидетельствуют о том, что кислотные дожди негативно влияют на фотосинтетический аппарат, нарушая мембранную систему хлоропластов.

**МЕТОД ПОИСКА ГРАНИЦ ДЛЯ ТРЕХ И БОЛЕЕ КЛАССОВ КАЧЕСТВА В КЛАССИФИКАТОРАХ КАЧЕСТВА ПРИРОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ****Search method for border three or more classes of quality in the qualifier as natural ecosystems**

***Рисник Д.В., Левич А.П., Фурсова П.В.***

МГУ имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, каф. биофизики. 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12

Тел.: +7(495)939-55-60; e-mail: *biant3@mail.ru*

Предложен метод по расчету границ произвольного числа качественных классов для количественных характеристик систем (метод ГКК) [1, 2].

Особенности предложенного метода:

1) Границы классов качества устанавливаются не по экспертным оценкам, а путем расчетов, основанных на строго формальном методе анализа данных.

2) Предложенный метод не использует никакие модельные предпосылки. Расчеты границ основаны только на частоте встречаемости тех или других значений характеристик в предыстории наблюдений за объектом.

3) Метод не требует, чтобы распределение исходных данных удовлетворяло каким-либо статистическим критериям (например, чтобы они были распределены по нормальному или пуассоновскому закону).

4) Метод позволяет рассчитать границу между допустимыми и недопустимыми значениями как для "слишком высоких", так и для "слишком низких" уровней факторов.

Метод позволяет получить следующие результаты:

- выявить факторы, существенно влияющие на индикатор;
- определить взаимосогласованные границы нормы индикатора (разделяющие классы качества индикатора) и границы нормы фактора (разделяющие классы качества фактора);
- упорядочить все исследуемые факторы по величине их вклада в "неприемлемые" классы качества индикаторной характеристики;
- оценить полноту программы наблюдения за исследуемым объектом и дать необходимые рекомендации по ее сокращению или расширению;
- указать предпочтения в выборе индикаторной характеристики состояния исследуемого объекта.

Отметим, что метод ГКК позволяет обнаружить, но не позволяет объяснить связи между переменными. Этап обнаружения связей, тем не менее, с необходимостью предшествует этапу объяснения, который представляет собой самостоятельную задачу в предметной области, к которой принадлежит исследуемая система. Этап объяснения не входит в круг задач, решаемых методом ГКК.

Разработанные алгоритмы реализованы в программном продукте "Программа по установлению границ качественных классов для количественных характеристик систем и установлению взаимосвязи между характеристиками" [3].

*Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ №№ 13-04-01027, 14-04-00143, 14-04-01873, 16-34-01257.*

1. Левич А.П., Булгаков Н.Г., Максимов В.Н., Рисник Д.В. **Ошибка! Закладка не определена.** / Вопросы экологического нормирования и разработка системы оценки состояния водоемов. М.: Тов. научных изданий КМК, 2011. С. 32-57.
2. Рисник Д.В., Левич А.П., Фурсова П.В. // Саарбрюккен: Palmarium Academic Publishing. 2015. 88 с.
3. Программа по установлению границ качественных классов для количественных характеристик систем и установлению взаимосвязи между характеристиками / И.А. Гончаров, А.П. Левич, Д.В. Рисник. Рег. номер в Роспатенте 2012616523 РФ (Программа для ЭВМ).

## ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ ДЛЯ ИНДИКАЦИИ ОЗОНА НА ОДНОКЛЕТОЧНЫХ МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМАХ РАСТЕНИЙ

### Fluorescent analysis for the ozone indication on unicellular plant model systems

**Рощина В.В., Яшин В.А., Кучин А.В.**

ФАНО ФБГУН Институт биофизики клетки РАН, 1422906 Пущино, Московская область, Институтская, 3

*e-mail: roshchinavic@mail.ru*

В связи с большой опасностью для живых организмов высоких концентраций тропосферного озона (выше, чем 0.1 мкл/л за час, при котором ощущается характерный запах) или хронического уровня этого газа (менее, чем 0.05 мкл/л в течение 10 часов) индикация ранних реакций или уже вызванных им повреждений на уровне клетки, представляет важную задачу. По сравнению с клетками микроорганизмов и животных, у растений даже внешне можно выявить более отчетливые изменения, что делает их индикаторами в экологическом биомониторинге [1]. В качестве биоиндикаторов озона предложены одноклеточные модельные системы растений [1,2]. Среди них были вегетативные микроспоры *Equisetum arvense* и пыльца 7 видов растений - орешника лесного *Corylus avelliana* L., ивы козьей *Salix caprea* L., тополя бальзамического *Populus balsamifera* L., тюльпана гибридного *Tulipa sp* L., долихотеле *Dolichothele albescens* (Tiegel) Backeb., сенполии узамбарской *Saintpaulia ionantha* Wendl., на которых изучали автофлуоресценцию [1-3], флуоресценцию после гистохимической обработки [4] и ростовые показатели. Обнаружено, что низкие дозы озона 0.005 мкл/л за два с половиной часа или 0.008 мкл/л за четыре часа экспозиции не влияют или стимулируют автофлуоресценцию образцов, с сохранением способности прорасти в искусственной среде. В более высоких концентрациях (16 часов пребывания в озоне, общая доза 0.032 мкл/л) отмечено или снижение интенсивности эмиссии или изменение положения максимумов в спектре флуоресценции (появление нового максимума 515-520 нм). В превышающих порог опасности для здоровья человека (> 0.1 мкл/л) дозах во всех образцах наблюдалось снижение автофлуоресценции вплоть до нуля, и отсутствовала способность прорасти. После воздействия озоном в течение 100 часов (общая доза 0.2 мкл/л) в препаратах вегетативных микроспор *E. arvense*, пыльцы *S. caprea* и *P.s balsamifera* обнаружены характерные для окислительного стресса липофусцино-подобные пигменты [5] с максимумами флуоресценции в области 420-480 нм (возбуждение светом 360 нм). Стрессовые метаболиты, известные как нейромедиаторы [6], обнаруживали в образцах после специфических гистохимических реакций на катехоламины (с глиоксилевой кислотой) или гистамин (с орто-фталевым альдегидом) по характерной флуоресценции при 460-480 нм. После 6 часов экспозиции в озоне (общая доза 0.012 мкл/л) у пыльцы *Populus balsamifera* значительно увеличивалось не только количество катехоламинов, но и содержание гистамина. У вегетативных микроспор *Equisetum arvense* и пыльцы *Corylus avellana* после воздействия больших доз озона (0.032 мкл/л) обнаружены более высокие концентрации катехоламинов по сравнению с контролем. Использование флуоресцентного анализа неповрежденных клеток – биоиндикаторов озона и моделей для изучения его эффектов может быть полезным в экомониторинге для раннего предупреждения опасных для здоровья человека концентраций этого соединения в воздухе.

1. Roshchina V.V., Roshchina V.D. Ozone and Plant Cell. Dordrecht: Kluwer: 2003. 240 pp.
2. Roshchina V.V. Model systems to study the excretory function of higher plants. Dordrecht: Springer. 2014.198 pp
3. Roshchina V.V. Fluorescing world of plant secreting cells. Enfield, Jersey, Plymouth: Science Publ. 2008. 338
4. Roshchina V.V., Yashin V.A. /Allelopathy J, 2014. V.34, P. 1-16.
5. Roshchina V.V., Kanaukhov V.N. /Biologia Plantarum , 1999. V.42, P. 273-278.
6. Roshchina V.V. Neurotransmitters in Plant Life. Enfield, Plymouth: Science Publ. 2001. 280 c.

## ГИДРАВЛИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ГОДИЧНОГО КОЛЬЦА - НОВЫЙ ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ДЕНДРОЭКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### Hydraulic Model of Tree-Ring – a New Instrument for Dendroecological Research

*Свидерская И.В., Федотов Д.А.*

Сибирский федеральный университет, 660041, Красноярск, пр. Свободный 79  
Тел.: +7(950)437-52-40; e-mail: [isvider@mail.ru](mailto:isvider@mail.ru)

Изменчивость количественных показателей клеточной структуры годичных колец (ГК) деревьев является источником косвенной информации об экологических условиях прошлого. Количественные данные по микроанатомии ГК могут быть еще более полезными, если дополнить их функциональными характеристиками. В настоящее время измерять гидравлические характеристики отдельных ГК или водопроводящих клеток (трахеид) невозможно, что делает невозможной оценку функциональных характеристик ГК и изменчивости отклика водопроводящей системы дерева на изменения внешних условий с высоким временным разрешением. Цель работы – разработка математической модели для оценки гидравлических характеристик ГК и установление влияния клеточной структуры ГК на их функциональную структуру и интегральные гидравлические показатели.

Мы разработали математическую модель, позволяющую рассчитывать гидравлические характеристики ГК и трахеид по их размерам. Модельное ГК – это радиальный ряд трахеид, который аналогичен ряду параллельно расположенных гидравлических сопротивлений, проводящих воду только в направлении снизу вверх. Суммарное водопроведение такого кольца является суммой водопроведений отдельных трахеид. Водопроведение отдельной трахеиды – обратно пропорционально ее гидравлическому сопротивлению. Гидравлическое сопротивление отдельной трахеиды представляет собой сумму сопротивлений люмена (внутреннего просвета трахеиды) и концевых межклеточных пор. Сопротивление люмена рассчитывается с помощью уравнения Хагена-Пуазейля по его гидравлическому диаметру. Общее сопротивление межклеточных пор в трахеиде определяется числом пор и величиной сопротивления отдельной поры. Последнее определяется размерами ее структурных элементов: мембраны, торуса, апертуры, числом и размером отверстий в сетчатой мембране. Размеры структурных элементов межклеточных пор линейно связаны с диаметром люмена и толщиной клеточной стенки трахеиды. Адекватность модели была проверена по литературным данным.

Показано, что водопроводимость клеток поздней древесины в 10–15 раз меньше клеток поздней древесины. Водопроведение трахеид ранней древесины лимитируются проведением люмена, а трахеид поздней древесины – проведением пор. Водопроведение ранней древесины составляет около 95% суммарного проведения ГК.

Интегральное водопроведение ГК положительно коррелирует с шириной годичного кольца. Однако у деревьев лиственницы, растущих в зоне вечной мерзлоты, мы обнаружили ГК, которые существенно различаются по своим гидравлическим характеристикам при равной ширине. Различия в гидравлических характеристиках обусловлены б'ольшим числом клеток в радиальном файле в сочетании с меньшими поперечным размером люмена и более толстыми стенками.

Таким образом, разработана модель для расчета гидравлических характеристик ГК и трахеид, которая позволила установить, что трахеиды поздней древесины почти не участвуют в проведении воды. Количественные показатели клеточной структуры ГК могут оказывать существенное влияние на их функциональные характеристики.

## РАЙОНИРОВАНИЕ МОРЕЙ СРЕДИЗЕМНОМОРСКОГО БАССЕЙНА В СООТВЕТСТВИИ С ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННОЙ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬЮ АКУСТИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ЗВУКОРАССЕИВАЮЩИХ СЛОЁВ

**Regionalization of the Mediterranean Sea basin by agree with spatial-temporal variability of the sound-scattering layers acoustical and biological parameters**

***Сибирцова Е.Н., Токарев Ю.Н.***

ФГБУН «Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН», 299011, Севастополь, Пр. Нахимова, 2

*Тел.: +7(978)704-30-86; факс: (8692)55-78-13; e-mail: y.tokarev@gmail.com*

Авторами предложена и апробирована оригинальная методология экологического районирования морей Средиземноморского бассейна, основанная на учёте параметров высокочастотных (38-120 кГц) акустических полей, формируемых, в основном, планктонными организмами. Предложенная методология интегрирует все разработанные до этого подходы и принципы классификации акваторий и согласуется с основными идеями системы NOAA, что позволяет всесторонне оценить региональные сходства и различия морских экосистем, как динамически функционирующих структур, все явления и процессы в которых взаимосвязаны и взаимообусловлены. В частности, оценена интенсивность биологических процессов в экосистемах в различные сезоны и время суток, а также роль доминирующих групп гидробионтов-рассеивателей в формировании звукорассеивающих слоёв (ЗРС).

Результатом районирования стало выделение 5 регионов: Западного (моря Альборан, Балеарское и Лигурийское), Центральный (Тирренское и Ионическое моря, Тунисский пролив), Юго-восточный (моря Сирта и Леванта), Северо-восточный (Эгейское и Мраморное моря) и Северный – Чёрное море. Каждый из них обладает уникальными особенностями пространственно-временной вариабельности ЗРС и их фаунистического состава. Впервые для каждого региона определены критические уровни освещённости, служащие сигналом для суточных вертикальных миграций ЗРС. Показано, что наиболее сложная схема формирования и перестройки ЗРС в связи с параметрами освещённости обнаружена в Ионическом море, а наименьшие показатели критических уровней освещённости и наиболее простая схема миграций ЗРС – в Эгейском море. Выявлены региональные скорости миграций ЗРС: максимальные (Северный регион) составляли 3 – 4,5 м·мин<sup>-1</sup>, а минимальные (Центральный и Западный регионы) - 1,1 – 2 м·мин<sup>-1</sup>. Установлено, что основная роль в формировании ЗРС верхнего продуктивного слоя морей Средиземноморского бассейна принадлежит представителям мезо- и макропланктона. Доминирующими в фауне высокочастотных ЗРС всех регионов являются ракообразные (копеподы и эуфаузииды) и желетелье (гребневики и медузы). Значительно реже среди населения ЗРС встречаются кладоцеры, хетогнаты, сифонофоры и рыбы. Выявлены особенности суточной и сезонной динамики вертикальной структуры акустического поля для каждого региона. При этом в осенний период в Чёрном и Эгейском морях ночные параметры рассеяния превышают дневные в 4–6 раз и в 2–4 раза, соответственно. В весенний период в Тирренском и Лигурийском морях ночные показатели рассеяния превышают дневные в 2,5 и в 2 раза, соответственно, тогда как в Чёрном, Мраморном, Эгейском морях и в море Леванта суточная динамика звуковой реверберации незначительна или практически отсутствует. Показано, что выявленные особенности суточной и сезонной динамики ЗРС объясняются параметрами их таксономического состава и гидрологическим режимом исследуемых морей.

**ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА EPHEDRA MONOSPERMA В ПЕРИОД СЕЗОННОГО ПониЖЕНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ****Seasonal changes in structural-functional integrity of the photosynthetic apparatus of *Ephedra monosperma*****Софронова В.Е.1, Антал Т.К.2**

1 – Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, 677000, Якутск, пр. Ленина, 41;  
2 – Биологический факультет, кафедра биофизики МГУ, 119992, Москва, Воробьевы Горы, 1/12  
Тел.: +7(411)233-56-90; факс: +7(411)233-58-12; e-mail: vse07\_53@mail.ru

В работе исследовали механизмы холодной адаптации первичных процессов фотосинтеза в побегах вечнозеленого кустарничка *Ephedra monosperma* с начала сентября до конца октября в естественных условиях Центральной Якутии. Для этого оценивали максимальную фотохимическую активность ФС II по параметру флуоресценции хлорофилла  $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$ , конститутивные (нерегулируемые) тепловые потери энергии в ФС II (параметр  $F_s/F_m'$  или  $\phi_{f, D}$ ), а также отслеживали динамику изменения содержания и соотношения индивидуальных фотосинтетических пигментов и  $\alpha$ -токоферола. Исследования выявили две основные стадии адаптации, которые соответствовали следующим временным периодам: 1) начало сентября – конец сентября (падение температуры с  $+15^\circ\text{C}$  до  $+1...2^\circ\text{C}$ ), 2) конец сентября – вторая половина октября (переходы через ноль и снижение температуры до  $-10^\circ\text{C}$ ). Первая стадия характеризовалась постепенным уменьшением отношения  $F_v/F_m$  с 0.79 до 0.67; при этом снижалась величина  $F_m$  и возрастала  $F_o$ . Эти изменения сопровождалось постепенным ростом  $\phi_{f, D}$  от 0.3 до 0.47, снижением содержания хлорофиллов ( $a + b$ ) и  $\beta$ -каротина, значительным обогащением антенных ПБК зеаксантином, лютеином, неоксантином в расчете на хлорофилл и увеличением концентрации антиоксиданта  $\alpha$ -токоферола. Одновременно наблюдали постепенное снижение способности ФСА к развитию энергизационного тушения  $qE$ , ответственного за тушение синглетных состояний Хл. Результаты свидетельствуют о процессах функциональной инактивации ФС II, в том числе в результате появления закрытых центров и/или отсоединения периферических антенных комплексов. Одновременно, по-видимому, возрастает роль компенсаторных фотозащитных механизмов в антенне с участием лютеина, неоксантина, нейтрализующих триплетный хлорофилл и супероксид-анионы, вероятность образования которых возрастает при функционировании ЭТЦ при низких положительных температурах. При этом,  $\alpha$ -токоферол, по-видимому, оказывает синергетический эффект на протекторные функции неоксантина [1]. На второй стадии при околонулевых температурах в конце сентября резко возрастало содержание зеаксантина, переводящего антенные ПБК в тушащее состояние в отсутствие трансилационного протонного градиента. Параллельно и при дальнейшем понижении температуры до  $-10^\circ\text{C}$  происходило быстрое снижение величины  $F_v/F_m$  с 0.67 до 0.35 в результате одновременного падения  $F_m$  и  $F_o$ , а также быстрый рост величины  $\phi_{f, D}$  с 0.45 до 0.60, что отражает процессы деградации ФС II и рост тепловых потерь в антенне и РЦ функциональных комплексов, соответственно. Из полученных результатов можно заключить, что адаптация фотосинтеза к сезонному понижению температуры включает ряд механизмов, направленных на снижение скорости фотохимического преобразования энергии в ФС II за счет уменьшения содержания светособирающих пигментов, активных форм ФС II, и роста диссипативных процессов в ФС II, а также на предотвращение избыточного образования АФК.

1. Dall'Osto L., Cazzaniga S. et al. / The Plant Cell. 2007. V. 19. P. 1048–1064.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СУЛЬФАТА МЕДИ НА ПАРАМЕТРЫ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА А ЛИСТЬЕВ *PISUM SATIVUM* L. С ПОМОЩЬЮ МУЛЬТИФУНКЦИОНАЛЬНОГО ФЛУОРИМЕТРА

Study the effect of copper sulfate on parameters of chlorophyll a fluorescence of *Pisum sativum* L. leaves by using multifunctional fluorometer

**Тодоренко Д.А.1, Паунов М.М.2, Гольцев В.Н.2, Маторин Д.Н.1**

1 – Биологический факультет МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12

2 – Биологический факультет Софийского Университета Св. Кл. Охридски, 1164, Болгария, София, бул. Драган Цанков, 8

e-mail: dariatodor@mail.ru

В настоящее время для исследования физиологического состояния фотосинтезирующих организмов активно используются флуориметры, которые позволяют исследовать объект *in vivo*, не нарушая его целостность. Относительно недавно появились флуориметры нового поколения – М-РЕА-2 (Hansatech Instruments Ltd, Petney, Norfolk, UK), в которых одновременно с измерением быстрой флуоресценции хлорофилла (БФ) реализована возможность регистрации редокс состояния РЦ ФС I (P700) (с помощью модулированного света длиной волны 820 нм (MP<sub>820</sub>)) и замедленной флуоресценции (ЗФ) [1, 2]. Благодаря одновременной регистрации БФ, ЗФ и сигнала MP<sub>820</sub> стало возможным оценивать функциональное состояние обеих фотосистем и уровень энергизации мембран на одном объекте.

На листьях *Pisum sativum* L. изучены особенности влияния сульфата меди при разной концентрации раствора токсиканта на параметры флуоресценции хлорофилла *a* с помощью М-РЕА-2. Флуоресценцию хлорофилла *a* и изменение рассеяния света при длине волны 820 нм индуцировали красным светом (627±10 нм) с интенсивностью 3000 мкмоль квантов м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup> в течение 60 с. Раствор сульфата меди использовали в концентрациях 20 и 50 мкМ.

Полученные результаты исследования показали, что в первую очередь ионы меди снижают электронный транспорт на акцепторной стороне ФС I. Ингибирование фотосинтетической активности ФС II ( $F_v/F_m$ ) наблюдали при высоких концентрациях токсиканта в результате ингибирования электронного транспорта на донорной стороне ФС II. Обнаружены изменения в форме индукционных кривых ОJIP, главным образом, в снижении максимального уровня флуоресценции P и в изменении амплитуды фазы JI ( $V_i$ ). Изменение амплитуды фазы OJ ( $V_j$ ) показано лишь при максимальной концентрации токсиканта, которое было обусловлено увеличением доли Q<sub>B</sub>-невосстанавливающих центров. Изменение амплитуды фазы JI ( $V_i$ ) согласовывалось со снижением скорости фотоиндуцированного окисления P700 и изменением быстрой фазы индукционных кривых ЗФ, которые свидетельствуют о снижении скорости ре-окисления PQH<sub>2</sub>. Влияние на уровень энергизации мембран наблюдали при максимальной концентрации раствора сульфата меди.

1. Goltsev V. et al. / Biotechnol.Biotec.Eq. 2009, V.23, P. 452-457.

2. Strasser R. et al. / BBA. 2010, V.1797, P. 1313-1326.



**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА (AGNPS) НА БЫСТРУЮ И ЗАМЕДЛЕННУЮ ФЛУОРЕСЦЕНЦИЮ ХЛОРОФИЛЛА А И НА РЕДОКС СОСТОЯНИЕ РЦ ФС I (P700) ЗЕЛеной МИКРОВОДОРОСЛИ CHLAMYDOMONAS REINHARDTII**

**Study the effect of silver nanoparticles (AgNPs) on prompt and delayed chlorophyll a fluorescence and redox state of RC PS I (P700) of green microalgae *Chlamydomonas reinhardtii***

**Тодоренко Д.А., Габбасова Д.Т., Протопопов Ф.Ф., Горячев С.Н., Иванов М.В.**

Биологический факультет МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы 1, стр.12

e-mail: [dilara.gt@yandex.ru](mailto:dilara.gt@yandex.ru)

В настоящее время при изготовлении различных товаров относительно недавно начали использовать серебросодержащие материалы, которые, по мнению исследователей, представляют потенциальную опасность для водных экосистем. В некоторых работах показано, что AgNPs ингибируют фотохимические реакции фотосинтеза и ростовые процессы фитопланктона [1], снижают первичный фотосинтетический электронный транспорт [2] и уровень энергизации фотосинтетических мембран [3]. Однако токсичность наночастиц серебра (AgNPs) на водные экосистемы остается по-прежнему недостаточно изученной.

В настоящей работе исследовано влияние AgNPs на параметры флуоресценции хлорофилла *a* культуры зеленой микроводоросли *Chlamydomonas reinhardtii* с использованием многофункционального флуориметра M-PEA-2 (Hansatech Instruments Ltd, Petney, Norfolk, UK). Размер AgNPs определяли в очищенной суспензии методом динамического рассеяния света на Zetasizer Nano ZS (Malvern, UK).

В присутствии AgNPs наблюдали изменение формы индукционной кривой OJIP. После анализа OJIP кривых было показано, что AgNPs в большей степени воздействовали на электронный транспорт на акцепторной стороне ФС II. AgNPs увеличивали долю  $Q_B$ -невосстанавливающих центров ( $V_j$ ), приводили к инактивации активных РЦ (ABS/RC), снижали скорость переноса электронов от РЦ к пластохинонам, что проявлялось в увеличении времени достижения максимального уровня флуоресценции ( $T_f(\max)$ ). Изменения некоторых параметров JIP-теста хорошо согласуются с изменением быстрой фазы индукционных кривых замедленной флуоресценции (ЗФ). Показано, что в присутствии AgNPs происходит подавление быстрой фазы индукционных кривых ЗФ, свидетельствующее о замедлении электронного потока на акцепторной стороне ФС II. AgNPs в меньшей степени воздействовали на редокс состояние реакционного центра ФС I (P700). Скорости окисления и восстановления P700 незначительно изменялись при действии AgNPs.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности применения параметров индукции быстрой и замедленной флуоресценции хлорофилла *a* для оценки токсического действия наночастиц металлов на природный фитопланктон.

1. Navarro E. et al. /Environmental Science & Technology, 2008, V.42, №23, P. 8959-8964.
2. Oukarroum A. et al. /Environmental Science and Pollution Research, 2012, V.19, №5, P.1755-1762.
3. Matorin D. N., Todorenko D.A. et al. /Microbiology, 2013, V.82, №6, P. 862-867.

## ПРЕСЛЕДУЮЩИЕ ЖЕРТВ ХИЩНИКИ ПРЕОДОЛЕВАЮТ ЭФФЕКТ ОЛЛИ

### Predators pursuing prey overcome the Allee effect

***Тютюнов Ю.В. 1, 2, Титова Л.И. 2***

1 – Институт аридных зон ЮНЦ РАН, 344006, Ростов-на-Дону, ул. Чехова, 41;

2 – Институт математики, механики и компьютерных наук им. И.И. Воровича ЮФУ, 344090, Ростов-на-Дону, пр-т Стачки, 200/1

Тел.: +7(863)297-52-29; факс: +7(863)297-51-13; e-mail: [tyutyunov@sfedu.ru](mailto:tyutyunov@sfedu.ru)

Построена математическая модель пространственно-временной динамики трофической системы «хищник-жертва», представляющая собой систему уравнений в частных производных типа «таксис-диффузия-реакция». Рост популяции жертв подчиняется логистическому закону. Пожирание жертв хищниками моделируется трофической функцией Холлинга типа II. Коэффициент естественной смертности хищников постоянен. Использование плотностно-зависимого коэффициента эффективности хищничества (конвертации съеденных жертв в воспроизводство хищников) позволяет включить в модель эффект Олли [1, 2, 3]. Для описания активного преследования жертв хищниками использован метод моделирования популяционного таксиса, предложенный и обоснованный в [4-7]. В качестве местообитания рассматривается прямоугольник с непроницаемыми границами.

Ранее, для подобной системы без эффекта Олли, было обнаружено, что превышение коэффициентом таксиса хищников критических значений ведёт к потере устойчивости однородных, как стационарного, так и периодического решений, и установлению сложных пространственно-неоднородных периодических, квазипериодических и хаотических режимов [4, 7, 8].

Включение в модель эффекта Олли в популяции хищника (и/или жертвы) показало, что увеличение амплитуды однородных периодических колебаний в системе без пространственных эффектов (в точечной модели) ведёт к вымиранию хищников, либо, если имеет место эффект Олли для популяции жертв, — к вымиранию обеих популяций. Однако в пространственной модели при достаточно высокой интенсивности таксиса хищников устанавливается пространственно-неоднородный режим и вымирания не происходит.

1. Allee W.C. Animal aggregations: a study in general sociology. Chicago Univ. Press, Chicago, 1931.
2. Stephens P.A., Sutherland W.J. / Trends in Ecology and Evolution, 1999. Vol.14, P.401-405.
3. Zhou S.-R., Liu Y.-F., Wang G. / Theoretical Population Biology, 2005. Vol.67, P.23-31.
4. Говорухин В.Н., Моргулис А.Б., Тютюнов Ю.В. / Доклады академии наук, 2000, Т.372. С.730-732.
5. Tyutyunov Yu., Seninal., Arditi R. / American Naturalist, 2004. Vol.164. P.722-735.
6. Tyutyunov Yu., Titova L., Arditi R. / Mathematical Modelling of Natural Phenomena, 2007. Vol.2. P.122-134.
7. Тютюнов Ю.В., Загребнева А.Д. и др. / Биофизика, 2009. Т.54. С.508-514.
8. Arditi R., Tyutyunov Yu., et al. / Theoretical Population Biology, 2001. Vol.59. P.207-221.

**ДИНАМИКА ДЫХАНИЯ ЛИСТЬЕВ *GALANTHUS NIVALIS* L. ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ТЕМПЕРАТУРЫ И ВЛАЖНОСТИ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ****Dynamics of respiration of *Galanthus nivalis* L. leaves under the influence of temperature and humidity of the environment**

***Федюк О. М., Полищук А. В., Белявская Н. А.***

Институт ботаники им. М.Г.Холодного НАН Украины, ул. Терещенковская, 2, 01004, Киев, ул. Терещенковская, 2; Украина  
Тел/факс + 380442723231; email: [olgamuronivna@ukr.net](mailto:olgamuronivna@ukr.net)

Для оценки энергетической эффективности дыхания растений используется немало количественных и качественных методов. Классическим подходом к изучению количественных характеристик связи дыхания, как источника энергии, с процессами роста и метаболизма считается калориметричный метод. Он основан на измерении теплоты, выделенной объектом за определенное время, с последующим сопоставлением вычисленной величины с количеством энергии, высвобождаемой в ходе дыхания [1].

Проведенные исследования [2] показали, что на энергетическую эффективность дыхания влияют многие факторы, в частности, температура среды. Снижение температуры среды (ниже 0°C) отрицательно влияет на жизненные процессы тропических и субтропических растений, вызывая прекращение их дыхания и отмирание. Однако, в отличие от них, морозостойчивые виды высокогорных травянистых растений в процессе эволюции приобрели способность сохранять нормальную активность жизненных процессов и высокую интенсивность дыхания даже при отрицательных температурах среды. При этом остается недостаточно изученной зависимость интенсивности дыхания листьев морозостойких весенних эфемероидов от температуры среды.

Объектом исследования был подснежник белоснежный (*Galanthus nivalis* L.) на пятом году вегетации. Для выявления влияния температуры среды на интенсивность дыхания этого морозостойкого эфемероида весной при вариации температур от -4,1°C до +6,7°C и влажности воздуха от 55 до 84% регистрировали динамику дыхания с помощью электрода Кларка.

Установлено, что при среднем показателе температуры среды +1,7°C и влажности 71%, среднее фоновое поглощение кислорода в листьях составляло 10,5 мкмоль O<sub>2</sub>/г·ч. В условиях снижения положительных температур среды от +6,7°C до +2,7°C и повышения влажности от 55% до 84% интенсивность дыхания возрастала от 9,5±0,37 до 12,29±0,21 мкмоль O<sub>2</sub>/г·ч, при этом доля цианид-резистентного дыхания сначала увеличивалось от 23,0±2,67 до 28,0±3,33%, а затем снижалась до 24,0±2,55%. При дальнейшем снижении температуры среды от +2,7°C до -3,8°C и влажности воздуха от 84 до 66% скорость дыхания замедлялась от 12,2±0,21 до 8,6±0,15 мкмоль O<sub>2</sub>/г·ч, а доля цианид-резистентного дыхания возрастала от 24 до 40%. При температурах от -3,8°C до -4,1°C в условиях незначительного повышения влажности среды от 66 до 76% наблюдалось повышение интенсивности дыхания от 8,6±0,15 до 9,8±0,15 мкмоль O<sub>2</sub>/г·ч при одновременном снижении доли цианид-резистентного дыхания от 40 до 16,5%, т. е. в 2,4 раза. Результаты наших экспериментов свидетельствуют, что температура атмосферного воздуха в изученном диапазоне влияет на интенсивность цианид-резистентного дыхания листьев *G. nivalis*, с коэффициентом корреляции -0,95. Кроме этого, влажность атмосферного воздуха влияет на суммарную интенсивность дыхания с коэффициентом корреляции 0,72.

1. Семихатова О.А. Энергетика дыхания растений в норме и при экологическом стрессе. 1980. 72с. 2. Войников В.К. Температурный стресс и митохондрии растений. Новосибирск, 1987. 233с.

## РАЗВИТИЕ МЕТОДА ОЦЕНКИ СКОРОСТИ ФОТОСИНТЕЗА ФИТОПЛАНКТОНА ПО ПАРАМЕТРАМ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА А

***Чурилова Т.Я.1, Антал Т.К.2, Маторин Д.Н.2, Суслин В.В.3, Ефимова Т.В.1, Кривенко О.В.1***

1 – Институт Морских биологических исследований имени А.О. Ковалевского, ФГБУН РАН, Севастополь, 299011, РФ, tanya.churilova@gmail.com; tatyana-iefimova@yandex.ru;

2 – Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова ФГОУ ВПО, ул. Ленинские Горы, 1, Москва, 119991, РФ, taras\_an@mail.ru; matorin@biophys.msu.ru

3 – Морской Гидрофизический Институт ФГБУН РАН, ул. Капитанска, 2, Севастополь, 299011, РФ,

Продукция фитопланктона лежит в основе функционирования всей морской экосистемы, что определяет актуальность исследований скорости фотосинтеза и закономерностей формирования первичной продукции в море. Традиционные методы оценки первичной продукции фитопланктона *in situ*, такие как радиоуглеродный и кислородный методы предполагают длительную экспозиции ограниченных объемов воды при фиксированных значениях освещенности. Такие условия эксперимента не позволяют проводить одновременные исследования на большой акватории и не соответствуют реальным условиям существования фитопланктона. В частности, в верхнем квазиоднородном слое моря, где создается основная часть первичной продукции, существует ярко выраженный градиент освещенности, в пределах которого природный фитопланктон перемещается. В связи с этим является актуальным развитие экспрессных методов оценки скорости фотосинтеза, которые позволяют преодолеть ограничения традиционных методик. Ранее был предложен метод определения скорости фотосинтеза фитопланктона на основе параметров переменной флуоресценции хлорофилла *a* (Антал и др., 2001), которая позволяет характеризовать состояние фитопланктона в море практически в режиме реального времени. Однако, для точной оценки скорости фотосинтеза фитопланктона по измерениям показателей флуоресценции хлорофилла, возбуждаемой излучением в узком диапазоне длин волн, необходимо учитывать особенности исследуемой акватории. В частности, изменение с глубиной: 1) спектрального состава проникающей радиации, 2) формы спектров, 3) удельных (нормированных на содержание хлорофилла *a*) коэффициентов поглощения света пигментами фитопланктона. В настоящей работе предложена модификация метода (Антал и др. 2001). Она предполагает оценку количества квантов солнечной радиации, которые поглощает пигментная система клеток фитопланктона, с учетом изменения спектрального состава проникающей радиации по глубине и спектров поглощения света фитопланктоном. Предлагаемый алгоритм был протестирован, используя данные определения параметров флуоресценции фитопланктона и биооптических показателей вод, полученные в декабре 2014 г. в глубоководной части Черного моря. В качестве критерия адекватности модельных оценок использовали удельную скорость фотосинтеза - АЧ, поскольку она характеризует фотосинтетическую активность хлорофилла, которая зависит от условий существования фитопланктона, и как следствие, имеет определенную сезонную динамику. Полученные значения АЧ для поверхностного слоя соответствуют типичным для зимы величинам ( $1,7 - 3,3 \text{ мг С (мгХл)}^{-1} \text{ ч}^{-1}$ ) по данным многолетних наблюдений (Финенко и др., 2002).

*Работа выполнена в рамках гранта РФФИ № 1445-01595.*

1. Антал Т.К., Венедиктов П.С., Маторин Д.Н., Возняк Б., Рубин А.Б. // Океанология, 2001, 41, 860 – 869.
2. Финенко З.З., Чурилова Т.Я., Сосик Х.М., Бастюрк О. (2002) // Океанология,- Т.42, N1.- С.53-67.

## Авторский указатель

Crolet J.M .....	317	Багирова О.Ш .....	75
Pitkin E.....	291	Баграташвили В.Н .....	90
Schneider T.R.....	276	Байжуманов А.А.....	76
Аблайханова Н.Т .....	121, 191	Байрамов А.....	324
Аболтин П.В.....	128	Бакирова Д.Р .....	206
Абрамов А.А .....	283	Балабушевич Н.Г.....	193
Абуль-Сауд Абделгафар Мохамед .....	191	Балалаева И.В .....	132, 139, 198
Авдеева Е.И .....	68	Балалева И.В .....	136
Адигеев М.Г.....	8	Баладина А.Н.....	238, 321
Алалыкин А.А .....	101	Балассо А.З .....	287
Александров Е.А .....	69	Балтин М.Э .....	207
Алексеев А.А.....	144, 364	Балтина Т.В.....	252
Алексеев А.В.....	244	Бартенева Т.А .....	89
Алескерова Л.Э .....	34	Барулин Н.В .....	171, 172
Алешин К.Н.....	72	Барышев М.Г .....	356
Алибегашвили М.Р .....	211	Басов А.А.....	356
Алиев Р.Э .....	75	Батай Л.Е.....	171
Алиева М.Ю.....	342, 362, 363, 369	Баташева С.Н .....	114
Алиева Р.Р.....	70	Батяновский А.В .....	11, 12, 29
Аллилугев И.А.....	200	Бауэр Я.З .....	287
Анарбаев М .....	47	Бахчина А.В.....	58
Анашкина А.А .....	9, 20	Бачурин С.О .....	241
Анисимов А.В .....	71	Башарина О.В.....	130, 133
Аносов А.А .....	56	Бегунова Е.А .....	215
Антал Т.К.....	375, 380	Безымянный В.А .....	120
Антонец В.А .....	35, 72, 201	Белевцев М.В .....	145
Антонов В.Г.....	243, 251	Белик А.Ю .....	134, 183
Антонова Н.О.....	225	Белогуров А .....	324
Антонюк Л.П .....	304	Белослудцева Н.В .....	219
Апашева Л.М .....	73	Бельских Ю.С.....	65
Арбуханова П.М .....	65	Белявская Н.А.....	370, 379
Ардашев А.В .....	248	Бердинский В.Л.....	68
Арджа А.Ю.....	202	Березовский Д.П .....	200
Арефьев Р.А .....	97	Беспалова С.В .....	77, 344
Арефьева О.Д .....	91	Бессонов И.В .....	208
Арнольд Ф.З .....	287	Бибов М. Ю.....	36
Артеменко К.С.....	135	Бигдай Е.В.....	78
Артюхов В.Г.....	130, 133, 161, 165, 166, 186	Бинги В.Н .....	79
Арцивадзе К.Л .....	211	Бирюков М.В .....	190
Асанова А.А .....	88	Бобырев П.А .....	345
Астафуров В.И .....	300	Богачева Е.Н .....	37
Астафурова М.В.....	74	Богданенко Е.В.....	313
Асташев М.Е .....	85	Богданов Г.Н.....	279
Атауллаханов Ф.И .....	238, 262, 269, 270, 321	Богомоллов М.А.....	80
Ахвердиева Г.А.....	204	Болотина Л.Н .....	64, 181
Ахманова М.А.....	263	Болотов С.Э.....	346
Ахметов Н.Ф .....	207	Болотова А.А .....	43
Ашина Н .....	10	Большаков М.А .....	131
Ашихмин А.А .....	131	Бондаренко Т.И.....	209
Бабков Л.М .....	301, 302	Бондарь В.С .....	135, 163
Бабушкина Т.А.....	91, 343	Борзенков С.А .....	65
Багаева М.И.....	205	Борисов В.А .....	253
Багиров Р.М.....	75	Бородулин А.....	324

Бородулин Р.Р .....	81	Водка М.В .....	370
Бороздова М.А .....	210	Водчиц А.И.....	171
Бороновский С.Е.....	317, 323	Волкова А.Г .....	242
Бочкарева С.С .....	52	Воловецкий А.Б .....	139, 198
Бочкова А.А.....	140	Воловецкий А.В .....	132
Бочоришвили И.А.....	211	Володькин А.А .....	231
Брагин Д.Е.....	212	Волошин С.В .....	261, 273
Брагина Е.Е.....	205	Волынский П.Е.....	42
Брагина М.И.....	89	Воробьев В.Н .....	69
Брандт Н.Н .....	193	Ворожцова Ю.С .....	273
Браславский А.В .....	215	Воронова Е.Н .....	348
Братковская Л. Б.....	364	Вохмина Ю.В.....	311
Брилкина А.А .....	136	Вшивкова О.А .....	349
Брильков А. В.....	38, 303	Вышенская Т.В.....	43, 47
Брилькова Е. В .....	38, 303	Габбасова Д .....	364, 377
Бриттал Д.И.....	36	Гаджиева И.Х .....	368
Брусков В.И.....	85	Галимова М.Х .....	223
Брянцева Ю.В .....	187	Галкин И.А.....	12
Бубнов В.П .....	285	Галочкина Е.А .....	85
Буглак А.А .....	137, 138, 190, 213	Гамаюнов С.В.....	132, 198
Бугрова А.Е.....	128, 149	Гапеев А.Б .....	82, 83
Будина Д.В .....	361	Гарифуллин А.Д.....	261, 273
Будкевич Р.О.....	44	Гаррье Ж .....	181
Бузало Н.С.....	347	Гатина Ю.С .....	44
Бурбаев Д.Ш .....	81	Гвалдин Д.Ю .....	217
Буренков Г .....	276	Генералов В.М.....	49
Бурьгин Г.Л.....	39, 95	Георгиевская А.М.....	45
Бутов С.Н .....	243, 251	Герасимова М.А .....	159
Бутусов Л.А .....	195	Гетлинг З.М .....	205
Бушук С.Б .....	172	Гиоева Ф.....	324
Бывалов А.А .....	48, 214	Гогвадзе В.Г .....	244
Вазина А.А.....	304, 305	Головко В.А.....	306
Вайнер Б.Г .....	40	Гольшев М.А .....	13
Вакуленко М.Ю .....	249	Гольцев В.Н.....	376
Ванькин Г.И.....	241	Гомберг М.А .....	205
Василенко И.В .....	43	Гончаров А.О.....	218
Васильев А.В .....	344	Горбачёва О.С.....	219
Васильев В.Б .....	221, 276	Гордеева А.Е .....	220
Васильев В.Д.....	305	Гордезиани М. В.....	211
Васильева А.А.....	304	Гордиенко А.П .....	87, 350
Вафина Г.Х.....	357	Горудко И.В.....	221, 265, 266, 267
Вахрушева Т.В.....	267	Горячев Н.С.....	134, 183
Векшин Н.Л .....	215	Горячев С.Н .....	377
Венедиктова Н.И .....	219	Горященко А.С.....	140
Верлов Н.А .....	310	Грабчиков А.С.....	171
Верхуша В.В .....	182	Гребёнкина Н.С.....	84
Веселова Т.В .....	41	Гречникова М.А.....	230
Веснин Р.Л .....	101	Григорьев В.В.....	241
Вечканов Е.М .....	200	Григорьева Д.В .....	221, 222, 266, 267
Вечтомова Ю.Л .....	138, 190	Гриневич А.А.....	281, 307
Винокуров Л.М .....	140	Гришина Е.В .....	117, 223
Вишняков Г.Н .....	52	Громов К.Н .....	308
Владислав Звержховский .....	46	Гроховский С.Л .....	22
Власов П.В.....	179	Губарев А.А .....	351
Внуков В.В .....	200, 216, 217	Гугучкина Т.И .....	55

Гудков С.В.....	83, 85	Ерёмин Е.В.....	282
Гудцова Т.Н.....	89	Еркудов В.О.....	310
Гужова И.В.....	291	Ермакова Г.....	324
Гулиева Р.Т.....	226, 352	Ермаченко П.А.....	347
Гулий О.И.....	95, 224	Ерохин В.Е.....	87
Гулин А.А.....	65	Ерохин В.Н.....	231
Гумматова С.Т.....	155	Ерошкин Ф.....	324
Гуньков В.В.....	162	Есимбекова Е.Н.....	51, 88, 150
Гурия К.Г.....	233	Еськов В.В.....	311
Гурьев Е.Л.....	225	Еськов В.М.....	311
Гурьева Т.С.....	142	Ефимова Т.В.....	380
Гусейнов Т.М.....	226, 352	Ефремов Р.Г.....	42
Гусейнова С.Я.....	352	Железная Л.А.....	304, 305
Давыдова В.Н.....	247	Желяков Е.Н.....	248
Давыдова Н.А.....	301	Животовский Б.Д.....	244
Давыдюк А.В.....	102	Жиленков А.В.....	279
Дадашева О.А.....	142	Жорина Л.В.....	141
Дадинова Л.А.....	276	Жукова Г.В.....	89
Даллакян Г.А.....	353	Забелин А.В.....	304
Даниленко А.О.....	217	Забродин М.А.....	216, 268
Даутова Н.Р.....	71	Загорская Н.Г.....	99
Дашкевич Н.М.....	238, 269, 270, 321	Зайцев Б.Д.....	224
Дегерменджи Н.Н.....	354	Зайцев Б.Н.....	49
Деев С.М.....	225	Заичкина С.И.....	90, 117
Деева А.А.....	88	Зак П.П.....	142, 143
Демарева В.А.....	309	Закржевская Д.Т.....	90
Дёмин В.В.....	190	Замойский В.Л.....	241
Демина И.А.....	238	Замятнин А.А.....	14
Демухамедова С.Д.....	227	Зарайский А.....	324
Демьянова А.В.....	330	Захарова Е.Т.....	276
Дерюгина А.В.....	228	Захарова Н.И.....	182
Дерюгина Н.Н.....	355	Зверев В.В.....	84
Джафаров Р.Х.....	223	Звержховский В.Д.....	43, 47
Джелядин Т.Р.....	27	Звягин А.В.....	225
Джимак С.С.....	356	Земнухова Л.А.....	91, 92
Джумаева Ш.Н.....	233	Земченкова О.В.....	130
Дмитриевский И.М.....	96	Зернов В.А.....	89
Добродумов А.В.....	291	Зернов Ю.П.....	144
Добыш И.И.....	148	Зимин А.А.....	10, 15, 25
Долгов А.А.....	37	Зимин М.И.....	236
Домогатский С.П.....	263	Зинченко А.А.....	16, 21
Доннер К.З.....	143	Златник Е.Ю.....	89
Донцов А.Е.....	229	Зленко Д.В.....	312, 331
Дроботова Д.Ю.....	283	Золотарёва Е.К.....	370
Дроздов А.В.....	86	Зорин В.П.....	64, 145, 181, 288
Дружко А.Б.....	110	Зорина Т.Е.....	145
Дубовский П. В.....	42, 234	Зуев Ю.Ф.....	206
Дуденкова В.В.....	136, 139	Зылькова М.В.....	213
Дудылина А.Л.....	230, 275	Иванов А.В.....	232, 297
Дыкман Л.А.....	224	Иванов В.Е.....	85
Дынник В.В.....	223	Иванов М.В.....	377
Дьяченко А.И.....	218	Иванов Р.С.....	357
Дюкина А.Р.....	90, 117	Иванова М.В.....	230, 275
Евдокимов А.А.....	43, 47	Иванова Э.А.....	357

Ивашина Т.В.....	140	Козлов А.С.....	153, 154
Ивлев Д.А.....	233	Козлова В.В.....	346
Ивлиева И.В.....	301, 302	Колобов А.В.....	237
Игнатов О.В.....	224	Колосеец Н.Л.....	315
Игнатова А.А.....	234	Колосанова Д.А.....	309
Иевков С.А.....	310	Колосов М.С.....	97
Илатовский В.А.....	146	Кольтовер В.К.....	98, 316
Ильичева И.А.....	22	Кольцова Е.М.....	238
Ильичёва Т.Н.....	245	Комарова С.А.....	170
Ионенко И.Ф.....	71, 93	Комиссаров Г.Г.....	73, 146, 164
Исакина М.В.....	271	Коннова С.А.....	95
Исмаилов А.Д.....	34, 147	Кононенко В.Л.....	48, 214
Ишемгулов А.Т.....	235	Кононова И.Е.....	195
Казак Н.С.....	172	Контаров Н.А.....	84
Казачков В.В.....	201, 339, 340	Коншина А.Г.....	42
Казючиц О.А.....	148	Коньшев И.В.....	48, 214
Калаева Е.А.....	94	Копицына М.Н.....	208
Каламкарров Г.Р.....	128, 149	Копылова В.С.....	317
Калачёва Н.В.....	359	Коренбаум В.И.....	239, 240
Калюжный И.М.....	248	Корнеев Д.В.....	49
Камалетдинова Т.Р.....	274	Корниенко В.О.....	360
Камзолова С.Г.....	27	Коробейникова Е.П.....	126
Канаш Е.В.....	358	Коробкина И.А.....	133
Каневский М.В.....	95	Королевич М.В.....	302
Карадулева Е.В.....	242	Коротков Е.В.....	13, 17
Карамзин С.С.....	238, 321	Короткова М.А.....	17
Карандашев В.К.....	98	Космачевская О.В.....	298
Кареев И. Е.....	285	Костевич В.А.....	222, 265, 266, 267, 276
Карелина Н.В.....	208	Костерин С.А.....	98
Карлинский Д.М.....	16	Костив А.Е.....	240
Карнаухов А.В.....	313, 314	Костровицкий Ю.В.....	89
Карнаухов В.Н.....	313, 314	Котельников А.И.....	134, 183, 241, 279, 285
Карнаухова Е.В.....	313	Котельникова Р.А.....	134, 241, 279, 285
Карнаухова Н.А.....	313, 314	Котрикадзе Н.Г.....	211
Карогодина Т.Ю.....	144	Коханов В.С.....	318
Карп О.Е.....	85	Кочарли Н.К.....	155
Кашулин П.А.....	359	Кочкина А.В.....	242
Кириллова М.А.....	150	Кошкин В.А.....	156
Клапшина Л.Г.....	132, 198	Кравацкая Г.И.....	18
Клементьева О.Е.....	54	Кравацкий Ю.В.....	18
КлементьевК.Е.....	151	Кравченко И.Е.....	145
Клемешова И.С.....	213	Крайский А.А.....	50
Климова Т.П.....	343	Крайский А.В.....	50
Кобзева Т.В.....	144	Красников Б.Ф.....	213
Ковалев В.И.....	215	Красновский А.А.....	153, 154
Ковалева В.Д.....	152	Красоткина Ю. В.....	208
Ковалёва Е.А.....	92	Кратасюк В.А.....	51, 150, 168, 169
Ковалева Л.К.....	102	Кременцова А.В.....	231
Коваленко А.В.....	111	Кретушев А.В.....	43
Коваленко И. Б.....	331	Кривенко О.В.....	380
Ковальчук А.В.....	58	Крицкий М.С.....	138, 190
Коган Е.А.....	255	Кролевец И.В.....	216, 268
Кодина Г.Е.....	54	Крошкина А.П.....	8
Кожокару А.Ф.....	96	Крутецкая З.И.....	243, 251
Козель Ю.Ю.....	293	Крутецкая Н.И.....	243, 251



Кручинин И. В.....	319	Литвин Я.А.....	312
Крылов А.В.....	346	Лифанов А.П.....	19
Кубрина Л.Н.....	81	Лихацкая Г.Н.....	247
Кувичкина Т.Н.....	361	Лобакова Е.С.....	45
Кудашов А.А.....	343	Лобанов А.В.....	73, 160, 223
Кудряшева Н.С.....	70, 157	Лобышев В.И.....	100
Кудряшова Н.Ю.....	76	Логинов Ю. Ю.....	303
Кудяшева А.Г.....	99	Лозина Т.А.....	160
Кузнецов Е.Н.....	9	Лукьянов К.....	324
Кузнецов М.Б.....	237, 320	Лукьянова Н.А.....	83
Кузнецов С.И.....	92	Лунёв А.С.....	54
Кузнецов Ю.В.....	229	Лупанова Т.Н.....	274, 278
Кузнецова Е.А.....	90, 277	Лысак Ю.С.....	123
Кузнецова И.М.....	168	Лысенко Н.П.....	54
Кузнецова Т.Е.....	173	Лысенко Ю.А.....	161
Кукушкин В.И.....	134	Любицкий О.Б.....	154
Кулбаева М.С.....	121, 191	Людникова Т.А.....	190
Куликов А.В.....	244	Магомедова М.Х.....	362, 363, 369
Куликов Д.А.....	85	Магомедова М.Ю.....	342
Кулипанов Г.Н.....	304	Маевский Е.И.....	117
Кумскова М.А.....	238	Мазуров М.Е.....	248
Купраш А.Д.....	238, 321	Майстренко Е.В.....	332
Куранова М.Л.....	118	Маклецова М. Г.....	249
Курилкин В.В.....	195	Максимов Е.Г.....	151
Куркина Т.А.....	89, 202	Малаева В.В.....	240
Кустов П.А.....	208	Малахов М.В.....	167
Кутилин Д.С.....	209	Маммаев А.Т.....	342, 362, 363, 369
Кучин А.В.....	372	Манохин А.А.....	82
Кучма Е.А.....	97	Манохина И. А.....	313
Лабынцева Р.Д.....	98	Маргулис Б.А.....	291
Лаврик Н.Л.....	158, 245	Маренный А.М.....	300
Лакомкин В.Л.....	283	Марковский М.Г.....	55
Ландер А.В.....	160	Марсель Анарбаев.....	46
Ланина Н.Ф.....	304	Мартусевич А.А.....	101, 228, 250
Ланкин В.З.....	246, 298	Мартусевич А.К.....	101, 102, 250
Латушко М.И.....	52	Мартынова Н.....	324
Лауринавичюс К. С.....	256	Марченко Я.Ю.....	291
Лащук О.О.....	159	Маряхина В.С.....	162
Лебедева Е.А.....	306	Масленникова А.В.....	139
Левашова Н.Т.....	355	Маторин Д.Н.....	364, 376, 380
Левин Г.Г.....	52	Матросов А.А.....	167
Левин Г.Я.....	124, 294, 295, 296	Махнева З.К.....	131
Левин П.П.....	149	Машукова О.В.....	365
Левич А.П.....	371	Мащенко Н.М.....	89
Лекомцев П.В.....	358	Медведева С.Е.....	135, 177, 178, 329
Лемак М.С.....	53	Мейчик Н.Р.....	103
Лермонтова С.А.....	198	Мелькумянц А.М.....	246
Летута У.Г.....	68	Мельников А. Г.....	111
Леусенко И.А.....	148, 173, 175, 272	Мельников Г. В.....	111
Лидохова О.В.....	129, 165	Мельникова А.А.....	355
Линдстрём М.....	143	Микоян В.Д.....	81
Липш Д.....	287	Микюлинская Г.В.....	15
Лисина О.Ю.....	47	Микюлич А.В.....	148, 173, 174, 175, 272
Лисица А.Е.....	169	Микюлич А.И.....	171

Миленина Л.С.....	243, 251	Новикова Т.М .....	105
Милицкова А.Д.....	252	Новицкая Г.В.....	106
Мильчевский Ю.В .....	11, 12	Новицкий Ю.И .....	106
Милютин Н.П.....	216, 217	Новоселов В.И .....	220, 242, 260
Минаев В.Л.....	52	Носенко Т.Н .....	261
Минлебаев М.Г .....	59, 60	Носовский А.М .....	108
Мионов А.А.....	31	Нуждина А.В .....	208
Мионова Г.Д.....	219	Нурминский Е.А.....	247
Мионова Т.Т.....	50	Образцова А.С .....	31
Михайлов П.А.....	183	Обыденный С.И.....	262
Михалева И.И.....	209	Олехнович Р.О.....	261
Михеева Ю.Ю .....	275	Олешкевич А.А .....	108, 109
Михрина А.Л.....	291	Олькова А.С .....	361
Мишарина Т.А .....	231	Орлов Е .....	324
Могильная О.А .....	163	Орлович В.А.....	171
Моисейкина Е.А .....	302	Осидак М.С .....	263
Молчанов М. В .....	256	Осипов А.А .....	23
Морозов А.С .....	208	Осипов А.Н.....	154, 264
Морозова А.А .....	271	Осипов Ю.А.....	358
Морозова Г.И.....	253	Островский М.А.....	65, 143, 229
Морозова И.Л.....	173	Осяева М.К.....	76
Москаленко А.А.....	131	Павлий С.А .....	224
Мохасеб М.А.....	121	Панас А. И .....	297
Мубаракшина Э.К.....	242	Панасенко О.М.....	221, 222, 265, 266, 267
Муллоев Н.У .....	158	Панина С.Б .....	216, 268
Мурзаева С.В .....	219	Панич А.Е .....	24
Мурина М.А .....	254	Панова Г.Г .....	358
Мухортова О.В.....	346	Панова И.Г .....	57
Наговицын И.А .....	164, 195	Пантелеев М.А.....	238, 262
Надточенко В.А.....	65	Парин С.Б .....	58, 325, 335
Назарова К.Ю.....	148	Пархоменко И.И. ....	183
Назипова Н.Н .....	15	Паршина Е.Ю .....	45
Наквасина М.А.....	129, 165	Паунов М.М .....	376
Нарциссов Я.Р.....	317, 323	Пашовкин Т.Н .....	108, 109
Насибова А.Н .....	366	Пащенко В.З.....	151
Наумова А.А.....	243, 251	Певгов В.Г.....	232
Небольсина А.А .....	166	Перевязка Д.С.....	347
Невежин Е.В.....	167	Перегадов А.С.....	343
Неверова Г.П.....	349, 367	Перетягин П.В.....	115, 116
Некрасов А.Н .....	16, 21	Першукевич П.П .....	174
Некрасова М.М .....	58	Пескова Н.Н .....	198
Немото Э.М.....	212	Петросова К.А.....	54
Немцева Е.В.....	159, 168, 169	Петросян В.И.....	89
Немченко О.Ю .....	56	Петрунина А.А .....	95
Нестеренко А .....	324	Петухов М .....	276
Нефедов А.А .....	144	Печуркин Н.С .....	326
Нечипуренко Д.Ю.....	22	Пивоварова Е.И .....	269, 270
Нечипуренко Ю.Д.....	22	Пикалов В.В .....	52
Нигматуллина Л.Ф.....	15	Пиняев С.И .....	271
Никитин М.В .....	304	Пиняскина Е.В.....	342, 362, 363, 369
Николаев Б.П .....	291	Пиняскина А.В .....	368
Николаева Т.И .....	256	Пирутин С.К.....	110
Новиков В.В .....	104, 343	Плавская Л.Г .....	148, 171, 173, 174, 175, 272
Новиков В.Э .....	170, 257, 258, 259	Плавский В.Ю .....	148, 171, 172, 173, 174, 175, 272
Новикова И.А.....	89	Плеханов В.И .....	132

Плеханова А.Д.....	250	Решетов В.А.....	181
Плотников А.А.....	216, 268	Ризниченко Г. Ю.....	327, 333
Плотникова Л.В.....	261, 273	Рисник Д.В.....	371
Плотникова О. А.....	111	Рихирева Г.Т.....	249
Плюснина Т. Ю.....	327, 333	Рогозин М.М.....	124, 294, 295, 296
Погодина Л.С.....	142	Родичева Э.К.....	135
Покудина И.О.....	328	Родненков О.В.....	76
Полевая С.А.....	58, 325	Розанова О.М.....	90, 117
Полежаев А.А.....	320	Розенкранц А.А.....	274, 278
Полетаев А.В.....	238	Розенталь В.М.....	257, 258, 259
Полетаева Д.А.....	134, 279, 285	Романова В.С.....	285
Полещук В.В.....	249	Романченко С.П.....	90, 117
Полищук А. В.....	379	Романчук С.М.....	344
Полищук М.С.....	255	Ронжин Н.О.....	163
Полищук О.В.....	370	Рощевская И.М.....	315
Положенцев О.Е.....	89	Рощина В.В.....	372
Полюбезьева А.И.....	94	Рубина Б.....	151
Полякова Е.П.....	304	Рубцова Н.А.....	73
Поляничко А.М.....	261	Руденко М.Ю.....	89
Пономарева Н.С.....	24	Рудковский М.В.....	197
Попова Л.И.....	165	Румянцев К.А.....	182
Попова Н.Р.....	85	Румянцева В.Д.....	297
Поповичева А.Н.....	124, 294, 295, 296	Рунова О.Л.....	265
Попцова М.С.....	22	Русак С.Н.....	332
Поройков В.В.....	30	Русаков Д.В.....	358
Поскина Т.Ю.....	236	Рүүге Э.К.....	230, 275, 283, 298
Поспелов Н.А.....	355	Рыбкин А.....	183
Постников В.А.....	50	Рыбкин А.Ю.....	134, 241
Постнов Д.Э.....	280	Рыжковская Е.Л.....	173
Потлов А.Ю.....	176	Рыжов В.А.....	291
Почекутова И.А.....	240	Рысцов Г.К.....	112, 180
Пронкин П.Г.....	188, 189	Рябов А. С.....	297
Проскурин С.Г.....	176	Рязанцев С.В.....	130
Протасова Т.П.....	126	Рясик А.А.....	28
Протопопов Ф.Ф.....	377	Савицкий А.П.....	140
Прудникова О.Н.....	179	Сазыкина С.М.....	186
Псурцева Н.В.....	178	Сакина Н.Л.....	229
Птицын Г.А.....	146	Самойлов В.О.....	78
Пугаченко И.С.....	298	Самойлович М.И.....	305
Пуговкин А.П.....	310	Самыгина В.Р.....	276
Пузырь А.П.....	135, 177, 178, 329	Санин А.Г.....	55, 339, 340
Путинцева О.В.....	94, 166	Свергун Д.И.....	276
Пушкин А.А.....	328	Свешникова А.Н.....	262, 330, 334, 336
Пыж А.Э.....	173	Свидерская И.В.....	373
Радченко Г.С.....	308	Свириева И.В.....	275
Ражнова Н.В.....	257, 258, 259	Селях И.О.....	45
Разнотовская К.А.....	113	Семенов В.А.....	231
Ракитин В.Ю.....	179	Семенова Л.Р.....	45
Ракитина Т.Я.....	179	Семина А.Е.....	355
Ралис Р.В.....	273	Сергеев А.И.....	73, 223
Рамишвили Л.Р.....	211	Сергеев И.В.....	310
Ревин В.В.....	271	Сергеева Е.С.....	344
Решетилов А.Н.....	361	Сергиевич Л.А.....	313
Решетников Д.А.....	112, 180	Сергиенко В.И.....	254

Сердюков Ю.А.....	113	Тарасов Г.В.....	247
Серёгина Е.А.....	284	Татиолов А.С.....	57, 61, 188, 189
Сережникова Н.Б.....	142	Телегина Т.А.....	137, 138, 190
Серикова И.М.....	187	Темлякова Е.А.....	27, 28
Серова М.С.....	309	Темнов А.А.....	220
Сибгатуллин Т.А.....	93, 114	Терентьев А.А.....	183
Сибирцова Е.Н.....	374	Тиманин Е.М.....	62, 282
Сигаева А.О.....	142	Тимербаева С.Л.....	249
Сигида Е.Н.....	39	Тимофеев В.П.....	63
Сидоров Р.В.....	217	Тимошин А.А.....	283
Сидорова А.Э.....	355	Титов А.Ф.....	125
Симонова Н.Б.....	90	Титова А.О.....	284
Симончик А.П.....	264	Титова Л.И.....	378
Синдеев С.В.....	287	Тихазе А.К.....	246
Синцов М.Ю.....	59, 60	Тихонов К.Д.....	64
Сирота Н.П.....	90, 277	Тихонова И.В.....	281
Скарга В.В.....	167	Ткачев Я.В.....	63
Скобликов Н.Э.....	25	Тодоренко Д.А.....	376, 377
Слободкина Е.А.....	244	Токарев Ю.Н.....	120, 187, 365, 374
Смирнова Е.Н.....	117	Топунов А.Ф.....	298
Смирнова С.Л.....	315	Торшин И.Ю.....	12, 29
Смолина А.В.....	241, 279	Тренкеншу Р.П.....	105
Смолина Н.В.....	193	Третьяков А.А.....	225
Сокабаева С.С.....	235	Третьякова А.И.....	148, 171, 173, 174, 175, 272
Соколов А.В.....	221, 222, 265, 266, 267, 276	Трифонов Е.В.....	247
Соколова А.А.....	236	Трофимова Н.Н.....	142
Солдатов А.В.....	89	Трубицына М.С.....	129
Солдатова Ю.В.....	279	Түлеуханов С.Т.....	121, 191
Соловченко А.Е.....	45	Түрабова Г.А.....	75
Соловьева Т.Ф.....	247	Түроверов К.К.....	168, 182
Сомова Л.А.....	326	Түсүпбекова Г.А.....	121, 191
Сорокин А.А.....	26, 27, 28	Түчин В.В.....	210
Сорокина И.А.....	200	Тютюнов Ю.В.....	378
Сорокина С.С.....	90, 117	Тяглик А.Б.....	135
Софронова В.Е.....	375	Уваров В.М.....	339
Спивак И.М.....	118	Узлова С.Г.....	233
Ставровская Е.Д.....	31	Уласов А.В.....	274
Староверов С.А.....	224	Улащик В.С.....	173
Стась Д.В.....	144	Урошлев Л.А.....	29
Стволинский С.Л.....	249	Усачева А.М.....	85
Степанов Г.О.....	264	Успенская М.В.....	261, 273
Стефанов В.Е.....	118	Уткин Ю.Н.....	234
Стовбун С.В.....	205, 312	Файзуллин Д.А.....	206
Стремовский О.А.....	225	Файнгольд И.И.....	241, 285
Ступина Т.С.....	183	Федакова М.А.....	166
Стюхина Е.С.....	280	Федоненко Ю.П.....	39, 95
Султанов Т.Т.....	50	Федоркова М.В.....	193
Сурма С.В.....	118	Федоров В. А.....	331
Суслин В.В.....	187, 380	Федоров В.И.....	194
Суслов М.А.....	71, 114	Федорова Т.Н.....	249
Сучков Д.С.....	59, 60	Федосов И.В.....	210
Счастливая Н.И.....	173	Федотов Д.А.....	373
Сысоев А.А.....	119, 120	Федотчева Н.И.....	223
Сысоева И.В.....	119, 120	Федулова Т.П.....	80
Танканыг А.В.....	281, 307	Федюк О. М.....	379

Фельдман Т.Б .....	65	Шатурный В.И .....	336
Феофанов А.В .....	139, 234	Шахиджанов С.С .....	336
Филатов И.В.....	12, 20, 255	Шварцбург П.М .....	290
Филатова Д.Ю.....	311, 332	Швецова Е.В .....	121, 191
Филатова О.Е .....	332	Шевцов М.А.....	291
Филимонов Д.А .....	30	Шевченко М.А.....	50
Фрисман Е.Я .....	349, 367	Шевченко Т.Ф .....	128, 149
Фролов С.В.....	176, 287	Шейко Е.А .....	292, 293
Фролова М.С .....	215	Шелковская О.В .....	85
Фурсова П.В .....	371	Шепелюк Т.О .....	337
Хакина Е.А.....	134, 183, 279	Шереметьев Ю.А.....	124, 294, 295, 296
Халилов Р.И .....	366	Шерудило Е.Г .....	125
Хапчаева С.А .....	298	Шеховцов П.В .....	256
Харитонов А.А .....	72	Шибаета Т.Г .....	125
Харченко У.В.....	91, 92	Шигаева М.И .....	219
Хижняк Е.П.....	40, 277	Шилов И. П .....	297
Хлебцов Б.Н .....	39	Шилягина Н.Ю .....	132, 139, 198
Хлудеев И.И .....	288	Ширнина Е.А.....	89
Ходасевич И.А .....	171	Ширшин Е.А.....	151
Ходыков М.В .....	22	Ширяев А.Д.....	239
Ходько А.Т .....	123	Шихабудинов А.М.....	224
Холявка М.Г .....	186	Сихлярова А.И.....	89, 126, 202, 292, 293
Хомочкин А.П .....	370	Шишков А.В .....	37
Храмов Р.Н.....	82, 286	Шман Т.В.....	145
Храмцов Ю.В .....	274	Штолько В.Н .....	279
Хренова М.Г.....	140	Шуваев А.Н .....	326
Хрунина М. А .....	88	Шулагин Ю.А .....	218
Хрущев С. С.....	331, 333	Шумаев К.Б.....	128, 230, 275, 298
Цораев Г.В .....	151	Шурубор Е.И .....	213
Чаплыгина А.В .....	281	Щамхалов К. С.....	297
Чевачин А.А .....	72	Щеголев Б.Ф. ....	118
Чеканов А.В .....	265	Щеголев С.Ю .....	39
Челушкин М.А .....	334	Щеголькова Н.М .....	348
Чемерис Н.К .....	281, 307	Щербак ова Д.М.....	182
Червонцева З.С.....	31	Юдинцев А.В .....	225
Чернавская О.Д.....	335	Юминова Н.В .....	84
Черников А.В .....	85	Юров С.С.....	96
Чернов А.С .....	112, 180	Юршенас Д.А.....	82
Чечёткин В.Р .....	18	Юсипович А.И.....	45, 76
Чигогидзе Т. Г .....	211	Юсупов В.И .....	90
Чикишев А.Ю .....	193	Юшко Я.А .....	139
Чудинова Г.К.....	164, 195	Яблокова Е.В.....	104
Чуриков Н.А.....	18	Якиманский А.В.....	198
Чурилова Т.Я.....	380	Яковенко Г.Н.....	338
Чурин А.А .....	45	Яковец И.В .....	64, 145
Чурин Б.В .....	158	Яковлева Л.Ю .....	291
Чуфицкий С. В.....	344	Яковлева М.А .....	65
Шамова Е.В.....	221	Янковский И.В .....	64, 145
Шаповалов Ю.А.....	191	Яхно Т.А .....	55, 339, 340
Шарапов М.Г .....	220	Яхъяева Ф.Р .....	352
Шарифулина С.А .....	196, 197	Яценко В.К .....	97
Шарыгин В.Л.....	289	Яшин В.А .....	314, 372



*Научное издание*

**V СЪЕЗД  
БИОФИЗИКОВ РОССИИ  
4-10 октября 2015 г.**

**МАТЕРИАЛЫ ДОКЛАДОВ  
том 2**

Подписано в печать 10.09.2015. Заказ № 4691.

Формат 60x84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Усл. печ. л. 22,67. Уч.-изд. л. 28,96. Тираж 500 экз.

Издательство Южного федерального университета.

Отпечатано в отделе полиграфической, корпоративной и сувенирной продукции

Издательско-полиграфического комплекса КИБИ МЕДИА ЦЕНТРА ЮФУ

344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 200/1, тел. (863) 247-80-51.

# Sigma-Aldrich®

легендарное качество и широчайший выбор химических реактивов

## в том числе:

- антитела
- антибиотики
- клеточные культуры
- ингибиторы
- ферменты/субстраты
- нуклеотиды
- белки, пептиды
- буферы
- липиды, углеводы
- красители

ООО «Сигма-Алдрич Рус»  
105062 Москва, ул. Макаренко,  
д-2/21, стр. 1, оф. 22.  
Тел: 8-800-100-7425,  
E-mail: ruorder@sial.com  
[sial.com/russia](http://sial.com/russia)

SIGMA ALDRICH Fluka SUPELCO SACS

SIGMA-ALDRICH®





# Микрофлюидика Dolomite

АНАМ

Микрофлюидика **Dolomite** позволяет работать с очень малыми количествами жидкостей, газов, частицами, каплями, клетками животного, растительного и бактериального происхождения с возможностью наблюдать, управлять и контролировать процессы. Это дает возможность проводить «традиционные» исследования в миниатюрном формате, а также проводить исследования, которые ранее были невозможны.

## Особенности и возможности микрофлюидики **Dolomite**

- работа с микро- и нанобъемами (диаметр канала от 10 нм);
- высокая воспроизводимость: точность дозирования – порядка пиколитра;
- точный контроль параметров процесса: температуры, скорости потоков, давления, смешивания;
- большая библиотека «стандартных» чипов;
- чипы произвольной конфигурации и геометрии: многослойные и составные чипы с разными свойствами поверхности каналов, интеграция на одном чипе различных стадий процессов для ускорения и автоматизации методик исследований;
- интеграция с приборами, детекторами, системами пробоподготовки и сенсорами (хроматографами, масс-спектрометрами, лазерами, спектрофотометрами, микроскопами и т.д.).



## Биология, диагностика и медицина

- кристаллизация белков (для рентгеноструктурного анализа);
- качественный и количественный анализ фрагментов НК на чипе капиллярного электрофореза;
- чипы для секвенирования НК;
- цифровая капельная ПЦР для количественной ПЦР-диагностики с высокой точностью;
- анализы крови (биохимические, ИФА, на глюкозу и т.д.);
- изоляция ДНК из цельной крови;
- наблюдение за иммобилизованными эмбрионами и клетками.

Москва ■ тел./факс: (495) 745-0508 ■ sales@dia-m.ru ■ www.dia-m.ru

### Новосибирск

пр. Асод,  
Павлентьева, 6/1  
тел./факс:  
(383) 328-0048  
nsk@dia-m.ru

### Казань

ул. Парашеиной,  
Ваннухи, д. 6  
тел./факс:  
(843) 210-2080  
kazan@dia-m.ru

### Санкт-Петербург

ул. Профессора  
Попова, 25  
тел./факс:  
(812) 372-0040  
spb@dia-m.ru

### Ростов-на-Дону

пер. Сенявко, 114  
тел./факс:  
(863) 250-0006  
rd@dia-m.ru

### Пермь

Представитель  
и УФО  
тел./факс:  
(342) 202-2238  
perm@dia-m.ru

### Воронеж

тел./факс:  
(473) 232-4412  
voronezh@dia-m.ru