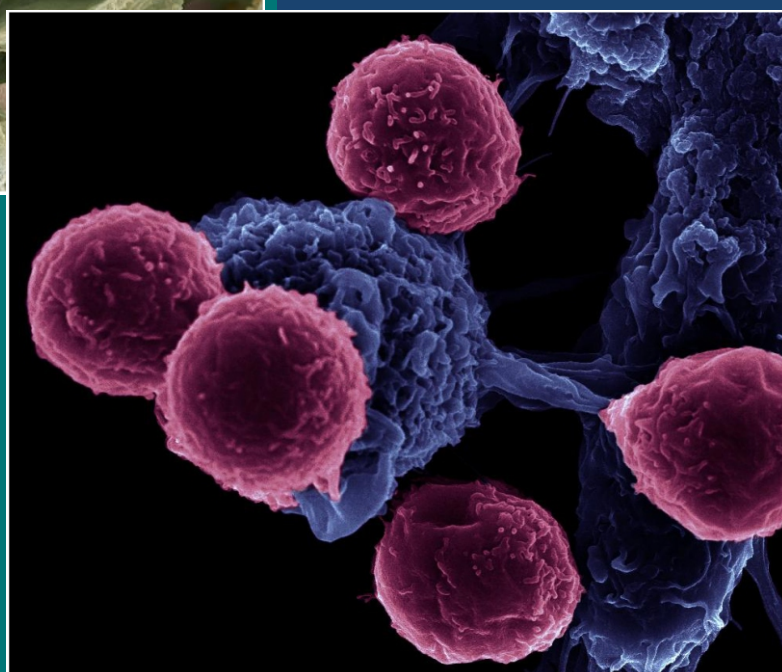


VI Съезд биофизиков и России

Сборник научных трудов

Том. 2



КУБАНСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ

16 - 21.09.2019 (г. Сочи)

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
ОТДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК РАН
СЕКЦИЯ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ РАН
НАЦИОНАЛЬНЫЙ КОМИТЕТ РОССИЙСКИХ БИОФИЗИКОВ
МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. М.В.ЛОМОНОСОВА
КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИНСТИТУТ АНАЛИТИЧЕСКОГО ПРИБОРОСТРОЕНИЯ РАН
ИНСТИТУТ ПРИКЛАДНОЙ ФИЗИКИ РАН
ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ КЛЕТКИ РАН
ИНСТИТУТ ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОФИЗИКИ РАН
ИНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ ИМ. В.А. ЭНГЕЛЬГАРДА РАН
ООО «ВОДОРОДНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ» (Г.КРАСНОДАР)

| | | |
|---|---|---|
| Организационный комитет: | Рубин А.Б., член-корр. РАН - председатель 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 Барышев М.Г., проф., д.б.н. - зам. председателя Дроздов А.В., к.ф.-м.н. - зам. председателя Анашкина А.А., к.ф.-м.н. - ответственный секретарь | Есипова Н.Г., к.ф.-м.н. Кирпичников М.П., академик РАН Колчанов Н.А., академик РАН Комаров В.М., проф., д.б.н. Кочетков С.Н., чл.-корр. РАН Курочкин В.Е., д.т.н. Макаров А.А., академик РАН Макеев В.Ю., член-корр. РАН Моренков О.С., д.б.н. Нечипуренко Д.Ю., к.ф.-м.н. Никольский Н.Н., академик РАН Островский М.А., академик РАН Розанов А.Ю., академик РАН Скулачев В.П., академик РАН Твердислов В.А., проф., д.ф.-м.н. Ткачук В.А., академик РАН Туманян В.Г., проф., д.ф.-м.н. Устинин М.Н., д.ф.-м.н. Фрисман Е.Я., чл.-корр. РАН Цыганков А.А., д.б.н. Шувалов В.А., академик РАН |
| | Аллахвердиев Сулейман Ифхан оглы, д.б.н. Артюхов В.Г., проф., д.б.н. Белецкий И.П., проф., д.б.н. Белова Н.А., д.б.н. Вихлянцев И.М., д.б.н. Владимиров Ю.А., академик РАН Воденеев В.А., д.б.н. Волотовский И.Д., академик РАН Гительзон И.И., академик РАН Григорьев А.И., академик РАН Гурский Г.В., чл.-корр. РАН Гусев Н.Б., чл.-корр. РАН Дегерменджи А.Г., академик РАН | |
| Программный комитет: | Рубин А.Б., член-корр. РАН - председатель Есипова Н.Г., к.ф.-м.н. - зам. председателя | Николаев Е.Н., член-корр. РАН Петрушанко И.Ю., к.ф.-м.н. Плюснина Т.Ю., к.ф.-м.н. Ризниченко Г.Ю., проф., д.ф.-м.н. Рошупкин Д.И., проф., д.б.н. Соболев А.С., проф., д.б.н. Тихонов А.Н., 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., чл.-корр. РАН Хрущев С.С., к.б.н. Черенкевич С.Н., академик РАН Шайтан К.В., проф., д.ф.-м.н. Яковенко Л.В., д.ф.-м.н. Яхно В.Г., проф., д.ф.-м.н. |
| | Атауллаханов Ф.И., член-корр. РАН Браже А.Р., к.б.н. Браже Н.А., к.б.н. Ванин А.Ф., проф., д.ф.-м.н. Василевский Ю.В., проф., д.ф.-м.н. Габитов А.Г., академик РАН Галль Л.Н., д.ф.-м.н. Зинченко В.П., д.ф.-м.н. Красавин Е.А., член-корр. РАН Крицкий М.С., проф., д.б.н. Лахно В.Д., д.ф.-м.н. Макеев В.Ю., член-корр. РАН Максимов Г.В., проф., д.б.н. Намиот В.А., проф., д.ф.-м.н. | |
| Локальный организационный комитет (КубГУ): | Барышев М.Г., профессор РАН, д.б.н. - председатель Джимак С.С., к.б.н. – зам. председателя Елкина А.А. - ответственный секретарь | Ильченко Г.П., к.ф.-м.н. Копытов Г.Ф., д.ф.-м.н., профессор Петриев И.С., к.т.н. Текуцкая Е.Е., к.х.н. Шашков Д.И., преподаватель |

Сдано в набор 26.07.2019. Подписано печать 25.08.2019

Формат 60×84/8. Бумага офсетная. Гарнитура Times New Roman

Отпечатано с готового оригинал макета в ООО Полиграфическое объединение «Плехановец»

Фотографии на обложку взяты с разрешения компании Thermo Fisher Scientific с сайта: www.fei.com

Научные труды VI Съезда биофизиков России опубликованы при финансовой поддержке

Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 19-04-20089)

Тираж 600 экз.

DOI: 10.31429/SbR6.2019.001
ISBN 978-5-8209-1644-1



**СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ VI СЪЕЗДА БИОФИЗИКОВ
РОССИИ: в 2 томах, том 2 – Краснодар: Полиграфическое
объединение «Плехановец», 2019**

Представлены материалы VI Съезда биофизиков России. Основные направления Съезда: механизмы действия физико-химических факторов на биологические системы; медицинская биофизика; фотобиология и биофотоника; структура и динамика белков и их комплексов; структура и динамика нуклеиновых кислот и их комплексов; биофизика клетки; мембранные процессы; биологическая подвижность; молекулярные моторы; механизмы трансформации энергии; биофизика одиночных молекул; нанобиотехнологии; нейродинамика и нейробиология; биофизическое образование.

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. Г.Ю. Ризниченко, А.А. Анашкина

Проведение VI Съезда биофизиков России поддержано Российским фондом фундаментальных исследований (грант № 19-04-20089)



The materials of the VI Congress of Biophysicists of Russia are presented. The main directions of the Congress: mechanisms of action of physico-chemical factors on biological systems; medical biophysics; photobiology and biophotonics; structure and dynamics of proteins and their complexes; structure and dynamics of nucleic acids and their complexes; cell biophysics; membrane processes; biological mobility; molecular motors; energy transformation mechanisms; biophysics of single molecules; nanobiotechnology; neurodynamics and neurobiology; biophysical education.

The collection is intended for biophysicists, biochemists, molecular biologists, specialists working in various fields of physical and chemical biology. It can also be useful for undergraduate and postgraduate students specializing in this area of knowledge.

Responsible editors: Corr. RAS A.B. Rubin, prof. G.Yu. Riznichenko, A.A. Anashkina

The VI Congress of Russian Biophysicists was supported by the Russian Foundation for Basic Research (grant No. 19-04-20089).

Партнеры VI Съезда биофизиков России:



**Кубанский государственный университет
2019**

Секция 11. Действие физико-химических факторов на биологические системы.

АКТИВАЦИЯ СИНТЕЗА МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК СОПРЯЖЕНА С УВЕЛИЧЕНИЕМ ЕЕ МУТАНТНЫХ КОПИЙ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ПРОТОНАМИ С ЭНЕРГИЕЙ 150 МЭВ

ACTIVATION OF MITOCHONDRIAL DNA SYNTHESIS IS CONSTRAINED WITH THE INCREASE OF ITS MUTANT COPIES IN THE RAT'S BRAIN AFTER IRRADIATION BY PROTONS WITH ENERGY 150 MEV

Абдуллаев С.А., Буланова Т.Е.¹, Газиев А.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, Пущино

¹Объединённый институт ядерных исследований, Дубна

Исследования молекулярно-клеточных нарушений, возникающих на начальных этапах после воздействия ионизирующих излучений (ИИ) на головной мозг, представляются важными для поиска путей снижения индукции онкогенеза и когнитивных дисфункций [1, 2]. Развитие этих исследований востребовано в связи с широким использованием ИИ в терапии опухолей мозга. Отсутствие достаточных знаний по воздействию космической радиации, в которой протоны занимают более 80% излучения глубокого космоса, на здоровье космонавтов, представляется ограничивающим фактором для космических миссий за пределы околоземной орбиты [3]. Ряд данных показывает, что нарушения функций митохондрий играют ключевую роль в развитии нейродегенеративных нарушений и инициации онкогенеза. В данной работе исследовали репарацию ядерной ДНК (яДНК) и изменения общего количества копий митохондриальной ДНК (мтДНК), а также гетероплазмии (уровень мутантных копий) мтДНК в трех регионах мозга (в гиппокампе, коре и мозжечке) крыс, облученных протонами в дозе 3 и 5 Гр (E=150 МэВ) на установке фазотрон медико-технического комплекса Лаборатории ядерных проблем ОИЯИ, Дубна. В экспериментах использованы методы количественной ПЦР на протяженных фрагментах ДНК (ПЦР-ПФ) и ПЦР в реальном времени, а также метод расщепления гетеродуплексов продуктов ПЦР мтДНК Surveyor нуклеазой. Результаты показывают, что репарация яДНК (в трех областях мозга крыс) протекает медленно в течение 24 часов после облучения. Гораздо медленнее происходит репарация яДНК в гиппокампе. Восстановление мтДНК в трех участках мозга крыс после их облучения происходит более активно, по сравнению с яДНК. Наблюдаемое резкое восстановление мтДНК, возможно, обусловлено пострадиационной активацией биогенеза митохондрий с синтезом мтДНК в тканях мозга облученных крыс. Предполагаемая пострадиационная активация биогенеза митохондрий согласуется с результатами анализов, полученных методом ПЦР в реальном времени, которые показывают, что количества копий мтДНК увеличиваются относительно яДНК в регионах мозга крыс (гиппокамп, коры и мозжечка) в течение 2-24 часов после облучения их голов в дозах 3 и 5 Гр. При этом максимальные повышения количества копий мтДНК мы регистрируем в гиппокампе. При инициации репликативного синтеза с вовлечением поврежденных мтДНК, посредством ДНК-полимеразы γ , можно было ожидать появления новых копий мтДНК с мутациями и делециями в клетках головного мозга крыс после их облучения ИИ. Для оценки мутантных копий мтДНК после облучения крыс в дозе 3 Гр дополнительно использовались временные точки – через 2 недели, 1 и 2 месяца. От исследований после облучения в дозе 5 Гр в эти же сроки воздержались так, как возможна гибель животных. Результаты анализов показывают, что во всех трех участках головного мозга облученных крыс в дозах 3 и 5 Гр возникает резкое увеличение количества мутантных копий мтДНК. Так, к 24 часам после облучения в дозе 5 Гр количество мутантных копий мтДНК в участках мозга достигает около 25-35% от общего количества копий мтДНК в этих тканях. При облучении крыс в дозе 3 Гр максимальный уровень мутантных копий мтДНК регистрируется через 2 недели и составляет около 20-30%, в последующие же сроки после облучения крыс количество мутантных копий существенно снижается. В регионе гиппокамп наблюдается самый большой уровень мтДНК с мутациями. Так, в гиппокампе статистически достоверное повышение мутантных копий мтДНК, по сравнению с данными анализа мтДНК коры и мозжечка, наблюдается к 6 и 24 часам после облучения крыс в дозе 5 Гр. При облучении крыс в дозе 3 Гр в гиппокампе статистически достоверное повышение мутантных копий мтДНК, по сравнению с данными анализа мтДНК коры и мозжечка, регистрируется через 24 часа и 2 недели после их облучения. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что активность репарации яДНК, синтез мтДНК и уровень ее мутантных копий, различаются в гиппокампе, коре и мозжечке головного мозга крыс, облученных протонами в различных дозах и в разное время после их облучения. Эти изменения могут привести к митохондриальной дисфункции с повышением окислительного стресса в регионах головного мозга, и могут быть сопряжены с развитием отдаленных последствий воздействия ИИ.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 17-29-01007 офи_м.

1. Hladik D., Tapio S. Effects of ionizing radiation on the mammalian brain // *Mutat. Res.* 2016. V. 770. P. 219-230.
2. Casciati A. et al. Age-related effects of X-ray irradiation on mouse hippocampus // *Oncotarget.* 2016. V. 7. P. 28040.
3. Townsend LW. Implications of the space radiation environment for human exploration in deep space // *Radiat Prot Dosimetry.* 2005. V. 115. P. 44-50.

**ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ЯДЕРНАЯ И МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДНК В МОЧЕ – НЕИНВАЗИВНЫЕ
БИОМАРКЕРЫ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ФИЗИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ
ФАКТОРОВ**

**URINARY CELL-FREE NUCLEAR AND MITOCHONDRIAL DNA – NONINVASIVE CELL
DEATH BIOMARKERS BY PHYSICAL AND CHEMICAL FACTORS**

Минкабирова Г.М., Абдуллаев С.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, Пущино

Клеточная гибель в тканях человека и животных представляет собой активный процесс, поддерживающий обновление клеточных популяций, функциональную целостность и гомеостаз тканей. С активностью клеточной гибели сопряжены уровни содержания фрагментов внеклеточной ДНК (вк-ДНК) в биологических жидкостях млекопитающих. Ранее в нашей лаборатории было показано значительное повышение содержания вк-ядерной ДНК (вк-ядДНК) и митохондриальной ДНК (вк-мтДНК) в плазме/сыворотке мышей, подвергнутых воздействию ионизирующей радиации [1, 2]. В настоящее время качественные и количественные изменения вк-ДНК в кровотоке человека рассматриваются как биомаркер для быстрой оценки лучевой реакции и как диагностическая и прогностическая «жидкая биопсия» в процессе радио-, химиотерапии опухолей. Циркулирующие фрагменты вк-мтДНК и вк-ядДНК, поступающие в кровоток животных, возможно, подвергаются нуклеазной деградаци, но определенная ее часть, защищенная от действия нуклеаз, может оказаться в моче, как трансрентальная ДНК [3]. Учитывая интерес к данной проблеме, мы исследовали возможность повышения экскреций вк-ядДНК и вк-мтДНК с мочой облученных крыс, а также после введения цитостатического препарата – блеомицина. Анализ трансрентальной вк-ДНК был интересен не только для тестирования ее содержания неинвазивным методом, но и для выяснения возможностей вк-ДНК преодолевать почечный барьер у облученных животных. В экспериментах были использованы 3-х месячные самцы крыс линии Wistar. Облучение крыс проводили на оборудовании ЦКП «Источники излучений» ИБК РАН – рентгеновской установке RUT-250-15-1 в дозах 3, 5 и 8 Гр. Блеомицин вводили внутривентриально в концентрациях 3, 7, и 10 мг/кг. Методом ПЦР-РВ было исследовано количественное содержание вк-ядДНК и вк-мтДНК в образцах мочи, изучена динамика изменения общего количества копий мтДНК относительно яДНК в разные сроки (от 6 часов до 30 дней) и дозы после облучения. Результаты анализов показали, что уровень общего количества мтДНК и яДНК в моче облученных крыс зависит как от пострентационного времени, так и от дозы облучения. Показано, что содержание вк-ядДНК и вк-мтДНК имеет линейную зависимость от дозы рентгеновского излучения. Так, самые большие количества копий мтДНК и яДНК регистрировались в период от 6 до 24-х часов после облучения. Количество продуктов ПЦР-амплификации вк-мтДНК в 2-3 раза выше, по сравнению с таковыми вк-ядДНК. Данные анализов содержания вк-ядДНК и вк-мтДНК в моче у крыс после введения блеомицина также показали их повышенные уровни по сравнению с контрольными животными. Показано, что содержание вк-ядДНК и вк-мтДНК линейно зависит от дозы препарата. Таким образом, результаты проведенного исследования показали возможность преодоления у животных вк-мтДНК и вк-ядДНК трансрентального (почечного) барьера и их перехода в мочу после рентгеновского облучения, а также после введения блеомицина. Удалось выяснить дозовую зависимость этого процесса. Таким образом, повышенное содержание циркулирующей внеклеточной ДНК в моче можно рассматривать как потенциальный биомаркер для оценки уровня генотоксического груза при радиационном поражении организма, а также при воздействии других генотоксических агентов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов № 16-34-00832.

1. Абдуллаев С.А., Анищенко Е.С., Газиев А.И. Мутантные копии митохондриальной ДНК в тканях и в плазме мышей, подвергнутых воздействию рентгеновским излучением // Радиационная биология. Радиоэкология. 2010. Т. 50. № 3. С. 318-328.
2. Абдуллаев С.А., Антипова В.Н., Газиев А.И. Содержание внеклеточной митохондриальной ДНК с мутациями резко повышено в плазме крови облученных мышей. // Молекулярная биология. 2009. Т. 43. № 6. С. 1063-1069.
3. Abdullaev S.A., Minkabirova G.M., Bezlepkin V.G., Gaziev A.I. Cell-free DNA in the urine of rats exposed to ionizing radiation // Radiat. Environ. Biophys. 2015. V. 54. № 3. P. 297-304.

МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК И ЭКСПРЕССИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ГЕНОВ В РАЗНЫХ УЧАСТКАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС, ОБЛУЧЕННЫХ ПРОТОНАМИ

DNA METHYLATION AND MITOCHONDRIAL GENE EXPRESSION IN DIFFERENT RAT BRAIN REGIONS AFTER PROTON EXPOSURE

Евдокимовский Э.В., Губина Н.Е., Абдуллаев С.А., Газиев А.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, Пущино

Достиженные в последнее время успехи в области радиобиологии показывают, что митохондриальная ДНК (мтДНК) является важной мишенью для ионизирующего облучения. Помимо непосредственного повреждения структуры мтДНК, вызванного действием ионизирующего излучения, в клетках могут происходить изменения и на эпигенетическом уровне, даже спустя значительные сроки с момента воздействия ионизирующего излучения. Такие изменения могут иметь важные последствия для нормального функционирования клеток. Мы исследовали изменение уровня метилирования мтДНК, а также изменения в экспрессии митохондриальных и ядерных генов, контролирующих функции митохондрий в гиппокампе, коре и мозжечке крыс, облученных протонами в дозе 3 и 5 Гр ($E=150$ МэВ) на установке фазотрон медико-технического комплекса Лаборатории ядерных проблем ОИЯИ, Дубна. Для исследования были выбраны митохондриальные гены ND2, CytB, ATP6, кодирующие субъединицы I и III комплекса дыхательной цепи митохондрий, а также субъединицу митохондриальной АТФ-синтазы. Также для исследования были выбраны ядерные гены, считающиеся критически важными для полноценного функционирования митохондрий: TFAM (митохондриальный транскрипционный фактор), PGC-1 α (коактиватор биогенеза митохондрий), Fis1 (белок-регулятор слияния митохондрий), Mfn1 (белок-регулятор деления митохондрий). Результаты, полученные нами с помощью метода ПЦР в реальном времени, показали, что во всех трёх исследованных тканях, происходит снижение экспрессии митохондриальных генов через 6 и 24 часа после облучения протонами, независимо от дозы облучения. При этом снижения количества транскриптов ядерных генов в исследованных тканях не происходит. Это может говорить о нарушении целостности мтДНК, являющейся основной мишенью для воздействия ионизирующего излучения. Для того, чтобы изучить отдалённые последствия воздействия тяжелых заряженных частиц на функционирование мтДНК, нами исследовался уровень метилирования мтДНК во всех трёх тканях головного мозга крыс после облучения их протонами в дозе 3 Гр, а также рентгеновским облучением в дозе 5 Гр. Нами обнаружено, что в мозжечке не происходит значимых изменений в уровне метилирования мтДНК по сравнению с контролем, как при облучении протонами, так и рентгеновским излучением. В коре головного мозга, а также в гиппокампе, происходит снижение уровня метилирования мтДНК на 30% через 4 и 8 недель после облучения, независимо от типа ионизирующего излучения. Полученные нами результаты могут представлять интерес при изучении отдалённых последствий влияния ионизирующего излучения на эпигенетические факторы регуляции митохондриального генома, в частности при изучении последствий лучевой терапии при облучении онкобольных. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 17-29-01007 офм_м.

СУПРАМОЛЕКУЛЯРНАЯ ФИЗИКА ПРИ РЕШЕНИИ РЯДА БИОФИЗИЧЕСКИХ ПРОБЛЕМ SUPRAMOLECULAR PHYSICS FOR SOLVING SOME BIOPHYSICAL PROBLEM

Авакян С.В., Баранова Л.А.¹

ВНЦ «Государственный оптический институт им. С.И. Вавилова», Санкт-Петербург

¹Физико-технический институт им. А.Ф.Иоффе, Санкт-Петербург, l.baranova@mail.ioffe.ru

Представлены итоги рассмотрения роли элементарных процессов из физики молекулярных столкновений и физической оптики в воздействии микроволнового излучения на водосодержащие биорастворы. Все исследования выполнены в рамках новой концепции – супрамолекулярной физики окружающей среды, названной по аналогии с супрамолекулярной химией [1]. Это физика надмолекулярных структур (кластеров – ассоциатов), в эволюции которых к сложным формам участвует внешний источник микроволнового излучения в диапазоне от 1 мм до 10 дм. Первичным актом ассоциатообразования является перенос протона от одной молекулы воды к другой из-за высокой величины её сродства к протону [2]. Положительный заряд образующегося комплексного иона нейтрализуется в течение $\sim 10^{-12}$ сек с захватом электрона на высоковозбужденный электронный (ридберговский) энергетический уровень (до ~ 10 эВ и выше). Тонкая структура каждого ридберговского уровня с главным квантовым числом n состоит из подуровней с различными величинами орбитального квантового числа l , значения которого лежат в интервале от нуля до $n-1$. Электрические дипольные переходы (с поглощением и излучением кванта) между подуровнями тонкой структуры разрешены для $\Delta l = \pm 1$. При сравнительно небольших n длины волн этих переходов

располагаются в микроволновом диапазоне, а вероятности ассоциатообразования сильно зависят от величины l и значительны при $l \geq 2$, поскольку при этом орбита электрона перестает заходить в ионный остов, когда возможен развал образующегося ассоциата. Такая схема ассоциатообразования в рамках развиваемой супрамолекулярной физики [3,4] полностью соответствует критериям [5] и не имеет проблемы kT .

Выполненные исследования привели к следующим результатам [3,4]:

- выявлен реальный физический механизм солнечно-биосферных связей («гелиобиология» по терминологии А.Л.Чижевского), обусловленный воздействием на биологические объекты спорадически усиливающихся в периоды гелиогеомагнитных возмущений потоков микроволн из земной ионосферы [6];

- предложена совокупность процессов ассоциатообразования в водосодержащих биорастворах крайне высокой степени разбавленности вплоть до $10^{-20}M$ [4];

- представлено объяснение аномального поведения высокоразбавленных биорастворов в условиях электромагнитного экранирования;

- обоснована необходимость учета в биоэнергетике живого организма ридберговского возбуждения биосред: при индуцированном испускании микроволнового кванта в направлении, совпадающем с падающим потоком микроволн от внешнего источника, и при столкновительной (безизлучательной) передаче в биорастворах энергии ридберговского возбуждения биокомпонентам, включая ДНК [4];

- обсужден вклад постоянно возрастающего (в 10 раз каждые пятнадцать лет [7]) уровня антропогенного электромагнитного шума в давление на биосферу, включая человека.

Согласно нашим оценкам [8], полученные результаты дают возможность предложить физические обоснования для построения моделей, способствующих решению ряда биофизических проблем [9], включая природу митогенетических лучей (А.Г. Гурвич), явления дистантных межклеточных электромагнитных взаимодействий (В.П. Казначеев), причины аномального поведения ДНК, вирусов и бактерий (L. Montagnier), а также использовать подходы супрамолекулярной физики в медицинской биофизике [3, 4].

1. Lehn J-M. Supramolecular chemistry. Concepts and Perspectives. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, N.-Y., Basel, Cambridge, Tokio, 1995.

2. Herzberg G. Rydberg molecules // Ann. Rev. Phys. Chem. 1987. Vol. 38. P. 27-56.

3. Авакян С. В. Супрамолекулярная физика окружающей среды: климатические и биофизические эффекты // Вестник РАН. 2017. Т. 87. №5. С. 458-466.

4. Авакян С. В., Баранова Л.А. Влияние электромагнитного излучения окружающей среды на ассоциатообразование в высокоразбавленных водных растворах // Биофизика. 2019. Т. 64, №1. С. 12-20.

5. Сент-Дьёрдьи А. Введение в субмолекулярную биологию. М. Наука, 1964.

6. Авакян С.В. Физика солнечно-земных связей – некоторые результаты, проблемы, и новые подходы // Геомагнетизм и аэронавигация. 2008. Т.48. №4. С. 435-442.

7. Стожаров А.Н. Медицинская экология: учебное пособие. Выш. шк., Минск, 2007, с.270.

8. Авакян С. В., Баранова Л.А. Как геокосмос управляет биосферой? 1. Влияние электромагнитного излучения окружающей среды на ассоциатообразование в биорастворах крайне низких концентраций в поле микроволнового излучения земной ионосферы. 2. ДНК, ионосферное микроволновое излучение и вода // Материалы 12-ой международной школы-конференции «Проблемы геокосмоса», Санкт-Петербург, Петергоф, 8-12 октября 2018 г., СПб. Изд-во ВВМ, 2018, с. 285-296.

9. Галль Л.Н., Физические принципы функционирования материи живого организма. СПб. Изд-во Полит. Университета, 2014.

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ВОЛН МИЛЛИМЕТРОВОГО ДИАПАЗОНА НА ДНК И ДНК-ЛИГАНД КОМПЛЕКСЫ В ВОДНО-СОЛЕВОМ РАСТВОРЕ

EFFECT OF MILLIMETER RANGE ELECTROMAGNETIC WAVES ON DNA AND DNA-LIGAND COMPLEXES IN WATER-SALINE SOLUTION

Антонян А.П., Шагинян М.А., Микаелян М.С., Вардеванян П.О.

Ереванский Государственный Университет, Ереван, Армения, arant@ysu.am

Одним из важных физических факторов биосферы является электромагнитное излучение (ЭМИ), которое оказывает существенное влияние на живые организмы различного уровня организации. В последние десятилетия особое значение приобретает миллиметровый диапазон ЭМИ, который, несмотря на то, что имеет крайне низкую проникаемость через вещество, тем не менее проявляет значительное биологическое влияние. Исследования последних лет на молекулярном уровне показывают, что биологическое влияние ММ ЭМВ осуществляется опосредовано, через воду, которая имеет несколько резонансных пиков поглощения при частотах – 50.3; 51.8; 64.5 и 100 ГГц. Поскольку в водной среде биомолекулы высоко гидратированы, то очевидно, что ММ ЭМВ могут влиять на их структурно-функциональные характеристики. Так, известно, что при функционировании ДНК может менять свою конформацию, что происходит в результате изменения

степени гидратированности. Также показано, что изменение гидратации ДНК наблюдается и при связывании с лигандами. Изменения степени гидратации комплексов имеют существенный термодинамический вклад, определение которого очень важно для выяснения энергетики связывания лигандов с ДНК. В частности, исследования облученных в области КВЧ ЭМВ 64,5 ГГц с плотностью потока мощности ≈ 50 мкВ/см² и необлученных комплексов интеркалятора бромистого этидия (БЭ) и АТ специфического и желобково связывающегося соединения Hoechst 33258 (Н33258) с ДНК выявили, что облучение приводит к дополнительной стабилизации образовавшихся комплексов в случае обоих лигандов. Этот факт, вероятнее всего обусловлен тем, что облучение водно-солевых растворов ДНК и ДНК-лиганд комплексов приводит к изменениям в структуре воды, вследствие чего ее молекулы начинают структурироваться в локальном окружении ДНК и ее комплексов с лигандами. Это приводит к увеличению размеров гидратной оболочки макромолекулы, что, в свою очередь, усиливает стабилизирующее влияние лигандов на двухцепочечную структуру ДНК. Более того, проведенные нами исследования выявили, что, в результате облучения комплексов ДНК с Н33258 при относительно больших ионных силах раствора ($\mu \geq 2$ мМ), происходит качественное изменение механизма взаимодействия, поскольку этот лиганд начинает связываться с ДНК интеркаляционным способом. Такой эффект ранее был выявлен в зависимости от ионной силы раствора – при ионной силе $\mu > 2$ мМ Н33258 локализуется в малом желобке ДНК, проявляя ярко выраженную АТ специфичность, при $\mu \leq 2$ мМ этот лиганд связывается интеркаляционным способом [1].

Таким образом, на основании экспериментальных исследований мы заключаем, что облучение водно-солевых растворов комплексов ДНК с лигандами приводит к существенным изменениям структуры воды, что в свою очередь приводит к значительным изменениям термодинамических характеристик ДНК-лиганд комплексов, на основании чего можно заключить, что:

- Облучение резонансными для воды частотами водно-солевых растворов комплексов ДНК с Н33258 и EtBr приводит к увеличиванию структурированности воды в локальном окружении ДНК и ее комплексов с лигандами, что, в свою очередь, усиливает стабилизирующее влияние этих лигандов на двухцепочечную структуру воды;
- Облучение водно-солевых растворов комплексов Н33258 с ДНК приводит к изменению механизма связывания этого лиганда, что обусловлено степенью гидратированности последней.

В настоящее время аналогичные исследования проводятся по взаимодействию метиленового синего с ДНК. Этот лиганд в настоящее время широко применяется в медицине, а также в геносенсорных технологиях [2].

1. Vardevanyan P.O., Antonyan A.P., Parsadanyan M.A., Pirumyan K.V., Muradyan A.M., Karapetian A.T. Influence of ionic strength on Hoechst 33258 binding with DNA // J Biomol Struct Dyn. 2008. Vol. 25. P. 641.
2. Kavita V. DNA Biosensors-A Review // J of Bioengineering and Biomedical Sci. 2017. Vol. 7. P. 222.

НЕТЕРМИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ТЕРАГЕРЦОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ТЕРМОФИЛЬНЫЙ МИКРООРГАНИЗМ *GEOBACILLUS ICIGIANUS*

NONTHERMAL IMPACT OF TERAHERTZ RADIATION ON THE THERMOPHILIC MICROORGANISM *GEOBACILLUS ICIGIANUS*

Банникова С.В.¹, Мещерякова И.А.¹, Брянская А.В.¹, Розанов А.С.¹, Старостин К.В.¹, Попик В.М.², Пельтек С.Е.¹

¹ ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт ядерной физики им. Г.И. Будкера Сибирского отделения Российской академии наук (ИЯФ СО РАН), Новосибирск

Термофильный микроорганизм (G1w1) *Geobacillus icigianus* был выделен и описан, а его геном был полностью секвенирован в Институте Цитологии и Генетики [1]. Оптимальная температура культивирования *G. icigianus* составляет 60 °С. Это позволяет разделять термическую и нетермическую составляющую воздействия терагерцового (ТГц) излучения на живые объекты. В настоящей работе изучалось воздействие ТГц излучения на протеом термофильного микроорганизма *Geobacillus icigianus*. Показано, что под воздействием ТГц излучения меняется экспрессия ряда белков, из которых удалось идентифицировать 10. Гены, контролируемые биосинтез этих белков, входят в метаболические системы транспорта электронов, ионов калия, цикла Кребса, окислительного стресса, синтеза АТФ, участвуют в быстром ответе на воздействие ТГц излучения. При дальнейшем развитии на воздействие ТГц излучения в ответ вовлекаются элементы систем синтеза аминокислот, регуляции трансляции, перестройки транспорта протонов и репарации ДНК. В настоящее время изучается реакция генома *Geobacillus icigianus* на воздействие ТГц излучения на транскриптомном уровне.

1. Bryanskaya AV, Rozanov AS, Slynko NM, Shekhovtsov SV, Peltek SE *Geobacillus icigianus* sp. nov., a thermophilic bacterium isolated from a hot spring. Int J Syst Evol Microbiol. 2015 Mar;65(Pt 3):864-9. doi: 10.1099/ijms.0.000029.

ОСОБЕННОСТИ РОСТА ЛЯГУШЕК В КАВИТАЦИОННО-ОБРАБОТАННОЙ ВОДЕ PECULIARITIES OF FROG GROWTH IN CAVITATIONAL PROCESSED WATER

Барбин Н.М., Алексеев К.С.

Уральский государственный аграрный университет, Екатеринбург, NMBarbin@mail.ru

Воду следует рассматривать как способную к самоорганизации неравновесную динамическую систему, чувствительную к слабым воздействиям различной природы. В водных системах неразрывно сосуществуют химические и структурные превращения. Будучи первичной мишенью слабых, в том числе электромагнитных и механических воздействий, вода продуцирует активные формы кислорода и азота, непосредственно воздействующие на рецепторы клетки, а также образует единый водно-липидно-белковый комплекс биологической мембраны, преобразующий слабые внешние сигналы в изменение макроскопической упругости мембраны, сопровождающиеся модуляцией характеристик интегральных белков. Изменение свойств мембранных белков приводит к изменению функциональных свойств живой клетки [1].

Кавитация – это процесс нарушения однородности водного слоя с образованием и схлопыванием парогазовых пузырьков и их скоплений. Ранее было исследовано влияние воды, подвергнутой кавитации, на рост рыб [2], уничтожение дафний [3], на состав крови собак [4]. Кавитационную обработку воды проводили роторным гидроударным кавитатором. В данной работе объектом исследования были шпорцевые лягушки (*Xerobus Loevis*).

Производилась регулярная замена воды в аквариумах, объемом 50% от емкости каждого. В опытном аквариуме добавлялась кавитационно-обработанная вода, а в контрольном добавлялась вода без обработки. Для всех аквариумов забор воды производился из одного источника – городского водопровода после отстаивания в течение 7 суток. Замена воды производилась 1 раз в семь суток.

Кормление лягушек производилось специализированным кормом для рыб. Количество корма и периодичность кормления для контрольной и опытной групп были идентичны.

Из данных по изменению рН следует, что, в опытном аквариуме с регулярной добавкой кавитационно-обработанной воды, значение рН планомерно повышалось или, другими словами, происходило защелачивание, в то время как, окислительно-восстановительный потенциал планомерно понижался.

Водородный показатель оказывает существенное влияние на биологические и биохимические процессы, и поэтому имеет очень важное значение в жизни лягушек, особенно в период роста и развития.

В ходе эксперимента производилось взвешивание, частотой раз в неделю, на лабораторных электронных весах MASSA-KBK-600. Также велась автоматическая запись показателей рН и окислительно-восстановительного потенциала воды в каждом из аквариумов.

Разведение лягушек в кавитационно-обработанной воде ведет к изменению прироста массы тела.

Показатели прироста живой массы тела у лягушек опытной группы на 10,15% превышают аналогичные показатели у лягушек контрольной группы.

Набор массы в контрольной группе прекратился на 21 день раньше, чем в опытной.

1. Лобышев В.И. и др. Вода – первичная мишень воздействия на биологические системы // В сборнике Проблемы биологической физики. С. 122. Под ред. В.А. Твердислова. – М.: URSS, 2010. 320 с.
2. Барбин Н.М. и др. Особенности роста рыб в кавитационно-обработанной воде // Сб. VIII международный конгресс Слабые и сверхслабые поле и излучение в биологии и медицине, 2018, С. 6.
3. Барбин Н.М. и др. Воздействие кавитации на водные микроорганизмы // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2017, Т. 3, № 4, С. 910.
4. Барбин Н.М., Чирков А.А. Изменение показателей крови собак при их лечении водой, прошедшей гидродинамическую обработку // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2017, Т. 2, № 1, С. 423.

ФОРМИРОВАНИЕ СТРЕССОВОЙ РЕАКЦИИ У КРЫС ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

FORMATION OF STRESS REACTION IN RATS AFTER EXPOSURE TO LOW-INTENSITY ELECTROMAGNETIC RADIATION

Баркин В.В., Ананьева Ю.Е., Рохмистрова Е.Г., Захарова О.А, Лабынцева О.М., Голубев А.В.

Федеральное Государственное Унитарное Предприятие Российский Федеральный ядерный центр –
Всероссийский НИИ экспериментальной физики, Россия, 607190, г.Саров, Нижегородская обл.

Тел. (83130) 6 96 13, факс(83130) 3 63 00, e-mail olga@bfrc.vniief.ru

Электромагнитное загрязнение среды в совокупности с производственными факторами электромагнитной природы представляет значительную угрозу здоровью человека. В настоящее время большой интерес представляет изучение проблемы обеспечения защиты человека от электромагнитных излучений

(ЭМИ) промышленной частоты. Регулярно поднимается вопрос о пересмотре установленных санитарно - гигиенических нормативов.

Ранее нами было показано, что ЭМИ нетепловой интенсивности приводит к развитию стрессовой реакции, одним из последствий которой может быть снижение поведенческой активности, угнетение, гиполокомоция, формирование характерного поведения отчаяния.

В настоящей работе воздействие на животных (белых беспородных крыс) осуществляли ЭМИ частотой 920 МГц со средним значением плотности потока энергии 120 мкВт/см² однократно в течение получаса.

Формирование у крыс поведения отчаяния после воздействия ЭМИ оценивали по результатам теста «принудительное плавание» по Порсолту, развитие стрессовой реакции – по изменению электрофоретической подвижности эритроцитов (ЭФПЭ). Оценку исследуемых показателей проводили в течение часа после воздействия ЭМИ.

У животных, подвергавшихся однократному получасовому воздействию ЭМИ, было зарегистрировано трехкратное увеличение времени иммобильности ($p \leq 0,001$) и снижение ЭФПЭ на 43% ($p \leq 0,001$). Это свидетельствует о формировании у животных стрессового состояния.

Полученные результаты могут быть учтены при поиске мер и средств защиты от действия производственных факторов электромагнитной природы.

АКТИВИРОВАННАЯ «ПЛАЗМЕННАЯ ВОДА» ДЛЯ РЕГУЛЯЦИИ РОСТА И РАЗВИТИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОБЪЕКТОВ

ACTIVATED “PLASMA WATER” TO FOR REGULATE THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF PLANT OBJECTS

Белов С.В., Анашева Л.М.², Данилейко Ю.К.¹, Егоров А.Б.¹, Лобанов А.В.², Овчаренко Е.Н.², Савранский В.В.¹, Сидоров В.А.¹

ФБГУ Институт общей физики им. А.М.Прохорова

¹ФБГУ Институт общей физики им. А.М.Прохорова

²ФБГУ Институт химической физики им. Н.Н.Семенова

Ранее в работах [1,2] была показана значимая роль активированной воды, получаемой при разряде в ней низкотемпературной плазмы с последующим использованием её для активации жизненных процессов в растительных объектах.

Возбуждение плазмы в дистиллированной воде при добавлении 1% раствора NaCl производили высокочастотным током с частотой следования импульсов 110 кГц при амплитудном значении напряжения на металлическом электроде до 300 В. Энергетические параметры плазмы исследовались методом эмиссионной спектроскопии и на основании спектров излучения плазмы оценивались энергетические параметры плазмы в водяном паре. Величина электронной температуры T_e составила приблизительно (4 – 5) эВ. В эмиссионном спектре излучения наблюдались линии водорода, натрия и полосы гидроксильных групп ОН. Плазмохимические реакции приводят к образованию в активированной плазменной воде (АПВ) водорода и пероксида водорода (ПВ). Анализ полученной АПВ на содержание ПВ с помощью количественного йодометрического метода [3,4] показал, что концентрация ПВ в активированной плазменной воде составляет $1 \times 10^{-5} - 5 \times 10^{-5}$ М/л ($3,4 \times 10^{-4} - 1,7 \times 10^{-3}$ г/л). Хранение полученной АПВ в течение 6 суток в темном сосуде при температуре +20° С не изменило концентрацию ПВ. Известно, что ПВ является нетоксичным, экологически безопасным и уникальным по многим свойствам регулятором роста растений [5-8]. Установлено, что ПВ стимулирует образование крахмала в процессе фотосинтеза высших растений [9], позволяет защищать растения от засухи, повышает их морозоустойчивость, стимулирует образование хлорофилла в процессе развития высших растений. Обработка почвогрунтов растворами ПВ или в период вегетации растений является наиболее щадящим методом стимуляции роста при сохранении жизнеспособности почвенной микрофлоры.

АПВ в качестве стимулятора роста растений ранее не исследовалась.

Проведенные испытания ростстимулирующих свойств АПВ показали, что она значительно превосходит по эффективности воздействия водных растворов ПВ той же концентрации. Этот факт можно предположительно объяснить присутствием помимо ПВ микропримесей металлических электродов, появляющихся в плазменной воде в процессе ее получения, а также изменением электрохимического потенциала АПВ.

Тест-объектами были выбраны представители разных семейств с/х растений, что существенно при определении универсальности действия АПВ, а именно: огурец сорт Конкурент, семейство тыквенных; редис сорт 18 дней, семейство капустных; сафлор сорт Заволжский, семейство астровых; клубневые черенки картофеля, сорт Удача, семейство пасленовых.

Анализ степени воздействия АПВ на растения проводили на ранних стадиях их развития с помощью морфологических тестов. Учитывали количество проросших семян, вступление растений в очередную стадию развития по количеству растений с первым листом, развитие корневой системы, количество жизнеспособных

растений к определенному времени. Применение АПВ при разведении 1:1000 на исследуемые с/х растения дали увеличение показателей на 20-50% в разных стадиях развития.

Не разбавленная АПВ тормозит рост растений. Применение АПВ и ее растворов при замачивании семян, поливе и опрыскивании растений с разведением 1:100 и более раз до соотношения 1:2000 дали стимулирующий эффект развития растений.

Работа выполнена по Гос. заданию «Физические методы в с/х и экологии №0024-2019-0004.

1. Н.В.Бабурин, С.В.Белов, Ю.К.Данилейко и др. Гетерогенная рекомбинация в плазме водяных паров как механизм воздействия на биологические ткани. ДАН.Физика. 2009, том 426, №4, с. 468-470.
2. С.В.Белов, Ю.К.Данилейко и др. Особенности генерации низкотемпературной плазмы в высокочастотных плазменных электрохирургических аппаратах. Медицинская техника, №2, 2011, с. 26-32.
3. А.В.Лобанов, Н.А.Рубцова, Г.Г.Комиссаров. ДАН.Химия. 2008, том 421, №6, с.773-776.
4. Патент РФ RU 2477470/ GOIN 33|02, 10.03.2013
5. Корзинников Ю.С. Экологически безопасные средства защиты растений Вестник РАСХН. 1997, №2, с.44-47.
6. Апашева Л.М., Комиссаров Г.Г. Влияние пероксида водорода на развитие растений. Изв. Ран. Серия биологическая, 1996, №5, с.621-613.
7. Патент РФ: RU 2142707? A01N 59/00, 20.12.1999.
8. Патент РФ: 2172099, A01G, 1/00, A01N.. 59|00, A01C, 1/00, 20.08.2001.
9. Патент РФ: 2253235, A01N, 59/00, A01C 1/00, A01G 1/00, 10.06.2005.

СРАВНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПОСТОЯННОГО, ПЕРЕМЕННОГО, КОМБИНИРОВАННОГО МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ РАЗЛИЧНОЙ ОРИЕНТАЦИИ И МАГНИТНОГО ПОЛЯ, КОМБИНИРОВАННОГО С ЭЛЕКТРИЧЕСКИМ ПОЛЕМ. ЕДИНЫЙ ФИЗИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ

COMPARISON OF BIOLOGICAL ACTION OF STATIC, ALTERNATIVE, COMBINED MAGNETIC FIELDS OF DIFFERENT ORIENTATION, STATIC MAGNETIC FIELD COMBINED WITH ELECTRIC FIELD. ONE PHYSICAL MECHANISM OF ACTION

Н.И. Богатина, Н.В.Шейкина¹, А.С.Линник

Физико-технический институт низких температур им. Б.И.Веркина Национальной академии наук Украины
47, пр. Науки, г. Харьков, Украина. E-mail: n_bogatina@rambler.ru

1-Национальный фармацевтический университет г. Харьков, Украина, E-mail: sheykina@ukr.net

Эта работа подводит итог наших многолетних исследований по изучению влияния различных магнитных полей на растения. Полученные результаты можно коротко сформулировать следующим образом.

1. Гравитропическая реакция растений на постоянное магнитное поле имеет порог. Причем величина этого порога зависит от относительной ориентации корней растения и направления постоянного магнитного поля. Различие в пороговой величине магнитной индукции очень существенно (до 50 раз).
2. Гравитропическая реакция растений на переменное магнитное поле также имеет порог. Его величина также зависит от относительного расположения корней и направления индукции магнитного поля. Величина порогового значения магнитной индукции несколько выше для переменного магнитного поля, чем для постоянного. Это различие зависит от частоты магнитного поля и проявляется только в области очень низких частот (ниже 1 Гц).
3. Действие комбинированного магнитного поля, частота переменной составляющей которого настроена на циклотронную частоту ионов Ca^{2+} , на гравитропическую реакцию растений зависит от взаимной ориентации постоянной составляющей магнитного поля, переменной составляющей магнитного поля о корней.
4. Постоянное магнитное поле, комбинированное с переменным электрическим полем, частота которого настроена на циклотронную частоту ионов Ca^{2+} , приводит в эксперименте к результатам, аналогичным действию комбинированного магнитного поля. Действие такого поля зависит от относительной ориентации постоянного магнитного поля, переменного Электрического поля и корней.
5. Результаты, полученные во всех четырех подразделах, хорошо согласуются между собой

Предложено два механизма воздействия, которые могут объяснить все наблюдаемые эффекты.

Первый механизм

Биологический эффект может быть объяснен увеличением диаметра потока ионов и дыханием мембраны, вызванным переменным магнитным полем, генерируемым переменным электрическим полем, или переменным магнитным полем, в случае комбинированного магнитного поля. С помощью этой же модели можно объяснить и наличие порога действия, как в постоянном магнитном поле, так и в переменном магнитном поле. В этой модели легко объясняются и ориентационные различия действия. Единственное возражение здесь – это малая длина свободного пробега ионов.

Второй механизм.

Предложено новое объяснение, базирующееся на фазовом переходе в воде. Существование ионного циклотронного резонанса имеет в этом случае все основания, т.к. ионы вращаются вокруг доменов в вакууме между доменами. Этот механизм объясняет также и ориентационные эффекты во всех случаях, т.к. размеры доменов различны в разных направлениях.

Объединение обоих механизмов также объясняет все наблюдаемые эффекты.

НИЗКОЧАСТОТНОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ, ГЕНЕРИРУЕМОЕ РАСТЕНИЯМИ. ЗАВИСИМОСТЬ ОТ ВНЕШНЕГО ОКРУЖЕНИЯ И ВНЕШНЕГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ

LOW FREQUENCY IRRADIATION GENERATED BY PLANTS. IT'S DEPENDENCE ON EXTERNAL ENVIRONMENT AND MAGNETIC FIELD

Н.И. Богатина, Н.В.Шейкина¹, А.С.Линник

Физико-технический институт низких температур им. Б.И. Веркина Национальной академии наук Украины
47, пр. Науки, г. Харьков, Украина. E-mail: n_bogatina@rambler.ru

1-Национальный фармацевтический университет г. Харьков, Украина, E-mail: sheykina@ukr.net

Для этих исследований была использована сверхпроводящая техника.

Были измерены собственные магнитные поля сухих и влажных семян пшеницы, гороха и кресс-салата и генерируемые ими магнитные шумы вблизи этих семян. Собственное магнитное поле сухой зерновки пшеницы меньше 0.1нТл на расстоянии 3 -5 мм от нее. Собственное магнитное поле влажной зерновки пшеницы меньше 5 нТл на расстоянии и 3 – 5мм от нее. Собственное магнитное поле сухого зерна гороха меньше 0.2 нТл шт. него. Собственное магнитное поле влажного зерна гороха меньше 7 нТл на расстоянии 3-5 мм от него. Собственное магнитное поле влажного зерна кресс-салата равно $\sim 3 \cdot 10^{-11}$ Тл на расстоянии 3- 5 мм от него. Собственный магнитный шум $\sim 10^{-11}$ Тл/ Гц^{0.5}.

Были измерены магнитные шумы, генерируемые прорастающими растениями. Влажное зерно пшеницы генерирует одинаковое по величине переменное шумовое магнитное поле в постоянном магнитном поле с индукцией, равной 7 нТл, <10 нТл, 12 мкТл, если собственные магнитные шумы этих полей не превышают 1нТл/Гц^{0.5}. Обнаружено, что при увеличении шумов внешнего магнитного поля (при превышении их уровня 4 нТл/Гц^{0.5} существенно увеличивается у собственного магнитный шум влажных зерен всех изучаемых растений до 3 – 100 раз. Причем генерируемое растениями шумовое магнитное поле имеет несколько частотных максимумов. Положение этих максимумов существенно зависит от величины внешнего магнитного поля. Т.к. этот эффект наблюдается только для влажных семян, то возможно, он связан с поведением воды в комбинированном магнитном поле (ее излучением при увеличении амплитуды переменной (шумовой составляющей, особенно вблизи 50 Гц).

Было обнаружено, что любое внешнее окружение биообъекта влияет на его собственное магнитное, электрическое и электромагнитное поле. Любой биологический объект взаимодействует со своим окружением.

РОЛЬ АНИОНОВ ФОСФАТА В АВТО- И ФОТОИНДУЦИРОВАННОМ ОКИСЛЕНИИ NADH

ROLE OF PHOSPHATE ANIONES IN AUTO AND PHOTOINDUCED NADH OXIDATION

Бржевская О.Н., Дегтярев Е.Н., Холуйская С.Н.¹

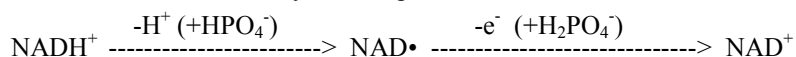
Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, e-mail: brzolya@yandex.ru

1 –Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова, Москва, e-mail: soho@chph.ras.ru

Исследование NADH, одного из важнейших коферментов редокс превращений в биохимическом синтезе, позволило выдвинуть гипотезу о двух механизмах его окислительной трансформации. Первый представляет собой одностадийный перенос гидридного иона. Второй - включает несколько стадий с последовательными переносами электронов и атома водорода на молекулу окислителя [1]. Известно также, что эффективность редокс процессов повышается в присутствии посредников передачи электрона, в частности анионов фосфата [2], которые являются субстратами многих биохимических процессов. Целью настоящей работы было исследование влияния анионов фосфата на процесс автоокисления NADH, как в отсутствие, так и при фотовозбуждении.

Предположение о роли анионов фосфата как о частицах, участвующих в транспорте электронов, подтверждено данными по фотоиндуцированному окислению NADH. Фотолиз NADH осуществлялся в замороженных жидким азотом образцах при облучении с $\lambda > 254$ нм. В результате реакции при 77° К зарегистрированы сигналы парамагнитных интермедиатов – катиона-радикала NADH⁺ и атома водорода (метод

ЭПР), причем сигнал атомарного водорода (дублет с расщеплением ~ 508 Гс) появляется исключительно в присутствии фосфатов (P_i), а его интенсивность пропорциональна концентрации P_i . В соответствии с [2] появление атомарного водорода обусловлено реакцией взаимодействия гидратированного электрона e_{aq} с $H_2PO_4^-$, что свидетельствует о втором типе механизма (многостадийном) фотоокисления NADH. Фосфатная структура служит ловушкой e_{aq} и стабилизирует его как атом водорода в замороженных растворах. Катион-радикал $NADH^+$ и e_{aq} – первичные продукты разделения зарядов и наблюдаемое акцептирование электрона ортофосфатом, предотвращая рекомбинацию зарядов, смещает равновесие реакции и повышает ее эффективность. Действительно, скорость реакции фотоокисления NADH при комнатной температуре в присутствии P_i сильно возрастает (облучение с $\lambda=365$ нм). В то же время, в замороженных жидком N_2 образцах обнаружено уменьшение интенсивности сигнала $NADH^+$ с увеличением концентрации P_i , причем зависимости интенсивностей сигналов $NADH^+$ и $H\cdot$ от концентрации P_i антибатны. По-видимому, влияние P_i на кинетику гибели $NADH^+$ вызвано следующими реакциями:



Темновой процесс автоокисления NADH изучали по изменению электронного спектра кофермента. В отсутствие добавок спектр NADH практически стабилен. Введение P_i значительно ускоряет реакцию: в фосфатном буфере (pH 6,3) в течение часа наблюдается 50% расхождение NADH. Ускорение реакции не связано с изменением ионной силы раствора: введение добавок солей (NaCl, KBr) в соответствующих концентрациях не влияет на реакцию. Скорость окисления NADH прямо пропорциональна суммарной концентрации NaH_2PO_4 и Na_2HPO_4 вплоть до значений концентраций близких к пределу растворимости NaH_2PO_4 ; эффективная константа скорости составляет 0,30 s^{-1} (23°C). Автоокисление NADH – pH зависимая реакция: при смещении в более щелочную область процесс сильно замедляется. Для идентификации природы реакции (радикальная, гидридный перенос) использовали водорастворимый нитроксильный радикал TEMPOL. Обнаружено, что он не оказывает действия на реакцию, а его спектр ЭПР стабилен во времени. Таким образом, не было получено аргументов в пользу радикального процесса при автоокислении NADH в присутствии ортофосфатов.

1. Gebicki J., Marcinek A., Zielonka J. Transient Species in the Stepwise Interconversion of NADH and NAD^+ //Acc. Chem. Res. 2004. V. 37. N 6. PP. 379-386.
2. Бржевская О.Н., Дегтярев Е.Н., Журавлева Т.С., Зубков А.С., Клименко И.В., Шекшеев Э.М., Неделина О.С. Диссоциативный захват электронов как модель акцептирования низкоэнергетических электронов в биохимических реакциях //Докл. АН. 2008. Т. 420. N 3. С.1-6.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ОТКЛИК ПРОТЕОГЛИКАНОВЫХ СИСТЕМ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ВЫСОКОЧАСТОТНОЙ ЭЛЕКТРОХИРУРГИЧЕСКОЙ СВАРКИ

FUNCTIONAL RESPONSE OF PROTENOGLYCAN SYSTEMS OF BIOLOGICAL TISSUES ON THE INFLUENCE OF HIGH FREQUENCY ELECTROSURGICAL WELDING

Вазина А.А., Васильева А.А., Железная Л.А., Забелин А.В.¹, Кулипанов Г.Н.², Легкодымов А.А.², Полякова Е.П.³

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, vazina@mail.ru

¹ НИЦ «Курчатовский институт», Москва

² ФГБУН Институт ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН, Новосибирск

³ Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва

Сегодня мир переживает концептуальную революцию в области изучения принципов наноструктурной организации вещества, которая, в свою очередь, обусловлена инструментальной революцией, связанной с развитием новых структурно-физических методов на основе светосильного синхротронного излучения, ускорителей, электронной и атомносиловой микроскопии. Мы были пионерами в исследовании биологических систем в наномасштабном диапазоне; были разработаны и созданы методики прижизненного исследования в различных функциональных состояниях. Методом малоугловой дифракции выявлена высокая наноструктурная упорядоченность, зарегистрированы многочисленные четкие порядки основного периода 4.65 нм, обусловленного протеогликановыми (ПГ) системами муцинов и межклеточного матрикса биологических тканей. Показано, что период идентичности 4.65 (± 0.15) нм является наноструктурным инвариантом гигантских ПГ молекул эпителиальных тканей и муцинов в широком эволюционном ряду – от млекопитающих до беспозвоночных и насекомых. Сходство рентгенограмм эпителиальных тканей и муцинов дает достаточно оснований для объединения их в совершенно новый архетип малоугловых рентгенограмм, характерной особенностью которого является присутствие многочисленных брэгговских рефлексов дебаевского типа с основным периодом 4.6 (± 0.15) нм. Структурная модель ПГ фибриллы характеризуется жестким белковым кором, к которому в процессе посттрансляционной модификации специфическими ферментами пришиваются

олигосахаридные цепочки. Выявлен вклад катионов металлов в структурную трансформацию протеогликанов, приводящую к нарушению наноструктурного гомеостаза эпителиальной ткани, в частности, при онкологической патологии и минерализации. Функциональный механизм наноструктурной динамики протеогликанового каркаса следует рассматривать в рамках статистической физики сетчатых полимеров, связанных поперечными сшивками. Термодинамические свойства статистически связанных полимеров гораздо более чувствительны к числу сшивок, чем к их химической природе. Обнаружено, что распределение некоторых элементов (Cl, S, Ca, Cu, Zn, Fe) носит мозаичный характер с размером неоднородностей до 0.5 мкм, содержание этих элементов может изменяться на порядок и в основном коррелирует с изменениями дифракционных картин от этих образцов.

Рассматриваются биофизические аспекты влияния высокочастотной электрохирургической сварки на процессы репарации поврежденной ткани человека и животных. В докладе представлены результаты экспериментальных исследований механизма модификационной адаптации биологических систем к синергетическому воздействию внешней среды при изменении различных параметров сварки. При акустическом возбуждении участка ткани между электродами за счет холодного парообразования происходит уменьшение объема, а, следовательно, и увеличение концентрации компонентов ткани и элементного содержания биополимеров в замкнутой системе. Повышение эффективной концентрации рассеивающих ингредиентов ткани приводит к формированию устойчивых хелатных комплексов между катионами и полидентатными лигандами - отрицательно заряженными карбоксильными и сульфатными группами протеогликанов. Хелатные комплексы в определенном диапазоне pH являются устойчивыми сшивками, формирующими трехмерный протеогликановый каркас. Показано, что структура протеогликанов может быть обратимо трансформирована катионами металлов и хелатирующими агентами. Кальций является основным элементом в минеральном составе ткани. Температура плавления и другие термодинамические параметры полимерных сеток гораздо более чувствительны к незначительному изменению плотности поперечных сшивок, чем к их химической природе. Феномен формирования протеогликанового каркаса, способного обеспечить организацию клеток при репарации ткани, может быть обусловлен двумя основными процессами. Геометрические особенности конструкции инструментов (плоские электроды, напаянные на щипцы) под влиянием механического сжатия создают трехмерную топологию активного пространства с уникальными физическими параметрами, которые могут обеспечить самосборку слоистых наноструктур – паракристаллов нематического типа.

Взаимодействие протеогликанов с катионами можно рассматривать как фактор, обеспечивающий модификационную адаптацию организма к экстремальным внешним воздействиям. Использование ВЧ-электросварочных технологий, созданных академиком Б.Е. Патоном, гарантирует возможность функционального воскресения биологических систем на хирургическом столе современной медицины.



ПОЛОЖЕНИЕ ДЕЛ В ПОНИМАНИИ СВОЙСТВ ЖИДКОЙ ВОДЫ. ВОЗМОЖНАЯ АЛЬТЕРНАТИВА STATUS-QUO IN LIQUID WATER UNDERSTANDING. POSSIBLE ALTERNATIVE

Васин А.А.^{1,2}, Волков А.А.², Степанов А.Е.², Старцев А.С., Волков А.А.¹

¹ Институт общей физики РАН имени А.М. Прохорова, Москва,

² ООО «НИРА», Москва,

E-mail: alexcampeones@yandex.ru

Вода в силу жизненной важности остается объектом интенсивных исследований, в том числе в биологии, где она является базовой средой [1]. Два столетия продолжают попытки понять атомно-молекулярное устройство воды, но, как ни удивительно, задача не решена по сей день. Несмотря на простой химический состав, вода не имеет должного описания на микроскопическом уровне. Не существует принятого представления о том, какие частицы и как взаимодействуют, наделяя воду гигантским многообразием свойств [2]. Более точно, представление существует, но ведёт к противоречиям. Вода неизменно представляется ансамблем неделимых молекул H₂O, скрепленных водородными связями [3]. Считается, что всё богатство свойств воды обязано динамическим процессам в структуре водородных связей – их непрекращающимся разрывам и восстановлением. Нарушения сетки водородных связей называют дефектами, а динамику дефектов – структурной релаксацией. Сложность такой модели и нестрогость базовых понятий таких, как “водородная связь” или “структурная релаксация”, порождают разброс толкований и вариантов их использования. На практике спорные вопросы снимаются договорённостями, но на фундаментальном уровне количество таких вопросов только растёт [4].

Существующие модели воды специфичны и объясняют связанные с водой явления “по месту”. Модели часто находятся в неразрешимом конфликте друг с другом. Аксиома химии, например - повышенная подвижность протона в воде сосуществует с фактом категорического отсутствия этого явления в экспериментах с мечеными атомами. Диэлектрическая проницаемость при переходе вода-лед изменяется только на 10%, а

частота вызывающей её релаксации - на 7 порядков. Водородные связи между молекулами – слабые направленные, ковалентные, но инфракрасный спектр у воды – как у ионного кристалла. Противоречий так много, что они составляют норму, а сама вода как жидкость считается аномальной [4]. Далекое не в полной мере вода поддается компьютерному моделированию [5].

По всем признакам, решение проблемы лежит на базовом уровне. Среди предложений мы выделяем тезис Френкеля о том, что благодаря промежуточному положению жидкости между газом и твердым телом, молекулы жидкости принимают участие одновременно в колебательном и трансляционном движениях [6]. Предполагается, что каждая из молекул воды совершает диффузию броуновского типа, задерживаясь на время в колебательном режиме в клетке из окружающих соседей. Комбинированный характер движения молекул в силу фундаментальности должен был стать условием построения любых динамических моделей воды, но этого не произошло. В современных работах по воде модель Френкеля упоминается редко, если упоминается вообще.

В работах [7, 8] мы опробовали для описания свойств жидкой воды модель Френкеля, дополненную протонным обменом между молекулами. В настоящем докладе мы демонстрируем эффективность нового подхода и обосновываем возможность корректировки на его основе современного представления о структуре воды. Предлагается динамическая ион-молекулярная модель, предполагающая взаимодействие молекул и ионов в форме их взаимопревращений [9]. Модель устраняет или обходит существующие в стандартной парадигме проблемы. Выводы модели перспективны для приложений в смежных областях.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ - 19-02-00446 А

1. Ball P. Life's matrix: a biography of water. University of California Press, 2001.
2. Brini E. et al. How Water's Properties Are Encoded in Its Molecular Structure and Energies // Chem. Rev. 2017. Vol. 117. P 12385 .
3. Маленков Г.Г. Структура и динамика жидкой воды // Журнал структурной химии 2006. Т 47. С. S5.
4. Chaplin, M. Water Structure and Science // 2016. <http://www1.lsbu.ac.uk/water/>
5. Gillan M. J. et al. Perspective: How good is DFT for water? // J. Chem. Phys. 2016. V. 144. P. 130901 .
6. Френкель Я.И. Кинетическая теория жидкостей // Наука. Ленинград. 1975.
7. Volkov A.A. et al. Possible mechanism of molecular motion in liquid water from dielectric spectroscopy data // J. Mol. Liq. 2017. V. 248. P. 564-568.
8. Volkov A.A., Vasin A.A., and Volkov A.A., Jr. Dielectric properties of water and ice: a unified treatment // Ferroelectrics. 2019. V. 8538 P. 83-88.
9. Васин А.А. и др. Электрические, транспортные и тепловые свойства жидкой воды в терминах ион-молекулярной модели // Тезисы настоящей конференции. 2019.

ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ, ТРАНСПОРТНЫЕ И ТЕПЛОВЫЕ СВОЙСТВА ЖИДКОЙ ВОДЫ В ТЕРМИНАХ ИОН-МОЛЕКУЛЯРНОЙ МОДЕЛИ

ELECTRIC, TRANSPORT AND THERMAL PROPERTIES OF LIQUID WATER IN TERMS OF ION-MOLECULAR MODEL

Васин А.А.^{1,2}, Волков А.А.², Степанов А.Е.², Старцев А.С., Волков А.А.¹

¹ Институт общей физики РАН имени А.М. Прохорова, Москва,

² ООО «НИРА», Москва,

E-mail: alexcampeones@yandex.ru

Жидкая вода является неотъемлемым участником любых биологических процессов, при этом её собственное устройство на молекулярном уровне до сих пор с определённой ясностью не установлено, оно активно обсуждается в литературе. Общеизвестно, что вода представляет собой ансамбль неделимых газовых молекул H₂O, скрепленных сеткой водородных связей [1, 2]. Этой идее следуют все современные исследования [3]. Проблемным остаётся вопрос о том, как в сетке водородных связей осуществляется вращательно-поступательное движение молекул H₂O, ответственное за невероятное многообразие свойств воды - механических, тепловых, электрических. Высказывания последних лет содержат налет безысходности: While the water molecule is simple, its condensed phase liquid behavior is so complex that *no consensus description* has emerged despite three centuries of effort ... In spite of the intensity with which *water* has been studied, it *continues to guard its secrets* closely [4].

Возможный выход из кризиса мы видим в развитии френкелевского представления о диффузионно-колебательном движении молекул. Задача состоит в формировании адекватного представления о происхождении, в первую очередь, электрических свойств воды. Последние на фоне других выделены тем, что, в силу принципиально электромагнитной природы вещества, являются первичными. Они доступны для исследований в широчайшем диапазоне частот спектра электромагнитных волн – от аудио частот до оптики

(10^1 - 10^{14} Гц). Это открывает возможность наблюдения в едином пространственно-временном окне механизмов движения разных пространственно-временных масштабов.

Френкелевское диффузионно-колебательное движение молекул предлагает исследователям электродинамический отклик воды в релаксационно-осцилляторной форме. В силу спектральной размытости отклика связи между породившими отклик микроскопическими механизмами замаскированы. Их удаётся выявлять модельной обработкой диэлектрических панорам [5]. В приложении к воде обработка панорам дает неожиданный результат, а именно, свидетельствует о присутствии в воде высокой концентрации короткоживущих собственных ионов, обменивающихся зарядами с нейтральными молекулами H_2O [6]. Модель панорамного диэлектрического отклика воды впервые устанавливает связь между процессами, различающимися своими пространственно-временными масштабами на порядки величин. Она последовательно описывает радикально разные движения - от локальных ион-молекулярных осцилляций до направленного ион-молекулярного дрейфа.

В настоящем докладе мы рассматриваем в дополнение к электрическим транспортные и тепловые свойства жидкой воды. Демонстрируем факт, что подбором единственного подгоночного параметра модели – концентрации ионов N_i , расчётные кривые всем блоком укладываются на экспериментальные кривые. Модель единым образом описывает специфичные температурные зависимости диэлектрической проницаемости $\Delta\epsilon$, коэффициента самодиффузии D , вязкости η , и теплопроводности Θ . Она устанавливает фундаментальную связь этих параметров с параметрами микрочастиц – зарядом q , массой m и концентрацией N_i . Получает ясное физическое обоснование известная в физхимии и до сих пор загадочная связка $D\eta/T = \text{const}$.

Модель обнаруживает, что связующим фактором молекул в жидкой воде является кулоновское поле зарядов (протонов и протонных дырок), броуновским способом блуждающих по молекулам H_2O . В рамках модели устойчивость воды объясняется конкуренцией двух процессов – теплового разбегания молекул H_2O и сборки их кулоновским притяжением ионов, на время ~ 2.5 пс образующихся при столкновениях.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ - 19-02-00446 А.

1. Эйзенберг Д. и Кауцман В. Структура и свойства воды // Гидрометеоздат. Ленинград. 1975.
2. Маленков Г.Г. Структура и динамика жидкой воды // Журнал структурной химии 2006. Т 47. С. S5.
3. Brini E. et al. How Water's Properties Are Encoded in Its Molecular Structure and Energies // Chem. Rev. 2017. V. 117. P 12385.
4. Meadley S.L. and Angell C.A. Water: Fundamentals as the basis for Understanding the Environment and Promoting Technology // Proceedings of the Int. School of Physics "Enrico Fermi" Course CLXXXVII. Varenna. Italy. 2013.
5. Kozlov G.V. and Volkov A.A. Coherent Source Submillimeter Wave Spectroscopy // Topics in Applied Physics. V. 74. P. 52. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 1998.
6. Volkov A.A. et al. Possible mechanism of molecular motion in liquid water from dielectric spectroscopy data // J. Mol. Liq. 2017. V. 248. P. 564-568.

БЕЛКИ ТЕПЛООВОГО ШОКА КАК ФАКТОРЫ ПРОТЕОСТАЗА В ПОПЕРЕЧНОПОЛОСАТЫХ МЫШЦАХ ЗИМНЕСПЯЩЕГО ДЛИННОХВОСТОГО СУСЛИКА (SPERMOPHILUS UNDULATUS)

HEAT SHOCK PROTEINS AS FACTORS OF PROTEOSTASIS IN STRIATED MUSCLES OF HIBERNATING GROUND SQUIRREL (SPERMOPHILUS UNDULATUS)

*Попова С.С., Грицына Ю.В., Салмов Н.Н., Михайлова Г.З., Юриенас Д.А.,
Моренков О.С.¹, Захарова Н.М.¹, Вихлянцев И.М.*

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, Пушино; ivanvikhlyantsev@gmail.com

¹Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований РАН», Пушино; n.m.zakharova@gmail.com

Молекулярные механизмы протеостаза в мышцах гибернантов, лежащие в основе уменьшения степени развития мышечной атрофии, широко обсуждаются в последние годы. В этой связи обсуждается роль периодических пробуждений (выхода гибернантов из спячки) в активации синтеза белка и восстановлении массы поперечнополосатых мышц. Нельзя исключить, что в этот период будет наблюдаться увеличение содержания как конститутивной, так и индуцибельной форм белков теплового шока Hsp70 и Hsp90, которые являются шаперонами и участвуют в восстановлении/поддержании правильной структуры синтезирующихся *de novo* белков. Проверка этого предположения являлась целью нашей работы.

В экспериментах были использованы животные следующих экспериментальных групп: «Летняя активность» (нормотермия, 38°C, май–июль, n=8); «Гипотермия» (глубокое оцепенение, декабрь–март, температура сердечной мышцы 1.5-2.0°C, продолжительность периода гипотермии 4-11 суток, n=7); «Зимняя активность» (нормотермия, 36°C-37°C, периодически повторяющиеся временные промежутки не более суток между периодами гипотермии, взятие материала проводилось через 10-14 ч эутермного состояния после пробуждения, n=8). Были использованы следующие мышцы: миокард левого желудочка, m. soleus

(преимущественно содержит волокна с «медленной» изоформой I тяжелых цепей миозина (ТЦМ)), *m. gastrocnemius* (преимущественно содержит волокна с «быстрыми» изоформами II ТЦМ), *m. longissimus dorsi* (смешанная мышца, содержит волокна обоих типов).

Методом Вестерн-блоттинга обнаружено незначительное снижение (на 15-20%) содержания обеих форм белков Hsp70 и Hsp90 в исследуемых мышцах суслика в период спячки. В мышцах активных зимних сусликов наблюдалось восстановление содержания белков теплового шока, однако не было обнаружено ожидаемого увеличения их содержания. Известно, что Hsp90 участвует в формировании миозиновых (толстых) нитей в саркомерах поперечнополосатых мышц. Показано, что нокаут гена Hsp90 приводил к нарушению подвижности нематоды (*C. elegans*), что являлось следствием дезорганизации миозиновых нитей в саркомерах [S. Drog et al., EMBO Workshop, 2019]. Удивительно то, что оверэкспрессия Hsp90 также приводила к дезорганизации миозиновых нитей и нарушению подвижности червя. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости поддержания количества Hsp90 и, вероятно, других шаперонов, на оптимальном уровне, необходимом для обеспечения нормальной сборки и функционирования саркомеров. Учитывая эти данные и полученные нами результаты, можно утверждать, что отсутствие значительных сезонных изменений в содержании конститутивной и индуцибельной форм белков теплового шока Hsp70 и Hsp90 в поперечнополосатых мышцах длиннохвостого суслика является одним из факторов протеостаза (белкового гомеостаза), который вносит вклад как в поддержание необходимого уровня сократительной активности мышц, так и в снижение уровня атрофических изменений.

Работа поддержана грантом РФФИ № 17-04-00326.

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА ЭЛЕКТРОГЕНЕЗ БЕЗМЕМБРАННЫХ МИКРОБНЫХ ТОПЛИВНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ БЕНТОСНОГО ТИПА

INFLUENCE OF CERTAIN ENVIRONMENTAL FACTORS ON ELECTROGENESIS OF MEMBRANELESS BENTHIC MICROBIAL FUEL CELL

Волченко Н.Н., Лазукин А.А., Самков А.А., Худокормов А.А.

Кубанский государственный университет, Краснодар, volchenko.n@mail.ru

Микробные топливные элементы (МТЭ) являются разновидностью биоэлектрохимических систем и считаются одними из перспективных источников маломощного тока. Величины их мощностей невелики, однако простота конструкции, доступность входящих в состав компонентов, возможность масштабирования привлекают к ним внимание исследователей. Другим важным аспектом их приложения полагают защиту окружающей среды – переработку сточных вод, интенсификацию процессов анаэробной биodeградации. Возможно применение МТЭ как биосенсоров, детектирующих факт появления органического загрязнения в воде.

Как источники возобновляемой энергии МТЭ могут быть интегрированы в микроаэрофильные природные или техногенные экосистемы, например в донные осадки водоёмов, заболоченные почвы, используя энергию естественных RedOx-градиентов, при участии анодофильной микрофлоры. В этом направлении определенный интерес представляет разновидность безмембранных МТЭ – бентосные (донные) элементы. Анод и катод в них располагаются соответственно в микроаэрофильной осадочной и более аэрированной водной зоне. Градиент окислительно-восстановительного потенциала в отсутствие мембраны обеспечивается естественным разделом фаз, метаболической активностью микроорганизмов в составе донных осадков.

Данный тип микробных топливных элементов активно исследуется за рубежом как перспективный источник энергии для автономных устройств в водной среде. Известна возможность применения бентосных микробных топливных элементов для питания метеобуя (США, р. Потомак). В условиях морской среды энергии подобных систем может быть достаточно для работы магнитометра, фиксирующего прохождение кораблей.

Одной из нераскрытых проблем функционирования микробных топливных элементов, интегрированных в природные или техногенные экосистемы, является стабильность их работы, оценка степени влияния факторов окружающей среды на электрогенез МТЭ. К последним относятся температурный фактор, толщина илового слоя, характеристики электродов, инокуляция биоанода специфическими анодофильными микроорганизмами, ингибирующее воздействие экотоксикантов и др.

Целью данной работы являлась оценка влияния физико-химических и биологических факторов на электрогенную активность безмембранных микробных топливных элементов. Использовался метод полного факторного эксперимента ПФЭ-2² с варьированием парного влияния факторов на двух уровнях, в трёх параллелях. Объектами изучения служили безмембранные МТЭ собственной конструкции с электродами на основе углеродного войлока и углеродной ткани, биологическим агентом служила аборигенная микрофлора. В ходе данного опыта были продемонстрированы удельные мощности 1,3 - 38,1 мВт/м², относительно площади биоанода. Анализ влияния фактора толщины илового слоя (обуславливает в т.ч. анаэробноз) и температуры среды показал, что статистически значимым при используемых шагах варьирования являлся только температурный фактор. Получено в результате обработки по алгоритму Йетса регрессионное уравнение $Y=19,78+17,03X_2$, где Y – напряжение, создаваемое МТЭ; X_2 – температура, на уровне X_+ и X_- соответственно 35 и 25⁰С.

В построенных по аналогичной схеме экспериментах по оценке влияния углеродного материала электродов и их бактериализации клетками анодофильного штамма *Shewanella oneidensis* MR-1 показано достоверное влияние обеих факторов. Применение углеродного войлока с более развитой за счёт пористой структуры площадью поверхности был более эффективен, чем углеродной ткани. Что, в свою очередь, создавало больше потенциальных сайтов адгезии для бактерий - известно, что шеванелла способна за счёт токопроводящих пилей и цитохромов эффективно иммобилизовываться на электродах, передавая на них электроны как на внешний акцептор. Внесение в биоэлектрохимическую систему углеводородов нефти несколько снижало уровень электрогенеза МТЭ, однако полностью не подавляло его. При этом фиксировалась более активная деградация нефтупродуктов в межэлектродном пространстве, чем на удалении от него. Что может свидетельствовать о возможности применения бентосных МТЭ для интенсификации *in situ* процессов разложения токсикантов в условиях относительного анаэробнобиоза.

Полученные результаты могут быть использованы для повышения эффективности бентосных микробных топливных элементов, их модификации применительно к полевым условиям.

ВЛИЯНИЕ ГИРОМАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ НА АКВА-КОММУНИКАЦИЮ МОЛЕКУЛЯРНЫХ СИГНАЛОВ МЕЖДУ МИКРООРГАНИЗМАМИ И РАСТЕНИЯМИ В СИМБИОТИЧЕСКИХ БИОСИСТЕМАХ

IMPACT OF HYROMAGNETIC FIELDS ON AQUA-COMMUNICATING OF MOLECULAR SIGNALS BETWEEN MICROORGANISMS AND PLANTS IN SYMBIOTIC BIOSYSTEMS

Воробьев Н.И.¹, Пухальский Я.В.¹, Свиридова О.В.¹, Пищик В.Н.^{1,2}, Ивахнюк Г.К.³, Пан Т.В.³, Жемакин С.В.⁴, Толмачев С.Ю.⁵

¹ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Nik.IvanVorobyov@yandex.ru

²ФГБНУ Агрофизический НИИ, Санкт-Петербург

³ФГБОУ ВО СПбГУ (ТУ), Санкт-Петербург

⁴ООО «Петербургские биотехнологии», Санкт-Петербург

⁵АННО «Международный институт ноосферных технологий», Москва

В симбиотических биосистемах биохимические процессы контролируются параллельным обменом сигнальными молекулами микроорганизмов и растений [1]. Микроорганизмы, синтезируя сигнальные молекулы (ауксины и фитогормоны), управляют процессами в растениях, а растения, выделяя экзометаболиты, со своей стороны управляют процессами в ризосферном микробном сообществе. Пропускная способность лиганд-рецепторных каналов обмена сигнальными молекулами зависит от комплементарности пространственных конформаций сигнальных молекул бактерий и рецепторов растений. Если пространственная конформация сигнальных молекул не комплементарна конформации рецептора, то сигнал будет заблокирован и далее рецепторы не будут инициировать процессы внутри растительных и микробных клеток. Пропускная способность лиганд-рецепторных каналов зависит также от физического состояния водной среды, в которой пребывают микроорганизмы и сквозь которую осуществляется хаотическая аква-коммуникация сигнальных молекул между растениями и микроорганизмами.

В обычных условиях водная среда не препятствует хаотической аква-коммуникации сигнальных молекул. Однако, при воздействии внешних вращающихся магнитных полей могут возникать резонансные явления на молекулярном уровне как в молекулах воды, так и в сигнальных молекулах. В результате, могут изменяться физические свойства водной среды и пространственная конформация сигнальных молекул и рецепторов [2]. Вследствие изменения физического состояния водной среды может быть затруднено перемещение сигнальных молекул между микроорганизмами и растением, а также снизиться вероятность контакта сигнальных молекул с рецепторами, необходимого для передачи сигналов внутрь клеток.

Целью исследования являлось изучение влияния слабых гиромангнитных полей (вращающихся магнитных полей; далее, просто магнитных полей), генерируемых специальным электронным устройством [3] (величина магнитной индукции 10-15 мТл), на водную среду и аква-коммуникацию сигнальных молекул между бактериями *Shingomonas sp.* и растениями гороха *Pisum sativum*.

В опыте растения гороха выращивались в стерильных гнотобиотических системах [4] в течении двух недель и измерялись физические свойства водной питательной среды и массы побегов и корней растений гороха по вариантам опыта (К – контроль; Б – интродукция бактерий; М – облучение магнитным полем (15 минут в сутки); БМ – интродукция бактерий и облучением магнитным полем).

Проведенные эксперименты показали, что ОВП питательного раствора в К-варианте опыта был равен 205-215 мВ, в Б-варианте – 240-250 мВ, в М-варианте – 170-180 мВ и в БМ-варианте – 180-190 мВ. Было обнаружено, что энергия поверхностного натяжения воды уменьшается после воздействия магнитных полей с 81 до 52 мДж/м². На это же указывает возрастание средней скорости испарения молекул воды с ее поверхности с 5,9 до 7,2 мг/(см² · ч). Измерения масс органов растений по вариантам опыта подтвердили гипотезу о влиянии

магнитных полей на пространственную конформацию сигнальных молекул и рецепторов микроорганизмов и растений.

Работы выполнялась по заданию РАН № 0664-2019-0025.

1. Проворов Н.А., Тихонович И.А., Воробьев Н.И. Симбиоз и симбиогенез / СПб.: Информ-Навигатор, 2018. 464 с.
2. Пухальский Я.В., Воробьев Н.И., Шапошников А.И., Пищик В.Н., Свиридова О.В., Толмачев С.Ю. Влияние слабых вращающихся магнитных полей на коммуникацию молекулярных сигналов между бактериями *Shingomonas* sp. и растениями гороха / Сб. VIII межд. конгресса «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине». Санкт-Петербург. 10-14.09.2018 // Изд-во ФГБОУ ВО СПбПУ Петра Великого. 2018. Т. 8. С. 74-75.
3. Тарасенко В. Я., Толмачев С. Ю. Устройство для обработки воды или водных растворов «Акватор» / Пат. РФ № 2297392 от 28.12.2004.
4. Воробьев Н.И., Пухальский, Белимов А.А., Пищик В.Н., Свиридова О.В., Толмачев С.Ю. Микробно-растительный сигналинг в условиях магнитного облучения / Сб. трудов конференции PLAMIC2018 «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего, 13-17.08.2018. Уфа. 2018. С. 118.

ЭФФЕКТ ПОЛИЕНОВЫХ МАКРОЛИДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ ВИРУСОВ EFFECT OF POLYENE MACROLIDE PREPARATIONS ON THE VIRUS PROLIFERATION

Гафар-заде М.Ф.

Институт молекулярной биологии и биотехнологий Национальной Академии Наук Азербайджана, Баку,
m_gafarzade@mail.ru

Большая группа макроциклических соединений, являющихся продуцентами низших эукариотов, относится к полиеновым антибиотикам (ПА). ПА обладают противогрибковыми свойствами, что, в свою очередь, позволило использовать эти соединения в практической медицине для лечения инвазивных микозов. Тем не менее, оказалось, что некоторые из этих соединений (в частности, амфотерицин В, нистатин и филиппин) ингибируют бактериальные и вирусные инфекции. Будучи доклеточной биологической субстанцией (пассивным вирионом до контакта с клеткой и активным вирусом внутри клетки-хозяина), в отличие от микроорганизмов, вирус не является структурой, способной к самостоятельной репликации собственной нуклеиновой кислоты, биосинтезу белка и последующей сборке вириона. Поэтому этот процесс имеет место уже после контакта вируса с клеткой-хозяином, то есть с активизацией вируса внутри клетки. При этом репродукция вируса происходит в различных частях клетки - в ядре или цитоплазме. Для того, чтобы предотвратить репродукцию вируса и образование вирионов, необходимо воздействовать эффективным соединением в область контакта вируса с клеткой. Такими соединениями оказались макролидные антибиотики полиеновой структуры. Исследования показали, что ПА оказывают эффективное действие на вирус СПИДа, энтеровирусы, вирус гепатита, герпеса, вирус гриппа, вирус везикулярного стоматита и некоторых других вирусных инфекций, включая растительные вирусные инфекции [1, 2]. На основании этих данных можно сделать вывод, что амфотерицин В, включая его производные, нистатин, леворин и филиппин обладают антивирусным эффектом и могут блокировать процесс репликации вируса. Было показано действие пентаенового ПА филиппина на вирусы гриппа и везикулярного стоматита. Вирусная репродукция представляет собой уникальную форму выражения чужеродной (вирусной) информации в клетках человека и животных, насекомых, растений и бактерий, которая связана матрично-генетическим механизмом передачи вирусной информации клеткам. Так, например, энтеровирусная инфекция 71 (EV71), являющаяся РНК-содержащим однонитевым вирусом, приводит к сердечно-легочным осложнениям и смерти у маленьких детей, а в некоторых случаях индуцирует болезни центральной нервной системы. В этом случае амфотерицин В способен ингибировать репликацию энтеровируса. Кроме того, амфотерицин В ингибировал действие энтеровируса EV68. Исследования показали, что амфотерицин В действует на ранней стадии включения вируса EV71 в клетки, препятствуя связыванию и внедрению вируса EV71 в клетки хозяина. Будучи эффективным антигрибковым препаратом, амфотерицин В, таким образом, может быть новым терапевтическим средством для лечения вирусной инфекции EV71. Необходимо отметить, что амфотерицин В и его метиловый эфир также проявляют активность против вируса везикулярного стоматита (VSV), вирусов простого герпеса 1 (HSV-1), вируса Синдбиса, вируса осповакцины и вируса иммунодефицита человека типа 1 (ВИЧ-1). Этот антибиотик использовался и в комбинированной терапии для лечения грибковой и вирусной инфекции (1). Весьма интересные данные получены относительно действия метилового эфира амфотерицина В, который оказался значительно менее токсичным по сравнению с исходным антибиотиком. Метиловое производное амфотерицина В проявляет антивирусный эффект против вируса везикулярного стоматита, вируса простого герпеса 1 (HSV-1) и вируса Синдбиса в отличие от аденовирусов типа 4 и эховирусов типа 11, лишенных оболочки. Степень инактивации вируса зависит от концентрации метилового эфира амфотерицина В. Связь этого препарата с вирусом везикулярного стоматита была доказана на основании связывания антибиотика с вирусом в линейном

градиенте сахарозы. Полиены чувствительны к стерину компоненту клеточных мембран [3]. Исходя из этого, стеринные компоненты мембраны клетки-хозяина интегрируются в оболочку вируса и, вероятно, этот участок оболочки становится местом реакции с метиловым производным амфотерицина В. Было детально исследовано действие метилового эфира амфотерицина В на вирус иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекция). При этом антибиотик входил в контакт с холестерином и подавлял образование вирусных частиц (вируса ВИЧ) типа HIV-1. Электронно-микроскопические исследования показали, что метиловый эфир амфотерицина В разрушает морфологию вирионов. Мембрано-связанных холестерин в комплексе с антибиотиком ингибирует процесс репликации вируса ВИЧ, изолированных от клеточных линий.

1. Waheed A.A. Abian S.D., Soheilian F. et al. Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 assembly and release by the cholesterol-binding compound amphotericin B methyl ester: evidence for Vpu dependence, *J Virol*, 2008, v.82, p. 9776–9781.
2. Xu F., Zhao X., Hu S. et al. Amphotericin B Inhibits Enterovirus 71 Replication by Impeding Viral Entry, *Sci. Rep.*, 2016, v. 6, Article number 33150.
3. Касумов Х.М. Структура и мембранная функция полиеновых макролидных антибиотиков. Монография, «Наука», Москва, 2009, с. 1-512.

ВЛИЯНИЕ ОЛИГОСАХАРИДОВ ИЗ HELIANTHUS TUBEROSUS L. НА РАЗВИТИЕ КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ РАСТЕНИЙ

INFLUENCE OF OLYGOSACCHARIDES DERIVED FROM HELIANTHUS TUBEROSUS L. ON THE PLANT ROOT DEVELOPMENT

Генералов Е.А.

МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, кафедра биофизики, Москва, geenrals1179@gmail.com

Одной из основных современных проблем человечества является обеспечение растущего спроса увеличивающегося числа жителей планеты в продуктах питания. Для этого создаются отдельные направления в молекулярной биофизике, биотехнологии и биоинженерии, которые занимаются изучением и созданием новых подходов в ведении сельского хозяйства, в том числе стимуляцией и улучшением основных показателей растений: энергии прорастания, опушенности корневой системы, всхожести посевного материала, увеличения плодовой и зеленой массы и др. В данный момент известны различные стимуляторы роста растений и адаптогены растительной направленности: цитокинины, олигосахариды, индолуксусная кислота, гетероауксины, гибберелины, мицефит и пр. Однако все они имеют свои ограничения и недостатки, обуславливающие поиск новых средств (1). Вместе с тем одним из перспективных направлений исследований является использование олигосахаридов (2, 3).

В свою очередь были выделены фракции олигосахаридов из коркового слоя *Helianthus tuberosus* L. с использованием тангенциального фильтрования, гельпроникающей хроматографии и диализных систем. На первом этапе проводилась водная экстракция измельченного слоя при температуре 100 °С, центрифугирование при 8000 об/мин и декантация. На следующем этапе происходит отсечение низкомолекулярных фракций до 1 кДа и высокомолекулярных - более 100 кДа за счет использования системы Sartorius SartoJet с фильтрами-кассетами Sartosop с порами необходимого размера. Полученную фракцию диализовали и наносили на колонку с Sephadex G75 уравновешенную 0.5 М KCL, элюировали, концентрировали с использованием диализной системы. Конечный раствор элюировали водой с использованием колонки Sephadex G25, уравновешенной водой. Полученные фракции объединяли и тестировали на биологическую активность. Количество углеводов в фракциях оценивали методом Дюбуа.

Моделью для проверки биологической активности является замачивание с увлажнением семян в растворах различной концентрации от 1 и 10 γ на лунку (4). Использовались семена огурцов сорта «Нежинский». На каждую экспериментальную точку использовалось по 10 семян. Контролем служили семена, замоченные с увлажнением, без добавления олигосахаридов. Замеряли штангенциркулем длину корешков и количество проросших семян через 24 (сутки) и 48 (2 суток). Визуальное наблюдение продолжали и после вторых суток.

Все полученные фракции содержали в своем составе более 90% углеводов, что свидетельствует об углеводной природе биологической активности.

В результате проверки биологической активности получены следующие данные: прорастание семян во всех экспериментальных группах происходило раньше по сравнению с контролем (48 ч с момента замачивания): для фракции 1-10 кДа – через сутки, для фракции 1-5 кДа через 1,5 суток, для фракции 5-10 кДа 40 ч. При этом на вторые сутки процент всхожести в контрольной культуре составил 70%, а в экспериментальных группах 90, 90 и 80%, соответственно. На вторые сутки наилучшие результаты по среднему значению длины корешков показала фракция 1-5 кДа при замачивании в концентрации 10 γ на лунку – 2,03 ± 0,01 см, при замачивании 1 γ – 1,33 ± 0,01 см, контроль – 0,63 ± 0,01 см. Для фракций 1-10 кДа, 5-10 кДа и

концентраций 1 и 10 γ: $1,00 \pm 0,02$ см, $0,93 \pm 0,02$ см и $1,50 \pm 0,01$ см и $0,83 \pm 0,03$ см, соответственно. Вместе с тем наблюдалось более раннее формирование листовенной системы стебля проросших семян в группе 5-10 кДа, что может свидетельствовать о разнородной биологической активности полученных фракций 1-5 кДа и 5-10 кДа.

1. Федулов Ю.П., Котляров В.В., Доценко К.А., и др. Рост и развитие растений: учебное пособие. - Краснодар: КубГАУ. 2013. 85 с.
2. Moenne A. Marine Algae Oligo-carrageenans (OCs) Stimulate Growth and Defense Responses in Terrestrial Plants. 2016. P. 41-49.
3. Cabrera J.C., Wégria G., Onderwater R.C.A. et al. Practical use of oligosaccharins in agriculture. // Acta Hort. 2013. P. 195-212.
4. Пикушова Э.А., Веретельник Е.Ю., Бедловская И.В., Шадрин Л.А. Обработка семян сельскохозяйственных культур пестицидами против вредителей и болезней. Учебно-методическое пособие. - Краснодар. 2012. 79 с.

АТМОСФЕРНОЕ ДАВЛЕНИЕ КАК БИОФИЗИЧЕСКИЙ ФАКТОР

ATMOSPHERIC PRESSURE AS A BIOPHYSICAL FACTOR

Горячев Н.С.

Институт проблем химической физики РАН, 142432 Черноголовка, Московская обл., пр. акад. Семенова, 1.
Московский государственный университет им. Ломоносова, 119991, Москва.
E-mail: gor_ns@icp.ac.ru

В физике существует понятие нормальные условия, но насколько стабильны эти нормальные условия и что может произойти при их изменениях. Наиболее часто мы сталкиваемся с изменением температуры, влажности и состава атмосферы. Кроме того, существует еще один термодинамический фактор влияющий на любую биосистему – атмосферное давление. Оно слабо влияет на скорость биохимических реакций и зачастую его изменения считается малозначимым.

В истории земли существовали периоды, когда значение атмосферного давления существенно отличалось от текущего значения. По геологическим данным[1] в миоцен оно отличалось от нормальных условий в несколько раз. Это означает, что живые организмы, клетки и биологические процессы происходили в условиях отличающихся от текущих. Если считать, что изменения в условиях среды произошли в период массового вымирания животных (около 60 миллионов лет назад), то формирования всей биосистемы, эволюция организмов, функционирование белков и биохимических процессов протекающих в клетках, формировалось при давлении воздуха значительно отличающегося от нормальных условий на протяжении миллионов лет.

Что изменится в работе клетки с повышением давления? Казалось бы, что незначительное изменение давления слабо повлияет на биохимические процессы протекающие в клетке и во всем организме в целом. Но при детальном рассмотрении оказывается, что основным следствием является увеличение концентрации растворенных газов.

Основными газами, играющими ключевую роль в жизни, являются кислород и углекислый газ. Физико-химические свойства этих газов существенно отличаются друг от друга, так углекислый газ существенно больше растворяется в воде, кроме того CO_2 может образовывать угольную кислоту и существенно влиять на кислотно-щелочной баланс среды, что повлияет на функционирование многих ферментов. Увеличение содержания кислорода приведет к лучшему насыщению органов кислородом. Одним из ярких следствий увеличения давления можно назвать увеличение скорости анаэробных реакций, что может объяснять размеры динозавров в мезозойскую эру. Увеличение давления и как следствие плотности воздуха хорошо согласуется с существованием гигантских птерозавров с размахом крыльев до 10 метров. Как еще можно объяснить существование меганевров – гигантские стрекозы с размахом крыльев до 70 сантиметров, как не повышенной плотностью воздуха в каменноугольный период(300 миллионов лет назад)

Все это может говорить о том, что мы живем не вполне в нормальных условиях. Изучение процессов происходящих при повышенном давлении, может стать важным направлением биофизики, что может иметь не только теоретическое, но и практическое значение.

1. Berner R.A., Landis G.P., Gas bubbles in fossil amber as possible indicators of the major gas composition of ancient air. // Science. 1988. Vol. 239, Issue 4846, pp. 1406-1409

ГЕНЕРАЦИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА ПРИ ДЕЙСТВИИ ИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА КОЛЛОИДНЫЕ РАСТВОРЫ НАНОЧАСТИЦ В ВОДЕ, ОРГАНИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЯХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ

GENERATION OF ACTIVE FORMS OF OXYGEN IN THE EFFECT OF INTENSIVE LASER RADIATION ON COLLOIDAL SOLUTIONS OF NANOPARTICLES IN WATER, ORGANIC SOLVENTS AND BIOLOGICAL LIQUIDS

Гудков С.В.¹, Симакин А.В.¹, Саримов Р.М.¹, Асташеев М.Е.², Баймлер И.В.¹, Бармина Е.В.¹, Жильникова М.И.¹, Раков И.И.¹, Шкирин А.В.¹, Козлов В.А.³, Бункин Н.Ф.³, Шафеев Г.А.¹

¹ – Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, E-mail S_makariy@rambler.ru

² – Институт биофизики клетки Российской академии наук, Пущино

³ – Московский Государственный Технический Университет имени Н. Э. Баумана, Москва

Интенсивные лазерные излучения активно используются в практической медицине и биологии. Показано, что незначительная добавка наночастиц (НЧ) может существенно повысить эффективность применения лазерного излучения. В докладе будет представлено влияние НЧ различных металлов на основные величины радиационно-химических выходов стабильных и радикальных продуктов фотолиза воды, органических растворителей и биологических жидкостей. Будут рассмотрены изменения скоростей образования активных форм кислорода (АФК) от концентрации НЧ, их морфологии, материала, степени окисления. Будут представлены зависимости скоростей образования АФК от характеристик лазерного излучения. При высоких интенсивностях лазерного излучения будут охарактеризованы параметры плазмы и звука при оптическом пробое.

НЧ металлов (Au, Sc, Ti, V, Mn, Fe, Ni, Tb, Eu, Tm) получены с помощью лазерной абляции. Средний диаметр НЧ 10-20 нм. Оптический пробой в коллоидных растворах таких НЧ осуществляли с помощью лазера Nd: YAG (1064 нм, импульс 10 нс с энергией до 2 мДж, частота до 8 кГц). Лазерное излучение фокусировалось внутри жидкости через оптическое окно и перемещалось по линейной траектории 20 мм в длину со скоростью 3000 мм/с. Расчетный диаметр лазерного луча в фокусе составлял 30 мкм, что соответствует плотности мощности лазерного излучения в жидкости 140 Вт/см². При таком максимальном флюенсе яркая линия из плазмы появилась в экспериментальной кювете на 2-3 мм выше поверхности оптического окна. В экспериментальную кювету были интегрированы амперометрические сенсоры на молекулярный кислород и водород, для регистрации акустических колебаний индуцированных лазерным излучением использовали высокочувствительный пленочный датчик, фотосъемка свечения плазмы образующейся при оптическом пробое происходила с помощью CCD камеры. Полученные с CCD камеры изображения обрабатывали с помощью разработанной нами программы LaserImage. Измеряли несколько видов АФК, в наибольшем количестве экспериментов регистрировали пероксид водорода (метод усиленной хемилюминесценции [1]) и гидроксильный радикал (с помощью специфического сенсора кумарин-3карбоновой кислоты [2]).

Интересный феномен зарегистрирован при исследовании влияния концентрации НЧ (10^6 - 10^{11} шт/мл) на скорости генерации АФК под действием лазерного излучения. Показано, что при кратном разведении НЧ корреляция между концентрацией НЧ и числом разбавлений может утрачиваться [3]. Также показано, что механические воздействия, применяемые при разведении коллоидных растворов НЧ, могут приводить к генерации АФК. В отдельной серии экспериментов обогащенная пероксидом водорода вода подвергалась многократным разбавлениям в условиях механического воздействия. Установлено, что при достижении некоторого числа разбавлений корреляция между концентрацией пероксида водорода и числом разбавлений утрачивается, т.е. концентрация перестает зависеть от числа разбавлений [4]. Более того, наблюдается некоторый ее рост, за который ответственно турбулентное перемешивание раствора, сопровождающее процедуру разбавления. Скорость генерации пероксида водорода при этом составляет около 10^{-9} моль/л/мин при временах воздействия несколько минут. Наиболее интересные данные, связанные с пробоподготовкой НЧ, также будут представлены в докладе.

Работа поддержана грантом РФФИ 19-02-00061_a и грантом Президента РФ (МД-3811.2018.11). Часть работы выполнена при поддержке НИР "Физические методы в сельском хозяйстве и экологии" (№ 0024-2019-0004).

1. Barmina E.V. et al. Stable Products of Laser-Induced Breakdown of Aqueous Colloidal Solutions of Nanoparticles. // J Laser Micro/Nanoeng. 2017. Vol. 12. P. 254.
2. Gudkov S.V. et al. Unmodified hydrated C₆₀ fullerene molecules exhibit antioxidant properties, prevent damage to DNA and proteins induced by reactive oxygen species and protect mice against injuries caused by radiation-induced oxidative stress. // Nanomedicine. 2019. Vol. 15. P. 37.
3. Simakin A.V. et al. The Effect of Gold Nanoparticles Concentration and Laser Fluence on the Laser-Induced Water Decomposition. // J Phys Chem B. 2019. Vol. 123. P. 1869.
4. Gudkov S.V. et al. Influence of Mechanical Effects on the Hydrogen Peroxide Concentration in Aqueous Solutions. // Phys Wave Phenom. 2019. Vol. 27. P. 141.

МЕМБРАННОКЛЕТОЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ И АДАПТИВНЫХ ГОРМОНОВ

MEMBRANE CELL EFFECTS OF LOW-INTENSITY LASER RADIATION AND ADAPTIVE HORMONES

Дерюгина А.В.¹, Иващенко М.Н.², Игнатъев П.С.³, Таламанова М.Н.¹, Самоделкин А.Г.²

Институт биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», г. Нижний Новгород, kafedra2577@mail.ru;
ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия», г. Нижний Новгород;
АО «Производственное объединение «Уральский оптико-механический завод им. Э.С. Яламова»

На сегодняшний день известны следующие механизмы действия низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) на организм: активизация метаболизма, антиоксидантное действие, усиление микроциркуляции, антигипоксическое действие. В то же время анализ литературы показывает, что механизмы действия лазерного излучения изучены пока недостаточно.

В работе изучено действие адреналина ($1 \cdot 10^{-9}$ г/мл), кортизола ($5 \cdot 10^{-7}$ г/мл), НИЛИ инфракрасной области спектра на белковый спектр эритроцитарных мембран. Исследование проведено *in vitro* на отмытых эритроцитах, контролем служили клетки погруженные в физиологический раствор.

Через 15 мин после инкубации эритроцитов адреналином регистрировалось снижение концентрации спектрина, анкирина, белка полосы 3, гликофооринов и увеличение фракции белков полос 4.1, 4.2, 4.9, тропомиозина относительно контроля. К 120 мин наблюдался рост концентрации белка полосы 3, гликофооринов и снижение содержания белков полосы 4 относительно концентрации данных белков на 15 минуте эксперимента. Исключение составил уровень спектрина, содержание которого уменьшалась на протяжении всего эксперимента. Инкубация эритроцитов кортизолом к 15 мин определила рост концентрации спектрина при отсутствии достоверных изменений других белковых фракций эритроцитов. К 120 минуте эксперимента отмечено увеличение белка полосы 3 и гликофорина. Таким образом действие стресс-гормонов в основном реализуется через сиалогликопротеины и белки цитоскелета.

При действии НИЛИ отмечалось снижение содержания спектрина, гликофорина и увеличение белка полосы 4.2 через 15 мин после воздействия. К 120 мин эксперимента содержание эритроцитарных белков, соответствовала контрольным значениям.

Методом лазерной интерференционной микроскопии подтверждено, что изменение жесткости мембраны приводит к изменению популяционного состава с увеличением количества эритроцитов с ригидной мембраной (эхиноциты, сфероциты). После действия НИЛИ эритроциты сохраняли форму дискоцита, но имели не гладкую форму, а «шероховатую» с выростами и выпуклостями. Негладкая форма клеток, вероятно, связана с изменениями в структуре цитоскелета, перераспределением гемоглобина в цитоплазме и подмембранных областях.

Полученные данные свидетельствует о выраженных изменениях структуры мембран эритроцитов при стрессе. Отмеченный мембраностабилизирующий эффект низкоинтенсивного лазерного излучения может быть использован для нивелирования стрессовой реакции.

«Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-016-00195».

ЭЛЕКТРОМИОГРАФИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЫШЦ ВЕРХНЕЙ КОНЕЧНОСТИ В ПРОЦЕССЕ ВЫПОЛНЕНИЯ ДВИГАТЕЛЬНОЙ ЗАДАЧИ В РЕЖИМЕ БИОУПРАВЛЕНИЯ ВИРТУАЛЬНЫМ ОБЪЕКТОМ ПО СТАБИЛОМЕТРИЧЕСКОМУ СИГНАЛУ

ARM MUSCLES ELECTROMIOGRAPHIC INDEXES ON STABILOMETRIC PARAMETERS BASED BIOFEEDBACK MOVEMENT TASK

Джелдубаева Э.Р., Бирюкова Е.А., Чуян Е.Н., Кубряк О.В.¹, Бабанов Н.Д.¹

ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», кафедра физиологии человека и животных и биофизики, Республика Крым, Симферополь, E-mail: delviza@mail.ru

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина»

Актуальными являются исследования, направленные на выявление системных механизмов биоуправления движением, в том числе связанные с оценкой изменения электромиографических характеристик при таком типе воздействия. Исследованы электромиографические показатели мышц верхней конечности у здоровых добровольцев в процессе выполнения двигательной задачи с биологической обратной связью (БОС) по опорной реакции.

В исследовании приняли участие 30 юношей в возрасте 18-25 года. Со всеми волонтерами в течение 4-х дней после ежедневной предварительной регистрации уровня поверхностной электромиограммы (ПЭМГ)

проводили БОС-тренинг с использованием специального джойстика, установленного на силовую платформу ST-150 (ООО Мера-ТСП, г. Москва). Основная процедура представляла собой управление рукой виртуальным объектом, когда испытуемому предлагалось поочередно обеими руками в режиме БОС смещать метку центра давления на стабилметрическую платформу, визуализированную на экране монитора. Всего было проведено четыре основных сеанса.

Во время сеансов БОС-управления у всех волонтеров проведена одновременная регистрация ПЭМГ со следующих мышц: *m. flexor digitorum superficialis*, *m. extensor digitorum*, *m. extensor pollicis longus*, *m. flexor pollicis brevis* по общепринятой методике регистрации с помощью многофункционального компьютерного комплекса «Нейрон-Спектр-5/S» с использованием программы «Нейро-МВП.NET» (ООО «Нейрософт», Россия, г. Иваново, 2015). Оценивали такие параметры, как максимальная, средняя, суммарная амплитуды (мкВ) и средняя частота сигнала по данным турно-амплитудного анализа (1/с). Значимость различий средних величин показателей ПЭМГ оценивали с помощью дисперсионного анализа для повторных наблюдений с применением F-критерия Фишера (RepeatedmeasuresANOVA или GLM-4).

Как показали результаты исследования, в разные сеансы биоуправления по опорной реакции отмечались разнонаправленные изменения биоэлектрической активности мышц предплечья и кисти. Так, в первые два сеанса биоуправления по опорной реакции зарегистрировано незначительное увеличение максимальной, суммарной и средней амплитуд ($p > 0,05$) у большинства исследуемых мышц, а также средней частоты. В ходе последующих сеансов биоуправления зарегистрировано статистически значимое уменьшение значений показателей максимальной (в среднем на 46,49%; $p < 0,005$), суммарной (на 39,27%; $p < 0,001$) и средней (на 31,05%; $p < 0,01$) амплитуд ПЭМГ мышц кисти и предплечья относительно фоновых значений. Вместе с тем, динамика значений средней частоты турнов ПЭМГ исследуемых мышц в ходе разных сеансов биотренинга по опорной реакции изменилась незначительно. Уменьшение показателей средней и максимальной амплитуды при нормальных значениях частотных характеристик свидетельствует о преимущественной активизации низкочастотных двигательных единиц (ДЕ) и возможности этих мышц проявлять значительные усилия и выносливость и указывает на улучшение функционального состояния нервно-мышечного аппарата. Из фазовых диаграмм турно-амплитудного анализа, полученных при обработке ПЭМГ следует, что во время первых сеансов биоуправления было зарегистрировано возрастание области заполнения диаграммы относительно фоновых показателей. В ходе дальнейших биотренингов по опорной реакции происходило качественное изменение формы локализации фазовой диаграммы в сторону снижения занимаемой площади и с объединением в единичные мышечные пулы.

Полученные данные об изменении паттернов ПЭМГ мышц кисти и предплечья в ходе разных сеансов биоуправления по опорной реакции свидетельствуют об усилении степени синхронизации импульсов между ДЕ и развитии адаптивности в нервно-мышечной системе и могут быть использованы для формирования управляющих воздействий системы роботизированных протезов утраченных конечностей человека.

Поддержано Грантом Государственного совета Республики Крым для молодых ученых на 2019 год.

Работа выполнена на базе ЦКП «Экспериментальная физиология и биофизика» Таврической академии ФГАОУ ВО «КФУ имени В.И. Вернадского».

ИЗМЕНЕНИЕ БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ У КРЫС ПРИ ИЗОЛИРОВАННОМ И КОМБИНИРОВАННОМ ДЕЙСТВИИ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ МИЛЛИМЕТРОВОГО ДИАПАЗОНА И ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ЭКРАНИРОВАНИЯ

THE PAIN SENSITIVITY CHANGE IN RATS BY ISOLATED AND COMBINED INFLUENCE OF MILLIMETER LOW-INTENSITY ELECTROMAGNETIC RADIATION AND ELECTROMAGNETIC SCREENING

Джелдубаева Э.Р., Трибрат Н.С., Чуян Е.Н.

ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», кафедра физиологии человека и животных и биофизики, Республика Крым, Симферополь, E-mail: elena-chuyan@rambler.ru

В наших предыдущих работах показано изменение ноцицепции у позвоночных животных (в формалиновом, ацетатном тестах, в тесте «горячая пластинка») и человека (ноцицептивный флексорный рефлекс, эстероцептивная супрессия произвольной мышечной активности, Н-рефлекс) при действии низкоинтенсивного электромагнитного излучения (ЭМИ) миллиметрового диапазона (ММ), а также в условиях электромагнитного экранирования (ЭМЭ) у беспозвоночных животных. Однако изменение болевой чувствительности животных в условиях комбинированного действия этих физических факторов не исследовано. В связи с вышеизложенным, целью данной работы явилось оценка изменения болевой чувствительности у крыс при изолированном и комбинированном действии низкоинтенсивного ЭМИ ММ и умеренного ЭМЭ.

Изменение болевой чувствительности у крыс оценивали в «tail-flick» тесте (тест «отдергивания хвоста»), позволяющей моделировать острую боль путем электрораздражения. Для определения уровня болевой

чувствительности оценивали время начала болевой реакции животного от момента подачи стимула – латентный период болевой реакции (ЛПБР).

Как показали результаты исследования, у крыс, подвернутых 21-суточному воздействию умеренного ЭМЭ (коэффициент экранирования постоянной составляющей магнитного поля, измеренный с помощью феррозондового магнитометра, составлял по вертикальной составляющей 4,375, по горизонтальной составляющей – 20,0), отмечались трехфазные изменения ноцицепции. Так, в первой фазе – стадии гипералгезии (1-5 сутки) отмечалось уменьшение ЛПБР в среднем на 9,57 % ($p < 0,03$) относительно исходных значений. Далее развивался антиноцицептивный эффект – вторая фаза (7-11 сутки), когда отмечалось увеличение показателя ЛПБР на 18,50% ($p < 0,01$) относительно значений данного показателя у животных контрольной группы. В третьей фазе (13-21 сутки), показатели ноцицепции постепенно снижались, и на 17-е сутки ЛПБР уменьшился на 16,45 % ($P < 0,03$) относительно значений данного показателя, полученных на 11-сутки ЭМЭ.

У животных, подвергнутых изолированному воздействию ЭМИ ММ (длина волны 7,1 мм, плотность потока мощности 0,1 мВт/см²; локализация – затылочно-воротниковая область, экспозиция 30 минут, продолжительность – 21 сутки), отмечался выраженный антиноцицептивный эффект, начиная с первого сеанса воздействия, что проявилось в возрастании уровня ЛПБР в тесте «отдергивания хвоста» (максимально на 58,66 % ($p < 0,001$) относительно данных значений у крыс в контрольной группе), что согласуется с нашими предыдущими исследованиями.

Результаты исследования у животных, подвергавшихся комбинированному действию низкоинтенсивного ЭМИ ММ и ЭМЭ, свидетельствуют о развитии антиноцицептивного эффекта с фазностью, характерной для группы животных, находившихся в условиях изолированного ЭМЭ, однако значения ЛПБР были выше в среднем на 13,77 % ($p < 0,05$) по сравнению с таковыми у крыс при изолированном ЭМЭ. При сравнении с данными у крыс третьей группы, подвергнутых изолированному воздействию ЭМИ ММ, данный показатель был ниже в среднем на 20,38% ($p < 0,02$). Это свидетельствует о том, что низкоинтенсивное ММ-воздействие оказывает антиноцицептивное действие и модулирующий эффект при гипералгезии, вызванной ЭМЭ. В то же время ЭМЭ уменьшает выраженность антиноцицептивного действия ЭМИ ММ.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о возможности коррекции экранобусловленной гипералгезии с помощью низкоинтенсивного ЭМИ ММ.

Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках инициативной части государственного задания № 6.5452.2017/8.9 Минобрнауки России в сфере научной деятельности темы «Временная организация физиологических систем человека и животных: феноменология и механизмы генерации и регуляции микро- и мезоритмов».

ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ В ЖИВЫХ СИСТЕМАХ ПРИ ФРАКЦИОНИРОВАНИИ ИЗОТОПОВ

POSSIBLE MECHANISMS OF BIOLOGICAL EFFECTS OBSERVED IN LIVING SYSTEMS DURING ISOTOPE FRACTIONATION

Джимаков С.С.¹, Басов А.А.²

¹Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

²Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия, E-mail: jimack@mail.ru

Известно, что многие физические и химические процессы в живых системах сопровождаются изотопным фракционированием атомов биологически значимых элементов, прежде всего Н, С, О и N [1]. Изменения соотношения тяжелых и более легких изотопов биогенных элементов являются основой для возникновения как квантовых (туннельных), так и термодинамических и, как следствие, кинетических изотопных эффектов, проявляющихся в естественных условиях ускорением, замедлением или разветвлением метаболических реакций, а также изменением скорости поступления метаболитов по транспортным каналам, приводящих к локальному флуктуационному увеличению пула биологически активных веществ [2] в отдельных компартаментах или органоидах клетки. Кроме того, изменение естественного изотопного соотношения в некоторых структурных компонентах живых систем сопровождается модификацией механизмов отдельных биохимических реакций, что обусловлено у животных и растений, например, компартаментализацией [3] и в целом может приводить, в том числе к более быстрому возникновению адаптации при воздействии различных стрессовых факторов.

В работе представлено оригинальное объяснение некоторых физических механизмов (основанных на термодинамических, кинетических и квантовых туннельных эффектах), обеспечивающих стабильное фракционирование изотопов, что приводит к накоплению определенных изотопных форм в интрацеллюлярном и межклеточном пространстве, включая молекулярные эффекты изотопного обмена ²H/¹H, ¹⁸O/¹⁶O и других пар атомов, проявление их эффектов *in vivo* на органоидном и организменном уровнях. Также обсуждается новая

гипотеза фракционирования тяжелых нерадиоактивных изотопов в живых системах посредством реализации нейтронного эффекта. Сравнительный анализ результатов некоторых экспериментальных исследований показал следующую особенность: весьма вероятно, что развитие «изотопного шока» у живых существ наблюдается в основном, при наличии ковалентных связей между атомами с нечетным числом нейтронов, т.е. имеющих нескомпенсированный нейтрон. Установлены следующие условия возникновения нейтронного эффекта в биологических системах:

1. Возникновение нейтронного эффекта в биологических системах наблюдается при наличии химических связей между атомами, у которых имеется суммарное преобладание нейтронов над протонами, выражаемое нечетными положительными числами (1, 3, 5, 7 и т.д.): $N_n - N_p = 2k + 1$, где $k \in Z$, n – нейтрон, p – протон.
2. Возникновение нейтронного эффекта в биологических системах наблюдается при наличии химических связей между атомами, у которых имеется дробный результирующий спин ядер: $2k \neq A\text{-спин} + A'\text{-спин} \neq 2k + 1$, где $k \in Z$, A -спин – спин атома;
3. Возникновение нейтронного эффекта в биологических системах наблюдается при наличии химических связей между атомами, у которых имеется противоположный знак спина ядер: $R\text{-спин}^{-+}$, где «+» и «-» представляют собой четность ядра атома.
4. Усиление изотопного резонанса возрастает в следующем ряду условий (постулатов): $N_n - N_p = 2k + 1 \gg 2k \neq A\text{-спин} + A'\text{-спин} \neq 2k + 1 \gg R\text{-спин}^{-+}$, где $k \in Z$, n – нейтрон, p – протон, «+» и «-» представляют собой четность ядра атома.
5. Неаддитивное усиление изотопного резонанса ожидается при парном сочетании любых двух условий (постулатов) из трех первых перечисленных (1-2, 1-3, 2-3).
6. Наиболее благоприятные условия для возникновения максимального изотопного резонанса в биологических системах наблюдаются при сочетании всех трех первых условий (постулатов 1-3), что подтверждается экспериментальными данными.
7. В атомах металлов при отсутствии ковалентных или координационных связей величина изотопного резонанса пропорциональна свойствам атома металла: разнице нейтронов и протонов его образующих, спину ядра и четности ядра.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект №19-44-233005.

1. Schmidt H.L., Robins R.J., Werner R.A. Multi-factorial in vivo stable isotope fractionation: causes, correlations, consequences and applications // *Isotopes in Environmental and Health Studies*, 2015, Vol. 51, № 1, P. 155-199.
2. Galimov E.M. On an erroneous "experience" of isotope fractionation in enzymatic reaction // *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 2007, Vol. 81, № 5, P. 831-835.
3. Brenna J.T. Natural intramolecular isotope measurements in physiology: elements of the case for an effort toward high-precision position-specific isotope analysis // *Rapid Communicat. in Mass Spectrometry*, 2001, Vol. 15, P. 1252-1262.

АКТИВАЦИЯ ЕСТЕСТВЕННОЙ ЗАЩИТЫ МЫШЕЙ ПРИ ОБЛУЧЕНИИ НИЗКОИНТЕНСИВНЫМ ФЕМТОСЕКУНДНЫМ ЛАЗЕРОМ

ACTIVATION OF NATURAL DEFENSE OF MICE IRRADIATED WITH LOW-INTENSITY FEMTOSECOND LASER

Дюкина А.Р.^{1*}, Заичкина С.И.¹, Юсупов В.И.², Розанова О.М.¹, Сорокина С.С.¹, Смирнова Е.Н.¹,
Поцелуева М.М.¹, Наумов А.А.¹

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино

²Институт фотонных технологий ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, Москва, dyukina@rambler.ru

В настоящее время фемтосекундные (ФС) лазеры являются наиболее перспективными в таких областях как физика, биология, медицина и другие прикладные сферы. Использование в диагностике и лечении новых лазерных технологий является одним из ведущих направлений в биомедицинских исследованиях. Характерными чертами ФС лазеров является малая длительность и высокая средняя интенсивность импульса. Имеющиеся в литературе результаты по исследованию биологических реакций и их последствий у животных, облученных ФС лазером, трудно сопоставимы между собой в связи с использованием разных объектов, мощностей и доз облучения, а также особенностями конструкции самих источников излучения. Поэтому необходимы комплексные исследования на животных *in vivo* с использованием нескольких методов и широким диапазоном условий облучения для понимания закономерностей действия ФС лазера на живые системы не только при больших мощностях и дозах, но и при низкоинтенсивном воздействии.

Цель исследования заключается в проверке эффективности использования неионизирующего низкоинтенсивного импульсного ФС лазерного излучения в качестве фактора активации естественной защиты организма с помощью теста «адаптивный ответ» в различных тканях и поиска безопасного диапазона используемых доз для медицинской адаптации. Эксперименты проводили на двухмесячных самцах мышей линии SHK и на каждую экспериментальную точку использовали не менее 5. Животных облучали в область

носа ФС лазером (АВЕСТА, РФ) (525 нм, 200 фс, 70 МГц) при мощностях 0.05, 0.5 и 5 мВт, и экспозиции от 1 до 50 с, что соответствует дозам излучения 0.1 – 52 мДж/см². В качестве положительных контролей животные были облучены непрерывным He-Ne лазерным излучением (632.8 нм, 0.7 мВт, 0.16 мВт/см²) в течение 5 и 100 с (2 и 40 мДж/см²) и рентгеновским излучением в дозе 0.1 Гр (4 мДж/см²). Через сутки по отработанным ранее нами схемам все группы животных дополнительно облучали рентгеновским излучением в дозе 1.5 Гр (60 мДж/см²). С помощью стандартных методик был проведен гематологический анализ, определен уровень продукции АФК в цельной крови методом люминол-зависимой зимозан-индуцированной хемилюминесценции (СНЕМILUM-12, Россия), индекс массы тимуса и селезёнки и уровень цитогенетических повреждений в костном мозге с помощью микроядерного теста.

Обнаружено, что при всех исследованных дозах ФС лазера клеточный состав крови, уровни цитогенетических повреждений в кроветворных органах и продукции АФК в цельной крови не отличались от спонтанного фона. Предварительная обработка животных ФС лазером только в дозах 3 мДж/см² (0.05 мВт), 10.4 и 31 мДж/см² (0.5 мВт) и 10 мДж/см² (5 мВт) и последующим воздействием рентгеновского излучения в дозе 1.5 Гр приводила к индукции адаптивного ответа в клетках костного мозга по микроядерному тесту и в цельной крови по продукции АФК, как и у положительных контролей. Предобработка мышей всеми дозами ФС лазера не защищала тимус и селезёнку от уменьшения клеточности, т.е. не индуцировала адаптивный ответ, в отличие от He-Ne лазерного и рентгеновского излучений в дозах 2 и 4 мДж/см², соответственно. Таким образом, при воздействии на мышей неионизирующим импульсным ФС лазером (525 нм) в зависимости от ткани наблюдается активация естественной защиты организма по тесту «адаптивный ответ» в том же диапазоне доз, как и в случае облучения мышей ионизирующим рентгеновским излучением или неионизирующим непрерывным He-Ne лазером (632.8 нм). Полученные данные могут быть использованы для стандартизации условий облучения и расширения области применения ФС лазеров в биологии и медицине.

ТЕМПЕРАТУРНАЯ ИНАКТИВАЦИЯ БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ В КРАХМАЛЬНОМ И ЖЕЛАТИНОВОМ ГЕЛЯХ

THERMAL INACTIVATION OF BUTYRYLCHOLINESTERASE IN STARCH AND GELATIN GELS

Лоншакова-Мукина В.И.¹, Есимбекова Е.Н.^{2,1}, Кратасюк В.А.¹

¹Сибирский федеральный университет, Красноярск, viktoriya.lww@gmail.com

²Институт биофизики СО РАН, Красноярск, esimbekova@yandex.ru

Бутирилхолинэстераза (BChE) является основой многих аналитических систем для контроля остаточных количеств фосфорорганических пестицидов в сельском хозяйстве. Кроме того, BChE активно используется в ингибиторном анализе, поскольку позволяет на широком круге материалов изучить вопросы субстрат-ингибиторной специфичности и влияния иммобилизации и условий измерения на аналитические характеристики определения ингибиторов. Тем не менее, остаётся нерешённой проблема отсутствия стабильности BChE при её использовании и хранении. Одним из основных способов получения стабильных ферментных препаратов BChE является её иммобилизация в различные носители. Крахмал и желатин, полимеры природного происхождения, образующие вязкие растворы и способные к формированию геля, активно используются для иммобилизации ферментов. Целью настоящей работы является определение механизмов термической инактивации бутирилхолинэстеразы в крахмальном и желатиновом гелях для определения возможности использования данных полимеров в качестве стабилизаторов BChE.

Активность BChE определяли по методу Элмана. Регистрацию оптической плотности раствора проводили при длине волны 412 нм. По изменению оптической плотности во времени вычисляли скорость гидролиза бутирилхолинэстеразой ее субстрата S-бутирилтиохолина йодистого (S-BChI), характеризующую активность фермента. Определение оптической плотности образцов проводилось на спектрофотометре UV-2700 (Shimadzu, Япония).

Проведен анализ температурной инактивации BChE в диапазоне от 50 до 64 °С. Установлено, что кинетика термоинактивации BChE в крахмальном (3 %) и желатиновом (1,4 %) гелях имеет принципиально одинаковый характер на всем диапазоне исследуемых в работе температур. Наблюдается термоинактивация второго порядка, включающая два различных механизма инактивации BChE, последовательно сменяющих друг друга и протекающих с разными скоростями (быстрая и медленная стадия). Быстрая стадия соответствует процессу диссоциации тетрамерного фермента на мономеры, а медленная стадия – процессу денатурации образовавшихся мономеров.

Используя уравнение Эйринга (1), были рассчитаны активационные параметры процесса температурной инактивации.

$$\ln \frac{k_i}{T} = -\frac{\Delta H^\ddagger}{R} \cdot \frac{1}{T} + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} + \ln \frac{k_B}{h}, \quad (1)$$

где k_i - константа скорости, k_B - постоянная Больцмана, h - постоянная Планка, T - абсолютная температура, R - универсальная газовая постоянная.

Для каждой стадии были рассчитаны энтальпия активации ΔH^\ddagger и энтропия активации ΔS^\ddagger . Энтальпия активации ΔH^\ddagger для быстрой и медленной стадий температурной инактивации ВChE в крахмальном геле составила 61 ± 3 и 22 ± 2 ккал/моль соответственно, энтропия активации ΔS^\ddagger составила 136 ± 12 и -2.03 ± 0.05 кал·К⁻¹·моль⁻¹, соответственно. Аналогично значения ΔH^\ddagger для ВChE в желатиновом геле составили 58 ± 6 , 109 ± 11 ккал/моль, и значения ΔS^\ddagger составили 149 ± 16 , 262 ± 21 кал·К⁻¹·моль⁻¹ соответственно. В результате сделан вывод о том, что крахмальный гель оказывает больший стабилизирующий эффект на ВChE при длительном воздействии высоких температур по сравнению с желатиновым гелем.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, Правительства Красноярского края, Красноярского краевого фонда науки, проект № 18-44-242003.

2-КАРБОКСИ-2-(N-АЦЕТИЛАМИНО)-3-(3',5'-ДИ-ТРЕТ-БУТИЛ-4'-ГИДРОКСИФЕНИЛ)-ПРОПИОНАТ КАЛИЯ ПОВЫШАЕТ УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ К ДЕЙСТВИЮ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ

2-CARBOXY-2-(N-ACETYLAMINO)-3-(3',5'-DI-TERT-BUTYL-4'-HYDROXYPHENYL)-PROPIONATE POTASSIUM INCREASES THE RESISTANCE OF PLANTS AND ANIMALS TO THE ACTION OF STRESS FACTORS

Жигачева И.В., Володькин А.А., Ерохин В.Н.

ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, E-mail zhigacheva@mai.ru

Стрессовые факторы приводят к смещению антиоксидантно-прооксидантного равновесия в сторону увеличения продукции АФК, что вызывает развитие ряда патологических состояний [1]. Основным источником АФК в этих условиях являются митохондрии у животных [1], митохондрии и хлоропласты у растений [1]. Взаимодействие АФК с полиненасыщенными жирными кислотами, входящими в состав липидов мембран, приводит к активации перекисного окисления липидов (ПОЛ). В результате ПОЛ образуются токсические продукты для клеток: альдегиды и 4-гидрокси-2,3-ноненали. Одни из этих токсикантов ингибируют фотодыхание, другие – цикл трикарбоновых кислот, что влияет на транспорт электронов в дыхательной цепи митохондрий за счет истощения пула НАДН в матриксе митохондрий [1]. Можно предположить, что препараты, обладающие адаптогенными свойствами в первую очередь должны влиять на генерацию АФК этими органеллами. На эту роль претендуют антиоксиданты. В качестве объекта исследования был выбран препарат, относящийся к классу пространственно-затрудненных фенолов - 2-карбоксии-2-(N-ацетиламино) -3-(3',5'-ди-трет-бутил-4'-гидроксифенил) -пропионат калия (калий анфен). Целью работы было также изучение функционального состояния митохондрий печени крыс и митохондрий 5-дневных проростков гороха в условиях стресса и влияние на него исследуемого препарата.

Поскольку в условиях стресса основным источником АФК являются митохондрии, необходимо было разработать модель имитирующую стресс, т.е. найти условия, при которых будет увеличиваться продукция АФК митохондриями, а следовательно, будет активироваться ПОЛ [2]. Эту задачу решили, разработав модель «старения» (инкубация митохондрий в гипотонической среде при комнатной температуре). Инкубация митохондрий в гипотонической среде вызывала слабое набухание митохондрий растительного и животного происхождения и рост генерации АФК, что нашло отражение в увеличении интенсивности флуоресценции продуктов ПОЛ в 3-4 раза. Препарат в концентрациях 10^{-6} - 10^{-8} , 10^{-13} и 10^{-14} М снижал интенсивность флуоресценции продуктов ПОЛ до контрольного уровня, что указывало на антистрессовую активность калий анфена. Протекторную активность препарата проверяли на модели острой гипобарической гипоксии (ОГГ) для крыс и модели дефицита воды (ДВ) для проростков гороха. ОГГ приводила к 1,5-3-кратному увеличению интенсивности флуоресценции продуктов ПОЛ в мембранах митохондрий печени крыс. Однократное введение крысам 10^{-6} М, 10^{-13} М анфена за 45 минут до воздействия предотвращало активацию ПОЛ. Активация ПОЛ в условиях стресса отразилась на физиологических показателях и прежде всего на выживаемости животных в условиях гипоксии. Продолжительность жизни животных в условиях различных видов гипоксии возрастала в 1,8-4,5 раза и в 3,9 раза, а выживаемость животных увеличивалась на 12-30%. Протекторное действие оказывал препарат и на функциональное состояние митохондрий проростков гороха: ДВ вызывал активацию ПОЛ в мембранах митохондрий проростков, о чем свидетельствует почти 6-кратное увеличение интенсивности флуоресценции конечных продуктов ПОЛ. Обработка семян и проростков гороха 10^{-13} М раствором калий анфена приводила к снижению интенсивности флуоресценции продуктов ПОЛ почти до контрольного уровня. Более того, обработка семян гороха 10^{-13} М раствором анфена предотвращала ингибирование ростовых процессов в условиях ДВ. Отметим, что в стрессовых условиях (ОГГ и ДВ) наблюдались изменения в биоэнергетических характеристиках митохондрий. Происходило снижение максимальных скоростей окисления НАД-зависимых субстратов на 29%, и эффективности окислительного фосфорилирования - на 35%. Однократное введение крысам 10^{-13} М препарата за 45 минут до воздействия предупреждало снижение активности I комплекса дыхательной цепи митохондрий печени.

Препарат, предотвращая активацию ПОЛ, вероятно, предохраняет ненасыщенные жирные кислоты, входящие

в состав фосфолипидов мембран митохондрий, от перекисного окисления, сохраняя высокую функциональную активность митохондрий, обеспечивающую устойчивость организма растений и животных к действию стрессовых факторов. Отметим, что биологические эффекты калий анфена в области 10^{-13} - 10^{-14} М, вероятно, обусловлены его способностью в водных растворах образовывать гидрат содержащие молекулярные ансамбли (наноассоциаты). Взаимодействие ассоциатов с аминокислотами, приводящее к изменению взаимного расположения молекул калий анфена, воды и молекул пептида, вероятно, влияет на структуру активного центра ферментов, что и определяет биологическую активность препарата в низких концентрациях.

1. Tailor N.L., Day D.A., Millar A.H. Tagrets of stress-induced oxidative damage in plant mitochondria and their impact on cell carbon/nitrogen metabolism// J. of Exp. Botany 2003. Vol. 55 (394). P. 1-10

2. Pryor W.A., Porter N.A. A suggested mechanism for the production of 4-hydroxy-2-noneal from the autoxidation of polyunsaturated fatty acids.// Free Radical Research Commun. 1990. Vol. 8. P. 541–543.

МОРФОТРОПИЯ И САМООРГАНИЗАЦИЯ КАРБОНАТА КАЛЬЦИЯ В ХОДЕ БИОМИНЕРАЛИЗАЦИИ: СИНТЕТИЧЕСКИЕ И ПРИРОДНЫЕ ОБЪЕКТЫ

MORPHOTROPY AND SELF-ASSEMBLY OF CALCIUM CARBONATE IN THE COURSE OF BIOMINERALIZATION: SYNTHETICAL AND NATURAL SUBSTANCES

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

¹Институт общей и неорганической химии, Москва, E-mail: zakharov@igic.ras.ru

²НИТУ «МИСиС», г. Москва

³Институт физической химии и электрохимии, Москва

Приведены сравнительные характеристики карбоната кальция (CaCO₃, КК) нативных и синтетических объектов. Проведено сравнение КК нативных объекти синтетического КК, оценка влияния условий образования на характеристики КК (морфотропная модификация, размер и габитус кристаллов).

Результаты наблюдения картин сканирующей и просвечивающей электронной микроскопии сопоставлены с данными термических исследований продуктов синтеза карбоната кальция (CaCO₃, КК) и проанализированы возможные пути и результаты образования синтетического и биогенного КК.

Образование карбоната кальция КК в ходе кристаллизации и биоминерализации и анализ факторов, влияющих на процесс кристаллизации КК, является актуальной задачами изучения процессов кальцификации организмов, направленного синтеза КК и разработкой эффективных подходов утилизации выбросов СО₂.

В природе КК имеет три кристаллические полиморфные модификации - кальцит, арагонит и ватерит.

Таблица 1. Кристаллографические характеристики безводных полиморфных модификаций КК.

| | Кальцит | Арагонит | Ватерит |
|---------------------------|---|--|---|
| Кристаллическая структура | Тригональная | Орторомбическая | Гексагональная |
| Пространственная группа | $R\bar{3}2/c$ | $Pm\bar{c}n$ | $P6_3/mmc$ |
| Параметры решетки | $a = b = 4.990 \text{ \AA}$ $c = 17.061 \text{ \AA}$ | $a = 4.9598 \text{ \AA}$ $b = 7.9641 \text{ \AA}$ $c = 5.7379 \text{ \AA}$ | $a = b = 7.16 \text{ \AA}$ $c = 2.547 \text{ \AA}$ |

Особенностью кристаллизации КК является участие аморфных фаз КК (АКК) в их образовании. Кристаллизация безводных полиморфных модификаций, обладающих наименьшей свободной энергией, происходит в соответствии с последовательностью: наиболее метастабильный гидратированный АКК → менее метастабильный гидратированный АКК → безводный АКК ~биогенный безводный АКК → ватерит → арагонит → кальцит, определенной на основе измерения энтальпии АКК с использованием ДСК, ДТГ и изотермической растворной калориметрии).

В ходе кристаллизации сначала формируется АКК, как *in vitro* так и *in vivo*, являющийся прекурсором преобладающих безводных полиморфных модификаций (кальцита, арагонита и ватерита). Кристаллизация синтетических и биогенных объектов носит поэтапный характер и имеет отношение к пониманию кристаллизации и биоминерализации. Кристаллизация и биоминерализация включает трансформацию кластеров АКК, проявляющуюся в их упорядочении на уровне атомного масштаба и дальнейшее образование определенной полиморфной модификации КК.

В зависимости от условий кристаллизации или биоминерализации процесс образования КК может развиваться по различным траекториям, приводя к образованию различных полиморфных модификаций КК. Картины просвечивающей и сканирующей электронной микроскопии иллюстрируют образование синтетического кальцита, смеси синтетических кальцита и арагонита, возникновения биогенного арагонита

коралла и морской звезды на стадиях образования гидратированного АКК, предкристаллизационных кластеров безводного АКК и кристаллизации кальцита, смеси кальцита и арагонита, образованная биогенных кристаллов арагонита коралла и морской звезды.

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

ВЛИЯНИЕ КАПСАИЦИНА НА КАНАЛООБРАЗУЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ ЦЕКРОПИНА А И ФЕНГИЦИНА

INFLUENCE OF CAPSAICIN ON PORE-FORMING ACTIVITY OF CECROPIN A AND FENGYCIN

Захарова А. А., Ефимова С. С., Остроумова О. С.

Институт Цитологии РАН, Санкт-Петербург, zaza2187@bk.ru

Капсаицин является одним из биологически активных соединений, выделенных из красного перца семейства *Capsicum*. Благодаря своим хемосенсибилизирующим свойствам (Caterina et al., Science, 2000; Kim et al., Cell Signal, 2003) капсаицин активно используется в медицинской практике для купирования воспалительных процессов опорно-двигательного аппарата, а также для коррекции нейрогенных болевых ощущений (Szallasi et al., Pain, 1996). Кроме того, известно, что капсаицин способен ингибировать агрегацию тромбоцитов (Hogaboam et al., Eur. J. Pharmacol, 1991), рост бактерий (Cichewicz et al., J. Ethnopharmacol, 1996) и метастазирование рака простаты и легких (Zhang et al., Apoptosis, 2008). Однако развивающиеся отек, эритема и аллергические реакции в ответ на капсаицин ограничивают спектр применения данного агента.

Первой мишенью действия капсаицина является клеточная мембрана, в результате чего активизируется широкий спектр рецепторов и мембранных белков, включая трансмембранный белок, участвующий в транспорте ионов хлора через мембрану клетки (Ai et al., Mol. Pharmacol., 2004) и рецептор эпидермального фактора роста (Hwang et al., Mol. Nutr. Food Res., 2011). Поэтому детальное понимание молекулярных механизмов взаимодействия капсаицина с липидным матриксом, лежащих в основе его фармакологического и токсикологического действия, имеет важное значение для выяснения путей регуляции активности капсаицина, а также созданию наименее токсичных лекарственных препаратов на его основе.

Целью исследования являлось установление возможности изменения физико-химических свойств мембраны под действием капсаицина, а также способов модуляции им каналобразующей активности пептидных соединений различной химической структуры, встроенные в модельные липидные мембраны. Изменение электрических свойств мембраны оценивали по изменению стационарного неактин-индуцированного тока; изменение эластических свойств определяли по изменению температуры фазового перехода липидов и кинетики высвобождения кальцеина из гигантских моноламеллярных липосом.

Установлено, что 400 мкМ капсаицина вызывает снижение граничного потенциала мембраны из пальмитоолеилфосфохолина (ПОФХ) в среднем на 125 ± 10 мВ. При этом введение алкалоида к липосомам в соотношении липид-капсаицин 10:1 приводит к снижению температуры фазового перехода дипальмитоилфосфохолина на 5.7°C . В то же время, капсаицин приводит к высвобождению флуорофора из гигантских ПОФХ-липосом. Максимальная интенсивность составляет 40 %. Эти данные указывают на снижение плотности упаковки мембранных липидов в присутствии капсаицина.

Используя модельные липидные мембраны, сформированные по методу Монтала и Мюллера (Montal and Muller, Proc. Nat. Acad. Sci., 1972), оценивали влияние капсаицина на каналобразующую активность противобактериального пептида цекропина А и противогрибкового циклического липопептида фенгицина.

Результаты исследований показали, что добавка 400 мкМ капсаицина к децимолярному раствору КСI (рН 7.4), омывающему ПОФХ:кардиолипин-мембрану (80:20 М %), приводила к снижению стационарного трансмембранного тока, индуцированного цекропином, в среднем в 6 раз. В то же время, для фенгицина, формирующего каналы в липидном бислое, состоящем из ПОФХ: пальмитоолеилфосфоэтаноламина: пальмитоолеилфосфоглицерола:ергостерина в соотношении 20:20:50:10 М % и омываемом 2 М раствором КСI (рН 9) этот параметр при той же концентрации алкалоида составил 2.3.

Сравнивая полученные результаты изменения физико-химических свойств мембраны под действием капсаицина и его влияния на каналобразующую активность антимикробных пептидов, можно сделать предположение о ключевой роли изменения эластических свойств липидного матрикса алкалоидом в регуляции порообразующей способности тестируемых агентов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ № 18-34-20047.

НОВЫЕ ДАННЫЕ О СПОСОБНОСТИ АЛКИЛИРУЮЩЕГО АГЕНТА, РАДИОМИМЕТИКА ДИПИНА ИНДУЦИРОВАТЬ КРУПНОМАСШТАБНУЮ ХРОСОМНУЮ АНОМАЛИЮ В РАЗВИВАЮЩИХСЯ МУЖСКИХ ПОЛОВЫХ КЛЕТКАХ У МЫШЕЙ

NEW DATA ON THE ABILITY OF THE ALKYLATING AGENT, RADIOMYMETIC DIPIN TO INDUCE LARGE-SCALE CHROMOSOME ABNORMALITY IN DEVELOPING MURINE MALE GERM CELLS

Захидов С.Т., Муджири Н.М.

МГУ им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, mnatalie91@mail.ru

Светооптические наблюдения сперматогенных клеток у мышей-гибридов F₁ CBA × C57BL/6, подвергшихся однократному воздействию модельного мутагена дипина (тетраэтиленамид-1,4-пиперазиндифосфорной кислоты), выявили в популяции пахитенных сперматоцитов клетки двух основных типов: клетки с половым бивалентом XY (или половым тельцем, ПТ), занимающим строго фиксированное положение на периферии ядра (норма), и клетки, ПТ которых располагалось изолировано от ядер или были связаны с последними тонкими хроматиновыми нитями. ПТ, лежащие за пределами ядер, были обнаружены также в популяции ранних постмейотических клетках (округлых сперматид). Подсчеты показали, что у контрольных и подопытных мышей-гибридов F₁ CBA × C57BL/6 частота встречаемости пахитенных сперматоцитов, ядра которых утратили ПТ, составила соответственно 0.2 и 2.9%, а aberrантных округлых сперматид соответственно 0 и 2.85%. Другими словами, у мутагенизированных животных в популяциях пахитенных сперматоцитов и ранних постмейотических клеток число ядер, утративших ПТ, увеличивалось многократно по сравнению с контролем.

Как явствует из наших наблюдений, пространственная изоляция ПТ от основного генома пахитенных сперматоцитов не приводила к их скорой деградации и гибели. Напротив, изолированные ПТ сохраняли топологическую цельность и способность проходить через оба деления созревания. В постмейотических, спермиогенных клетках ПТ, избежавшие выбраковки в мейозе, морфологически мало видоизменялись, и были тождественны по конфигурации классическим микроядрам, представляющим собой, как известно, либо фрагменты хромосом или даже целые хромосомы, не вошедшие в основные ядра после клеточных делений. Повышенная жизнеспособность и автономность ПТ, скорее всего, обеспечиваются благоприятными условиями цитоплазматического окружения половых клеток, существенными для поддержания хромосомных структур и развития гамет в целом.

Одной из наиболее вероятных причин появления в популяции пахитенных сперматоцитов клеток с аномалиями в поведении ПТ являются, как мы предполагаем, нарушения внутриядерных физико-химических взаимодействий, в норме обеспечивающих фундаментальную устойчивость и упорядоченность пластичного наследственного материала в клетках, движущихся по сложной G₂-фазе мейотического цикла.

Итак, наши исследования сперматогенеза у мутагенизированных мышей-гибридов F₁ CBA × C57BL/6 впервые установили новый тип хромосомной аномалии, выявляемой во время профазы I мейоза. Это – индивидуализация гетерогаметической структуры XY, ее резкое отделение от основного генома в пахитенных сперматоцитах и сохранение в постмейотических спермиогенных клетках. Столь крупномасштабная аномалия в структуре хромосомного материала, хотя и изменяет общий хромосомный баланс уже на стадии профазы I мейоза, во многих случаях, возможно, не ведет к нарушению процесса созревания постмейотических, спермиогенных клеток и, как следствие, формированию спермиев, анеуплоидных по половым хромосомам XY.

ПОВЕДЕНИЕ ВЫСОКОДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ КЛЕТОК СЕРТОЛИ (КС) В ГОНАДАХ МУТАНТНЫХ ПО ГЕНУ ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ ЙОТА МЫШЕЙ ЛИНИИ 129 ПОСЛЕ МУТАГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

THE BEHAVIOR OF HIGHLY DIFFERENTIATED SERTOLI CELLS (SC) IN THE GONADS OF THE MUTANT GENE FOR DNA POLYMERASE IOTA MICE 129 AFTER MUTAGENIC EXPOSURE

Захидов С.Т.¹, Муджири Н.М.¹, Макарова И.В.², Андреева Л.Е.²

¹МГУ им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва,

²Институт молекулярной генетики, Москва, mnatalie91@mail.ru

При изучении сперматогенеза у мутантных мышей линии 129, подвергшихся воздействию молекулярного мутагена дипина, мы получили дополнительные серьезные аргументы в пользу наличия в структуре митотически инертных, высокодифференцированных клеток Сертоли (КС) скрытых резервов пролиферации. В популяции мутагенизированных КС цитофотометрически были обнаружены крупные, тетраплоидные по содержанию ДНК ядра, а также клетки с разнообразными цитогенетическими нарушениями.

А именно – микроядрами, протрузиями разных размеров, некоторые из которых содержали глыбки околядрышкового хроматина, митотическими фигурами, остаточными хромосомными мостами. Также было отмечено появление большого числа двухъядерных КС и КС с гигантскими ядрами. Весь этот набор цитогенетических отклонений, можно рассматривать как очень полезный, дополнительный – а может быть и главный – маркер пролиферативной активности высококодифференцированных клеток.

Не менее интересным моментом в поведении КС у мутантных мышей линии 129 является то, что после мутагенного воздействия в популяции КС возникали клетки, как со светлыми ядрами, так и с темными ядрами. Если первые имели внешнее сходство с ядрами высококодифференцированных КС, то вторые по структуре хроматина больше напоминали ядра недифференцированных, незрелых КС. Парадоксально, но как явствует из наших наблюдений, высококодифференцированная КС, делясь, может давать начало либо двум одинаковым клеткам со светлыми ядрами, либо двум одинаковым клеткам с темными ядрами, а также клеткам с двумя спаренными ядрами, одно из которых светлое, а другое – темное. Появление КС, различающихся по морфологии, и, очевидно, по функциям, может быть связано с перепрограммированием генома в мутагенизированных высококодифференцированных КС, вставших на путь так называемых симметричных и асимметричных митотических делений. Полученные нами данные интересны и важны в том смысле, что делиться симметрично и/или асимметрично до сих пор было свойством стволовых клеток разного рода. Повторный вход в клеточный цикл высококодифференцированных КС и использование ими одновременно двух программ деления – симметричного и/или асимметричного – может иметь, как и в случае со стволовыми клетками (Morrison, Kimble, 2006), решающее значение для адаптации к изменившимся условиям окружающей среды, омоложения и ускоренной регенерации структуры сперматогенного эпителия. Нам представляется, что КС с разнотипными ядрами выполняют разные функции. Так, действие КС со светлыми ядрами и тонкой дисперсной организацией хроматина, скорее всего, направлено на восстановление пространственного порядка в семенных канальцах. В свою очередь сигналы, подаваемые КС с темными ядрами, содержащими многочисленные крупные гетерохроматиновые глыбки, могут инициировать процессы самообновления и дифференцировки сперматогонимальных стволовых клеток, а также возобновление пролиферации и/или включение механизма апоптоза сперматогониев, «застрявших» на разных стадиях своего развития после мутагенного воздействия.

1. Morrison S.J., Kimble J. Asymmetric and symmetric stem-cell divisions in development and cancer. – Nature, 2006, № 441, p. 1068 – 1074.

ХАРАКТЕРИСТИКИ АДАПТИВНОЙ РЕАКЦИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ЗДОРОВОГО ЧЕЛОВЕКА НА ИЗМЕНЕНИЕ СОСТОЯНИЯ ГЕОМАГНИТНОГО ПОЛЯ В РАЗНЫХ ЧАСТОТНО-ВРЕМЕННЫХ ДИАПАЗОНАХ

CHARACTERISTICS OF THE ADAPTIVE REACTION OF THE HUMAN CARDIOVASCULAR SYSTEM TO CHANGE THE STATE OF THE GEOMAGNETIC FIELD IN DIFFERENT TIME- FREQUENCY RANGES

Т.А. Зенченко^{1,2}, Т.К. Бреус²

¹Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, E-mail: zench@mail.ru

²Институт космических исследований РАН, Москва

В работе подводятся итоги 20-летнего исследования особенностей индивидуальной реакции сердечно-сосудистой системы здоровых людей на действие факторов космической погоды (магниточувствительности человека). Факт существования эффекта доказан давно, однако выяснению механизма возникновения и развития биологической реакции препятствует сильная межиндивидуальная и временная вариабельность эффекта. Выводы данного исследования были сделаны на основе индивидуального анализа результатов длительных наблюдений более 350 здоровых человек разного пола, возраста и места проживания.

Было показано, что существует (как минимум) три временных масштаба, на которых действие факторов космической погоды на функциональное состояние человека носит различный характер: 11-летний, суточный и минутный.

11-летний цикл солнечной активности проявляется на популяционном и на индивидуальном уровнях. В популяции - в изменении процента людей, для которых обнаруживается реакция. В геомагнитно-возмущенные периоды (вблизи максимумов солнечной активности) зависимость физиологических показателей (ФП) сердечно-сосудистой системы от уровня геомагнитной активности (ГМА) встречается примерно у 50% здоровых людей. У большинства наблюдается реакция изменения сосудистого тонуса крупных и мелких сосудов: возрастание уровня артериального давления (АД) и показателей периферического микроциркуляторного кровотока. Начало реакции преимущественно синхронное с началом геомагнитного возмущения. В геомагнитно-спокойные периоды встречаемость эффекта не превышает 20% случаев,

наблюдаются реакции обоих знаков (как повышение, так и понижение уровня АД во время геомагнитных возмущений), а распределение времен начала реакции выраженного экстремума не имеет. На индивидуальном уровне вариабельность эффекта выражается в перемежаемости периодов наличия и отсутствия магниточувствительности. Вероятность обнаружения эффекта не зависит от возраста и среднего уровня АД человека, климатической зоны его проживания (южные, средние или северные широты) и сезона года.

Анализ биологических эффектов вариаций ГМП при больших частотах дискретизации (при ежесуточных и ежеминутных измерениях физиологических параметров) позволяют более надежно различить возможное действие гелиосферных и геомагнитных факторов. Данные исследования экспериментально подтверждают и развивают существующие представления о низкочастотных геомагнитных вариациях (пульсациях) в частотах 10^{-3} -1 Гц как основном непосредственно действующем биотропном агенте. Так, показано, что увеличение показателей периферической микроциркуляции крови, наблюдаемое во время магнитных бурь, обусловлено активизацией колебаний периферического кровотока в частотном диапазоне 0.02-0.2 Гц, который совпадает с диапазоном частот геомагнитных пульсаций Pc2-3, регистрируемых именно в период геомагнитных возмущений.

Многokратно был зарегистрирован эффект синхронизации колебаний пульса здорового человека в состоянии покоя с вариациями вектора геомагнитного поля в диапазоне периодов 3-30 мин (диапазон геомагнитных пульсаций Pc5-6), наиболее выраженный на фазе восстановления магнитной бури. Эффект в значительной мере определяется изменениями ритмики колебаний синтеза оксида азота в венозной крови (6-7 мин, 13 мин, 25-30 мин), что указывает на оксид азота и его метаболиты в крови как на один из биохимических факторов, участвующий в развитии процесса тонкой «подстройки» организма к вариациям геомагнитного поля.

Таким образом, изменение рассматриваемого временного масштаба эффектов космической погоды изменяет не просто величину биологических эффектов ГМП, а саму феноменологическую картину их проявления. При больших масштабах видны эффекты на уровне популяции, из которых неизбежно вытекают, как предельная ситуация, хорошо известные с 70х гг. прошлого века возрастания частоты сердечно-сосудистых катастроф в периоды магнитных бурь. На средних масштабах (порядка суток) наиболее отчетливо проявляются индивидуальные эффекты на уровне целого организма, которые выражаются в изменении среднего значения показателей АД, периферического кровотока и психофизических показателей. При быстрых (минутных) измерениях не происходит сдвига средних значений ФП, но наблюдаются эффекты синхронизации колебаний на уровне отдельных органов и биохимических процессов с вариациями невозмущенного ГМП. Можно предположить, что в значительной доле предыдущих гелиобиологических исследований причиной отрицательного результата явилось несоответствие временного масштаба и характеристик изучаемого биологического эффекта.

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НЕТЕПЛОВЫЙ ИНТЕНСИВНОСТИ В ПРЕНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

CHANGES IN THE REACTION OF LIPID PEROXIDATION UNDER IMPACT TO ELECTROMAGNETIC RADIATION OF NONTHERMAL INTENSITY IN THE PRENATAL PERIOD

Ибрагимова Ж.М.

Институт Физиологии им. А.И.Караева Национальной Академии Наук Азербайджана, Баку.
jaluzi2009@gmail.com

В последнее время большую актуальность приобрели работы по изучению влияния электромагнитного излучения (ЭМИ) на органы зрения живых организмов. Исходя из указанного контекста, в представляемой работе рассматривалось состояние редокс-гомеостаза в хрусталике глаза у детёнышей кроликов, подвергавшихся воздействию неионизирующего электромагнитного излучения во время их внутриутробного развития.

Целью работы было изучить интенсивность процессов ПОЛ в хрусталике детёнышей кроликов в возрасте 20 дней, которые во время зародышевой фазы пренатального развития подвергались воздействию неионизирующего электромагнитного излучения.

Беременные животные облучались с помощью генератора ЭМИ «Волна 2» (460 МГц) с выходной мощностью аппарата 20 Вт. После соответствующей лучевой нагрузки, опытная (облученная) группа животных и 6 особей из контрольной группы забивались, и хрусталик глаза изымался для исследования. По интенсивности реакции ПОЛ (определялась по содержанию в гомогенате хрусталика малонового диальдегида – МДА) судили об оксидативных изменениях в изучаемых субструктурах.

В ходе работы вначале были получены данные о концентрации МДА в гомогенате хрусталиков, изъятых у 20 дневных крольчат. У особей, облучённых в пренатальном периоде жизни, концентрация МДА составила в среднем 1.50нмоль/мг, а у особей из контрольной группы – 0.81нмоль/мг.

Таким образом, в опытной группе мы отмечали повышение концентрации МДА на 85.5% (достоверность различий между группами надёжная: $p < 0.01$). То есть имеет место смещение редокс-гомеостаза, сопровождающееся увеличением интенсивности ПОЛ.

Настоящее исследование показало, что механизм нарушения редокс-гомеостаза неионизирующим ЭМИ, запущенный во внутриутробной стадии жизни, продолжает негативно сказываться и в постнатальном периоде.

ИЗМЕНЕНИЕ ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК КРИОПРОТЕКТОРА НА ОСНОВЕ ГЛИЦЕРИНА ПОСЛЕ ДОБАВЛЕНИЯ ОТДЕЛЬНЫХ КОМПОНЕНТ

CHANGE IN THERMODYNAMIC CHARACTERISTICS OF A GLYCEROL-BASED CRYOPROTECTANT AFTER ADDING VARIOUS COMPONENTS

Симоненко Е.Ю.¹, Иванова А.А.¹, Прядун В.В.¹, Яковенко С.А.¹, Миронова А. Г.², Васильев А.Н.¹

1 — Физический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, ГСП-1, Ленинские горы, дом 1, строение 2, 119991, Москва, РФ;

2 – ИБХФ РАН, ул. Косыгина, д. 4, 119334, Москва, РФ
e-mail: ksimonenko@inbox.ru

Развитие методов криоконсервации биоматериала расширяет возможности современной биологии и медицины. Для защиты клеток от повреждений используют криопротекторы, эффективность которых обычно оценивается по изменениям жизненно важных показателей клеток после заморозки. Однако даже в присутствии современных коммерческих сред клетки значительно повреждаются после процесса криоконсервации. Так, при заморозке сперматозоидов, потери клеток составляют 40 – 60%. Основным фактором повреждения клеток является формирование кристаллов льда. Для водных растворов с примесями выделяют область гетерогенного ядрообразования, приводящего к образованию центров кристаллизации внутри и вне клетки [1]. Добавление непроникающих компонент криопротектора позволяет уменьшить этот промежуток и повысить выживаемость клеток. В связи с этим важно понимать физико-химические процессы, проходящие в криопротекторах при добавлении отдельных его компонент.

Поэтому целью работы является определение влияния отдельных компонент криопротектора на изменение его термодинамических характеристик, а также исследование изменения фазовых и агрегатных состояний этих сред. Для получения зависимости теплоемкости от температуры использовался адиабатический калориметр Physical Property Measurement System. Метод был адаптирован для исследования жидких сред. Для изучения растворов был изготовлен контейнер из дюралюминия, который помещался в стандартную ячейку калориметра, а также разработан протокол заполнения контейнера, запайки и проверки на вакуум [2].

В результате работы были получены зависимости теплоемкости от температуры для водного раствора глицерина (12%), а также этого раствора с последовательным добавлением к нему альбумина (3,95 мг/мл) и сахарозы (0,5 М); определены основные термодинамические характеристики для всех исследуемых растворов (температуры фазовых переходов, изменение энтропии ΔS и энтальпии ΔH). В ходе выполнения работы был разработан следующий алгоритм эксперимента и обработки полученных данных: измерение зависимости теплоемкости от температуры для контейнера; измерение зависимости теплоемкости от температуры для исследуемых образцов; построение производной теплоемкости по температуре для определения критических температур; определение термодинамических параметров. Для определения термодинамических характеристик изучаемых растворов при низких температурах была использована модель теплоемкости твердого тела Дебая. Для этого в области кристаллического состояния исследуемого состава, определяли значение температуры Дебая θ_D и n – число атомов, приходящихся на одну элементарную ячейку. После определения данных значений из экспериментального графика вычитается величина экстраполированной теплоемкости по Дебаю. После чего по полученной зависимости теплоемкости от температуры были рассчитаны изменения энтропии и энтальпии.

Таким образом, в работе были получены зависимости теплоемкости от температуры для буферной среды, содержащей 12% глицерина; выявлено наличие 3-х особенностей, связанных со структурными перестройками среды при изменении температуры. Для водного раствора глицерина (12%) температура фазового перехода первого рода – 246,4 К, промежуточная температура, характеризующая агрегатные изменения в гетерогенной фазе, – 204,1 К, температура перехода из гетерогенной области в низкотемпературную часть – 168,3 К. Во всех растворах можно наблюдать стадию переохлажденной жидкости с образованием в ней ядер нуклеации. Наличие области гетерогенного ядрообразования объясняет появление пиков в этой области на графике зависимости теплоемкости от температуры. Было выявлено, что добавление сахарозы в глицерин-содержащий раствор уменьшает температурный интервал гетерогенного ядрообразования на 18,9 К, что должно улучшать криопротекторные свойства данного раствора. Этот факт был подтвержден в экспериментах с криоконсервацией сперматозоидов во всех исследуемых средах: подвижность сперматозоидов в среде с альбумином и сахарозой выросла на 19 %. Также было показано, что при добавлении альбумина, изменение энтропии и энтальпии возрастает.

1. Vali G (1995) Principles of ice nucleation. In: Lee RE, Warren GJ,
2. Gusta LV (eds) Biological ice nucleation and its applications.
3. APS Press, St Paul, Minn., pp 1±28
4. Vali G (1995) Principles of ice nucleation. In: Lee RE, Warren GJ,
5. Gusta LV (eds) Biological ice nucleation and its applications.
6. APS Press, St Paul, Minn., pp 1±28
7. Vali G., Principles of Ice Nucleation // Biological ice nucleation and its applications, 1995, p.5
8. Симоненко Е.Ю., Прядун В.В., Иванова А.А., Бурмистрова Е.В., Васильев А.Н., Яковенко С.А, Метод адиабатической калориметрии для определения термодинамических характеристик криопротекторов // Биофизика, 2019, том 64, вып.1, с. 5-11.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕРАЦИИ КАПИЛЛЯРНЫХ ВОЛН В ВОДНОЙ СРЕДЕ В УСЛОВИЯХ МИКРОВОЛНОВОГО ОБЛУЧЕНИЯ

EXPERIMENTAL STUDY OF THE GENERATION OF CAPILLARY WAVES IN AN AQUEOUS MEDIUM UNDER MICROWAVE IRRADIATION

Казаринов К.Д., Малинин В.С., Полников И.Г.

ФИРЭ им. В. А. Котельникова РАН, 141 190, Фрязино, Московская обл., ул. Введенского, 4;
Тел. +7(496)565-26-85, факс +7(495)702-95-72; e-mail: kazarinov@ms.ire.rssi.ru

В работе развивается метод изучения поверхностных свойств липидных монослоев для исследования биологических эффектов микроволнового излучения [1]. Наши опыты по изучению действия микроволн на поверхность липидных монослоев начинались с наблюдения за поведением монослоя липидов, сформированного внутри периметра, образованного петлей волоса. Убедившись в непрерывности поверхности пленки липида с помощью отраженного света (т.е. монослой находился в конденсированном или текучем состоянии), мы облучали поверхность монослоя, установив рупор микроволнового излучателя над границей монослоя. Через несколько минут облучения при длине волны 8 мм и интенсивности облучения 30 мВт/см² мы наблюдали эффект втягивания области липидного монослоя к центру рупора, т.е. в направлении максимальной напряженности электрического поля и более высокой температуры нагрева поверхности воды, интенсивно поглощающей КВЧ излучение. С учетом результатов наших экспериментов по изучению термогравитационной и термокапиллярной конвекции в воде при КВЧ облучении поверхности мы сделали вывод о возможности артефактов, связанных с этими явлениями даже при низких уровнях интенсивности облучения. Мы получаем модель относительного движения контактирующих фаз, детально изученную Б.А. Носковым [2].

Поэтому, представляя наши предварительные результаты по облучению липидных монослоев в экспериментах с регистрацией капиллярных волн, мы учитывали нагревание нашего объекта исследования вследствие интенсивного поглощения водой КВЧ излучения. Мы зарегистрировали снижение поверхностного натяжения нашего образца в среднем на 5 % во всем диапазоне изменений концентрации липидов. Изменение температуры объекта не превышало 5 °С. Температурный эквивалент эффекта при нагревании объекта в термостате составил 8 °С.

Скорее всего, зависимость от температуры параметров капиллярных волн при КВЧ облучении не может быть тривиальной, т.к. тепло передается не через поверхность, благодаря теплообмену, а через некоторый объем, определяемый глубиной поглощения излучения. Этим вызван некоторый тепловой эквивалент наблюдаемого эффекта. Похожие эффекты были обнаружены при КВЧ облучении водного раствора NADH [3], который авторы связывают со структурированием приповерхностного слоя воды при поглощении КВЧ излучения, а также при СВЧ облучении воды в сантиметровом диапазоне длин волн [4], когда наблюдалось уменьшение величины коэффициента поверхностного натяжения при 30-минутной продолжительности облучения.

1 Казаринов К.Д., Титов А.С., Малинин В.С., Титов С.В. Результаты экспериментального изучения поверхностных свойств липидных монослоев - моделей биологических мембран. Журнал радиоэлектроники [электронный журнал]. 2019, №2 –февраль. С. 1-11.

2. Носков Б.А. Поверхностные волны при относительном движении контактирующих фаз // Коллоидн. журн. 1987. Т. 49. - № 5. С. 889 - 897.

3. М.А. Заболотный, Ю.М. Барабаш, Н.П. Кулиш, О.П. Дмитренко, М.О. Кузьменко. Конформационные состояния молекул NADH в гидратной оболочке под влиянием слабого электромагнитного поля. Биофизика. 2015. Т. 60, вып. 1, С. 44–52.

4. Н. А. Мамедов, Г. И. Гарибов, Ш. Ш. Алекберов, Э. А. Радулов. Изменение поверхностного натяжения воды под действием различных физических факторов. Прикладная физика, 2014, № 6. С. 20-23.

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НИЗКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В КЛЕТКАХ

STUDING OF EFFECTS OF MICROWAVE OF LOW INTENSITY FOR OXIDATIVE PROCESSES IN CELLS

Казаринов К.Д., Борисенко Г.Г., Полников И.Г.

ФирЭ им. В. А. Котельникова РАН, 141 190, Фрязино, Московская обл., ул. Введенского, 4;
Тел. +7(496)565-26-85, факс +7(495)702-95-72; e-mail: kazarinov@ms.ire.rssi.ru

В ряде исследований показано, что микроволны могут влиять на различные процессы, связанные с развитием окислительного стресса [1-2]. Окислительный стресс, вызванный воздействием электромагнитного излучения радиочастотного диапазона, по мнению авторов работы [3] следует рассматривать как один из основных механизмов биологической активности микроволн. В тканях окислительный стресс приводит к гибели клеток, основным механизмом которой является апоптоз, механизмы запуска которого сходятся на уровне митохондрии и индуцируют выход *cyt c* из митохондрий в цитозоль [4].

Считается, что выходу *cyt c* в цитозоль предшествует перераспределение кардиолипина в мембранах митохондрии и образование комплексов *cyt c* -кардиолипин (КЦ комплекс). КЦ комплекс характеризуется высокой пероксидазной активностью и катализирует накопление гидроперекисей кардиолипина, которые, в свою очередь, необходимы для образования пор во внешней мембране митохондрии и выхода проапоптотических белков в цитозоль. Известно, что водорастворимая флуоресцентная молекула Амплекс красный (AR) сравнительно устойчива в буфере и почти не окисляется в присутствии цитохрома *c* или H_2O_2 . Воспроизведенные нами экспериментальные результаты подтверждают это, а также то, что комбинация *cyt c* и перекись водорода вызывает заметное окисление AR. Однако в присутствии липосом, содержащих кардиолипин (т.е., при образовании КЦ комплексов), степень окисления AR многократно усиливается.

Микроволновое излучение при длине волны $\lambda = 7,7$ мм вызывает усиление окисления AR в присутствии цитохрома *c* и H_2O_2 . Это усиление окислительной активности заметно как в присутствии разных липосом, используемых в нашем эксперименте, так и без них. Однако абсолютная величина эффекта наиболее выражена в присутствии кардиолипина. Таким образом, мы показали, что микроволновое излучение не влияет (или сравнительно мало влияет) на окислительные процессы, индуцируемые глобулярной формой *cyt c*. В то же время окислительная активность КЦ комплексов на 1-2 порядка превышала активность свободного *cyt c*, и в ещё большей степени усиливалась под действием микроволнового излучения.

Полученные экспериментальные данные позволяют предположить, что КЦ комплекс является потенциальной мишенью для микроволнового излучения, которое усиливает его пероксидазную активность и может повышать смертность клеток при коинкубации их с индукторами апоптоза. Это может быть использовано для лечения онкологических заболеваний, инфаркта миокарда и многих других патологий.

Кроме того, в наших экспериментах было показано, что микроволновое излучение в диапазоне КВЧ увеличивает скорость накопления продуктов перекисного окисления ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав молекул фосфолипидов липосом – модельных липидных мембран (жидкостных наночастиц). Предложен механизм наблюдаемого эффекта, согласно которому микроволновое излучение, создавая дефекты в мембранном липидном бислое за счет термотропного действия, обеспечивает проникновение внутрь липосом веществ, стимулирующих перекисное окисление липидов (ПОЛ) в мембранах клеток с соответствующими физиологическими последствиями [5].

1. Hou Q., Wang M., Wu S., Ma X., An G., Liu H., Xie F. Oxidative changes and apoptosis induced by 1800-MHz electromagnetic radiation in NIH/3T3 cells // *Electromagnetic Biology and Medicine*. -2015. –V. 34. –P. 85-92.
2. Marjanovic A.M., Pavicic I., Trosic I. Cell oxidation-reduction imbalance after modulated radiofrequency radiation // *Electromagnetic Biology and Medicine*. -2015. –V. 34. –P. 381-386.
3. Yakymenko I., Tsybulin O., Sidorik E., Henshel D., Kyrylenko O., Kyrylenko S. 2016. Oxidative mechanisms of biological activity of low-intensity radiofrequency radiation // *Electromagnetic Biology and Medicine*. –V. 35. –P. 186.
4. Bergstrom C.L., Beales P.A., Lv. Y., Vanderlick T.K., Groves J.T. Cytochrome *c* causes pore formation in cardiolipin-containing membranes // *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, V. 110 (16), P. 6269-74.
5. Казаринов К., Борисенко Г.Г., Полников И.Г. Влияние ЭМИ низкой интенсивности микроволнового диапазона на окислительные процессы в клетках // *Электронная техника, Сер. 1, СВЧ – техника*, 2018, Вып. 1 (536), Стр. 60.

ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА АКТИВАЦИЮ НЕЙТРОФИЛОВ

CHEMILUMINESCENT STUDIES OF THE EFFECT OF MICROWAVE EXPOSURE ON NEUTROPHIL ACTIVATION

Казаринов К.Д.¹, Власова И.И.², Михальчик Е.В.²,

¹ФирЭ им. В. А. Котельникова РАН, 141 190, Фрязино, Московская обл., ул. Введенского, 4;
Тел. +7(496)565-26-85, факс +7(495)702-95-72; e-mail: kazarinov@ms.ire.rssi.ru

²ФНКЦ Физико-Химической Медицины ФМБА, Москва, Россия

В работе представлены экспериментальные результаты по изучению влияния микроволнового излучения крайне высоких частот (КВЧ) на активацию нейтрофилов в образцах цельной крови. В отличие от радиочастотного излучения и микроволнового излучения до 30 ГГц, биологическим эффектам КВЧ излучения (30 -300 ГГц или 1см-1мм) уделялось гораздо меньшее внимание. КВЧ излучение использовалось для терапевтического лечения различных заболеваний, включая сердечно-сосудистые заболевания, заживление ран, обезболивание и т. д. Механизмы, с помощью которых КВЧ излучение способно производить системные эффекты всего организма от локальных воздействий, где проникновение осуществляется на небольшую глубину, до сих пор недостаточно изучены. Однако предполагается, что должны быть задействованы два основных механизма: стимуляция нервной системы и стимуляция иммунной системы. Следует отметить, что к настоящему времени выполнено слишком мало работ, которые посвящены изучению влияния микроволнового излучения на функциональную активность нейтрофилов, причем, данные этих работ противоречивы [1].

В настоящей работе мы изучали влияние микроволн с длиной волны 7,7 мм (37 ГГц) на активацию нейтрофилов. Для характеристики продукции свободных радикалов и оксидантов активированными нейтрофилами мы выбрали метод люминол-зависимой хемилюминесценции (ХЛ), который позволяет оценивать степень активации нейтрофилов немедленно после прекращения облучения образца крови. С целью выяснения механизмов влияния КВЧ на нейтрофилы в составе цельной крови, изучалось влияние излучения на активность основного белка нейтрофилов МПО в плазме крови, а также на продукцию АФК изолированными нейтрофилами. Для активации нейтрофилов к образцам цельной крови добавляли опсонизированный зимозан (0,6 мг / мл) или лабораторный штамм *E. coli* (25 или 50 млн клеток в мл), после чего сравнивали активность нейтрофилов в контрольных пробах крови и образцах, подвергшихся воздействию микроволнового облучения в течение 5, 15 и 30 мин. По окончании инкубации из проб брали микроаликвоты для измерения кинетики люминол-зависимой ХЛ крови. Кинетику люминол-зависимой ХЛ измеряли после добавления крови в раствор Кребса Рингера, содержащий 300 мкМ люминола. Активность нейтрофилов характеризовали, измеряя максимальную амплитуду ХЛ. Для 5 и 30 мин инкубации не обнаружено достоверных отличий ХЛ в пробах без облучения и после облучения. В 4-х независимых экспериментах показано, что радикал-генерирующая активность нейтрофилов выше на 20-30% в пробах крови, которые были подвергнуты облучению в течение 15 мин. В тоже время КВЧ не вызывало активации нейтрофилов в крови, не содержащей индуктор активации нейтрофилов. Наши эксперименты показали, что 7,7 мм усиливает радикально-генерирующую способность активированных нейтрофилов, когда агонист добавляли к крови до облучения [2]. Аналогичные эффекты КВЧ излучения на активацию нейтрофилов были обнаружены в экспериментах с активированными клетками. Измерение температуры в образцах с помощью оптоволоконного термометра показало, что нагрев образцов, облучаемых КВЧ, является наиболее вероятной причиной усиления продукции оксидантов нейтрофилами в ответ на добавление к цельной крови корпускулярных активаторов.

1. Poniedzialek B., Rzymiski P., Nawrocka-Bogusz H., Jaroszyk F., Wiktorowicz K. The effect of electromagnetic field on reactive oxygen species production in human neutrophils in vitro. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 2013, Vol. 32, No 3, pp. 333–341.
2. Vlasova I.I., Mikhalechik E.V., Gusev A.A., Balabushevich N.G., Gusev S.A., and Kazarinov K.D. Extremely high-frequency electromagnetic radiation enhances neutrophil response to particulate agonists.. *Bioelectromagnetics*. February 2018. V. 39, Is. 2. P. 144-155.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ЭФФЕКТОВ МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА МЕЖКЛЕТОЧНЫЕ
ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА**

**THE RESULTS OF STUDYING THE EFFECTS OF MICROWAVE RADIATION ON THE
INTERCELLULAR INTERACTIONS IN HUMAN BLOOD**

Чеканов А.В.^{1,2}, Баранова О.А.^{1,2}, Щелконогов В.А.^{1,2}, Казаринов К.Д.¹

¹ФИРЭ им. В. А. Котельникова РАН, 141 190, Фрязино, Московская обл., ул. Введенского, 4;
Тел. +7(496)565-26-85, факс +7(495)702-95-72; e-mail: kazarinov@ms.ire.rssi.ru

²ГОУ ВПО РНИМУ им. Пирогова Минздравсоцразвития, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1

Одной из основных причин сосудистых патологий является функционирование тромбоцитов – клеток кровяного русла. Активация этих клеток приводит не только к образованию сгустка– субстрата атеротромбоза, но и к формированию значительного набора биохимических веществ. Такая универсальность позволяет этим клеткам выполнять ключевую роль как в системе гемостаза, так и в регуляции репаративных процессов. Повышенная агрегация тромбоцитов лежит в основе патогенеза большого количества заболеваний. Тромбоциты, как известно, являются одними из основных участников сосудистых катастроф при ишемической болезни сердца (ИБС). Однако не всегда удается преодолеть агрегацию тромбоцитов и предотвратить развитие тромботических осложнений с помощью антитромбоцитарных препаратов. Попыткой преодолеть некоторые нежелательные явления, связанные с активацией тромбоцитов, а также регламентировать их участие в различных патологических состояниях, обусловлен поиск иных подходов к проблеме, в том числе и рассмотрение участия в апоптозе этих клеток известных индукторов агрегации: коллагена, арахидоновой кислоты, тромбина, АДФ, ионофора кальция А23187 и др. [1]. Установлен бимодальный характер влияния, в зависимости от величины концентрации индуктора. При низких концентрациях наблюдается активация тромбоцитов, а при высоких – запускается программа апоптоза (транслокация фосфатидилсерина с внутренней поверхности цитоплазматической мембраны на внешнюю, открытие гигантских митохондриальных пор и выход с_с, каскадная активация каспаз и фрагментация клетки для последующей утилизации фагоцитами). При апоптозе прерываются патологические процессы, приводящие к стимуляции тромбообразования. Модулируя с помощью микроволнового излучения активацию тромбоцитов мы, тем самым, можем осуществлять выбраковку различных субпопуляций тромбоцитов [2]. В данной работе рассматривается только случай низких концентраций индуктора, приводящий к коррекции агрегационной функции тромбоцитов.

Известны положительные терапевтические эффекты микроволнового излучения и разрабатываются все новые и новые методы лечения различных заболеваний [3]. Воздействия ЭМИ на клетки человека, по мнению авторов работы [4], могут вызывать: программируемую смерть клеток (апоптоз), модификацию дифференциации клеток, адаптивную реакцию клеток, изменение процессов пролиферации и другие важные биологические процессы. В данной работе рассматривается один из аспектов применения КВЧ излучения в медицинских приложениях, а именно, как фактор коррекции нарушений реологических свойств крови в клинической практике. Полученные результаты свидетельствуют о том, что КВЧ облучение низкой интенсивности в условиях нашего эксперимента способно уменьшить уровень агрегации тромбоцитов. Эффект облучения проявлялся в снижении степени агрегации тромбоцитов по сравнению с контролем при добавлении индуктора агрегации – ристомидина, а также в уменьшении угла наклона агрегатограммы (скорости агрегации тромбоцитов). Предложен мембранный механизм обнаруженного эффекта – влияния КВЧ излучения низкой интенсивности на процесс агрегации тромбоцитов, который существенно расширяет наши прежние представления о мембранотропном действии микроволнового излучения [5]. Дальнейшие наши исследования механизма обнаруженного эффекта предполагают изучение влияния, помимо температуры образца, pH среды, а также перекисного окисления липидов как механизма регуляции агрегационной активности тромбоцитов при микроволновом облучении.

1. A Werio L., Safa O., Clemetson K.J. et al. Surface expression and functional characterization of alpha-granule factor V in human platelets: effects of ionophore A23187, thrombin, collagen, and convulxin // *Blood*. 2000. 95. 1694.

2. Березовская Г.А. Апоптоз тромбоцитов: причины недостаточной эффективности антитромбоцитарных препаратов // *Бюллетень СО РАМН*. - 2011. - Т. 32, № 4. - С. 17-27.

3. Terrone M., Avakyan R. Extremely high-frequency therapy in oncology // *J Altern Complement Med*. -2010, 16(11). –С. 1211-1216.

4. Szabo I., Kappelmayer J., Alekseev S.I., Ziskin M.C. Millimeter wave induced reversible externalization of phosphatidylserine molecules in cells exposed in vitro // *Bioelectromagnetics*. 2006. –V. 27. –P. 233-244.

5. Казаринов К.Д. Исследование мембранотропной активности ЭМИ в широком диапазоне длин волн. *Электронная техника. Сер. 1. СВЧ - техника*. 2018. Вып. 2 (537). С. 62-75.

РОЛЬ МЕМБРАНАКТИВНЫХ КАНАЛООБРАЗУЮЩИХ СОЕДИНЕНИЙ В УСИЛЕНИИ МЫШЕЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

ROLE OF MEMBRANEACTIVE CHANNEL-FORMING PREPARATIONS AT INCREASING OF MUSCULAR ACTIVITY

Касумов Х.М., Таги-заде Т.П.¹

Институт ботаники Национальной Академии Наук Азербайджана, Баку, khalil.gasimov@gmail.com

¹Государственная Академия Физической Культуры и Спорта, Баку, tahmina.taghizada@sport.edu.az

Известно, что каналы, функционирующие в мембранах мышечных клеток, избирательно транспортируют ионы Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺, а также определенные субстраты, в частности, моносахара для поддержания процесса гликолиза и окислительного фосфорилирования с целью синтеза богатых химической энергией макроэргических соединений. При мышечной активности усиливается процесс поглощения глюкозы скелетными мышцами, повышается активность мембраносвязанных ферментов, резко возрастает потребность организма в ионах, углеводах и других органических субстратах. В период интенсивной деятельности мышца потребляет в 1000 раз больше молекул АТФ, чем в состоянии покоя. Главным источником синтеза энергии в мышечных клетках являются определенные субстраты, такие как ионы и углеводы. Для усиления мышечной деятельности и быстрого восстановления функционирования основных систем организма используются биологически активные соединения с установленной химической структурой молекул и установленным механизмом действия. К веществам, обладающим мембранотропным механизмом действия, относятся полиеновые антибиотики (ПА).

Большинство ПА продуцируются почвенными грамположительными микроорганизмами, принадлежащие к классу *Streptomyces*. Основными представителями класса ПА являются неароматические антибиотики – амфотерицин В, нистатин, микогептин и антибиотик с ароматической группировкой – леворин. В основе биологического действия ПА лежит формирование ими в клеточных и липидных мембранах структурных ионных каналов молекулярных размеров с определенной проводимостью и избирательной проницаемостью для ионов и некоторых субстратов [1]. С помощью метода бислойных липидных мембран изучена способность полиенов формировать в мембранах ионные каналы. В природе не существует другого класса соединений, кроме ПА, которые формируют в мембранах структурные каналы молекулярных размеров. Из всех изученных ПА наиболее биологически активными являются амфотерицин В и леворин. Путем встраивания в мышечные клетки полиенов удастся моделировать процесс формирования каналов и экспериментально осуществить перенос через мембраны ионов калия, натрия, кальция, а также трансмембранный перенос углеводов, столь необходимых при мышечной деятельности. В период интенсивной мышечной работы потребность организма в ионах, углеводах и других органических субстратах резко возрастает и каналы мышечных клеток начинают работать с большей интенсивностью. Однако удельная активность работы нативных каналов лимитирована и поэтому они не обладают способностью в единицу времени поставлять мышечным клеткам органические соединения в необходимом количестве. Запас энергии в мышцах постепенно истощается и быстро наступает период утомления. Здесь возникает необходимость активизации работы нативных клеточных каналов с помощью экзогенных соединений, способных дополнительно формировать в мембранах мышечных клеток катионселективные каналы. Эксперименты показали, что полиены формируют в мембранах мышечных клеток экспериментальных животных ионные каналы [2]. В период мышечной работы потребность в моносахарах резко возрастает. Чтобы показать способность полиенов транспортировать молекулу глюкозы через мембраны исследована проницаемость липидных мембран, модифицированных полиенами, для моносахаров и других нейтральных молекул осмотическим методом. Показано, что при модификации липидных мембран леворином наблюдается увеличение проницаемости для нейтральных молекул в следующем ряду проницаемости: H₂O > мочевины > ацетамид > глицерин > рибоза > арабиноза > глюкоза > сахароза. До сахарозы указанные выше молекулы свободно проходят через мембраны. Чтобы усилить быструю доставку субстратов в мышечные клетки необходимо уменьшить поверхностное натяжение водных растворов, содержащих каналобразующие соединения. Для этого было изучено влияние некоторых субстратов на величину поверхностного натяжения, окружающих мембрану растворов. Исследования показали, что введение в водную среду диметилсульфоксида в комплексе с цитралем резко снижает поверхностное натяжение примембранных растворов. Так, поверхностное натяжение смешанных растворов примерно в 2 раза ниже по сравнению с водой. Введение в смешанные растворы амфотерицина В и Na-соли леворина приводит к увеличению скорости сборки каналов. Формирование полиеновыми антибиотиками дополнительных каналов проницаемости в мембранах мышечных клеток может усилить проницаемость для энергозависимых субстратов.

1. Samedova A.A., Tagi-zade T.P., Kasumov Kh.M. Dependence of ion channel properties formed by polyene antibiotics molecules on the lactone ring structure. Russian Journal of Bioorganic Chemistry, 2018, v. 44, No. 3, p. 337–345.

2. Shvinka N. 2001. Channel-formation in muscle fibre membrane compared to artificial bilayer membranes. Proc. Latv. Acad. Sci., v. 56, p. 57-60.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ВЫЯСНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ВЕКТОРНОГО ПОТЕНЦИАЛА ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ

EXPERIMENTAL VERIFICATION FOR BIOLOGICAL ACTIVITY INDUCED BY ELECTROMAGNETIC VECTOR POTENTIAL

Кашулин П.А., Калачева Н.В., Щеглов Г.А.

Полярно-альпийский ботанический сад-институт РАН, г. Апатиты

Со времен публикации работы [1] обсуждается возможность проявления свойств векторного потенциала электромагнитного поля (ВП) как самостоятельной физической реальности, а не как чисто математической абстракции и возможного физического агента солнечно-земных связей, ответственного за эффект Вельхера [2]. Исследовали возможные реакции высших растений на локальные, искусственно созданные изменения фонового ВП так как предлагали в [3]. Согласно рекомендациям [3] использовали тороидальный соленоид, сформированный из $N = 970$ витков медного провода при токах $0,7 - 0,9$ А, с внешним диаметром 150 мм и диаметром сердечника 25 мм. Изменения ВП и проявление его биоактивности оценивали по изменению физиологического состояния фотосинтетического аппарата (ФСА) высших растений. В основе функций ФСА лежат согласованные потоки электронов между фотосистемами и другими белково-мембранными комплексами, что дает основание предполагать его восприимчивость к изменениям внешних ЭМ полей или потенциалов. В свою очередь, для анализа физиологической активности ФСА *in situ* использовали методы импульсно-модулированной флуоресцентной спектроскопии интактных листьев. Непосредственно перед включением тока, в процессе его и после проводили измерение флуоресценции хлорофилла листьев флуориметром РАМ-2100, «WALZ, Effetrich». Изменяя флуоресцентные параметры: F_0 , F_v/F_m , F_m и др. [4], оценивали текущее состояние ФСА, уровень фотохимической конверсии и активность фотозащитных систем. В качестве объектов использовали оранжевые растения: *Ficus benjamina*, *Hibiscus rosa-sinensis*, *Pereskia aculeata*, *Sansevieria trifasciata*, культивируемые в стандартных условиях. В опытах экспериментальные растения подвергали 4 час экспозиции в непосредственной близости к источнику ВП. В вариантах опытов использовали топологически замкнутый вокруг соленоида объект так, как указано в [3]. Для этого использовали лиановидную форму *P. aculeata*, растение наматывали в один оборот вокруг соленоида до образования замкнутого кольца, контакт фрагментов, образующих виток, обеспечивали зажимом. При измерении флуоресценции вблизи тороидального соленоида при токе 0,9 А обнаружено изменение параметра F_0 на 5-7% и F_m на 10-15% в листьях разных растений, при их экспозиции в пределах 5 - 20 см от соленоида. Величина изменений зависела от ориентации листовой пластинки и расстояния до излучателя. Сравнение значений F_m измеряемых за день до облучения и сразу после него показало рост параметра на 15-28% для всех листьев растений разных видов. Эффект увеличения F_m воспроизводился в серии из 16 повторов опытов с января по май 2019 г. Зарегистрированные изменения флуоресценции указывают на физическое действие тороидального соленоида, который согласно теории меняет ВП без изменения магнитного поля в окружающем пространстве при постоянном токе. У растений разных видов наибольшие изменения параметров F_0 и F_m обнаружены во время токовой нагрузки или через несколько часов после её отключения. F_0 отражает флуоресцентную эмиссию при открытых реакционных центрах и максимальном фотохимическом тушении, рост показателя характеризует также деструкцию реакционных центров ФС II или ингибирование переноса энергии возбуждения от антенн на реакционные центры [4]. Соответственно F_m соответствует полному закрытию восстановленных реакционных центров при минимуме потерь на тепловую диссипацию и нефотохимическое тушение. Увеличение F_m может указывать на повышение эффективности восстановления первичных акцепторов ФС II внешними физическими факторами механизмы действия которых предстоит выяснить.

1. Aharonov Y., Bohm D. Significance of electromagnetic potentials in the quantum theory // Phys. Rev. 1959. V. 115. No 3. P. 485-491.

2. Чижевский А.Л. Некоторые микроорганизмы как индикаторы солнечной активности и предвестники солнечных вспышек // Авиационная и космическая медицина. М., 1963. С. 76-89.

3. Труханов К.А. Векторный потенциал электромагнитного поля // Электромагнитные поля в биосфере. Т. 1. Электромагнитные поля в атмосфере Земли и их биологическое значение. Под ред. Н.В.Красногорской. М: Наука, 1984. С. 331-350.

4. Bolhar-Nordenkampf H.R. et al. Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: A review of current instrumentation // Funct. Ecol. 1989. Vol. 3. P. 497-514.

ТОКСИЧНОСТЬ И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ФУЛЛЕРЕНОЛОВ. РОЛЬ КИСЛОРОДСОДЕРЖАЩИХ ЗАМЕСТИТЕЛЕЙ. БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ МОНИТОРИНГ
TOXICITY AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF FULLERENOLS. THE ROLE OF OXYGEN SUBSTITUENTS. BIOLUMINESCENT MONITORING

Ковель Е.С.^{1,2}, Кудряшева Н.С.^{1,3}, Сачкова А.С.⁴

¹Институт биофизики СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск

²Институт физики СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск

³Сибирский федеральный университет, Красноярск

⁴Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск

Фуллеренолы – наноразмерные водорастворимые полигидроксильированные производные фуллеренов, биологически активные соединения и перспективные агенты для разработки лекарственных препаратов. В работе проведен анализ токсичности и антиоксидантной активности двух групп фуллеренолов с различным количеством кислородсодержащих заместителей: (1) $C_{60}O_y(OH)_x$, $C_{60,70}O_y(OH)_x$, где $x + y = 24-28$ и (2) $C_{60,70}O_y(OH)_x$, $Fe_{0,5}C_{60}O_y(OH)_x$, $Gd@C_{82}O_y(OH)_x$, где $x + y = 40-42$. Для мониторинга токсичности растворов фуллеренолов использовали люминесцентные клеточные и ферментативные биотесты (соответственно светящиеся морские бактерии и их ферментативные реакции), где главный тестируемый параметр физиологической активности – интенсивность биолюминесценции. Для характеристики токсичности фуллеренолов определяли их концентрации, ингибирующие биолюминесценцию тестовых систем. Антиоксидантную активность фуллеренолов изучали в растворе модельного окислителя (1,4-бензохинона); по уменьшению общей и окислительной токсичности растворов рассчитывали коэффициенты детоксикации (соответственно D_{GT} и D_{OxT}).

Все фуллеренолы оказывали токсическое действие при высоких концентрациях ($>0,01$ г/л); их антиоксидантная активность проявлялась при низких и сверхнизких концентрациях ($<0,001$ г/л). Установлено, что количественные характеристики токсичности и антиоксидантной активности фуллеренолов (эффективные концентрации, диапазоны концентраций, D_{GT} и D_{OxT}) зависят от количества кислородсодержащих заместителей. Фуллеренолы с меньшим количеством кислородсодержащих заместителей ($x + y = 24-28$) характеризовались меньшей токсичностью и большей антиоксидантной активностью. Различия в свойствах фуллеренолов связаны с их каталитической активностью (обусловленной электронно-акцепторными свойствами), способностью нейтрализовывать радикальные формы кислорода и содержанием этих форм в водных растворах. Полученные результаты формируют теоретический инструмент для выбора углеродных наночастиц с соответствующими токсическими и антиоксидантными характеристиками. На основании полученных результатов мы рекомендуем способ снижения токсичности перспективного эндоэдрального фуллеренола $Gd@C_{82}O_y(OH)_x$, путем уменьшения количества кислородсодержащих групп до $x + y = 24-28$.

В работе продемонстрирован высокий потенциал люминесцентных биотестов для сравнения токсичности и антиоксидантной активности углеродных наноструктур.

Работа поддержана грантами РФФИ и правительством Красноярского края, 18-44-240004 p_a и 18-29-19003; программой РАН №32: Нанобиотехнологии. Нанодетекция и нанодиагностика.

ИЗОТОПНОЕ ЗАМЕЩЕНИЕ D/H ВО ВНУТРЕННЕЙ СРЕДЕ ОРГАНИЗМА ПРИВОДИТ К СМЕЩЕНИЮ ПРО – И АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА ТКАНЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

ISOPOTIC SUBSTITUTION OF THE D / H OF THE INTERNAL MEDIUM OF THE ORGANISM LEADS TO A SHIFT OF PRO- AND ANTIOXIDANT STATUS OF THE BRAIN TISSUE

Козин С.В.^{1,2}, Кравцов А.А.¹, Барышев М.Г.^{1,2}

¹Лаборатория проблем распределения стабильных изотопов в биологических системах - Южный Научный Центр РАН, г. Ростов –на- Дону, kozinsv85@mail.ru

²ФГБУ ВО Кубанский Государственный Университет, г. Краснодар

Ишемическое поражение мозга является одним из лидирующих заболеваний в мире по смертности и нетрудоспособности населения среднего и пожилого возраста. Аноксия, вызванная на фоне нарушения мозгового кровообращения, приводит к гиперобразованию активных форм кислорода (АФК) и увеличению интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) в тканях головного мозга [1]. В виду этого актуальной задачей медицины является разработка препаратов, направленных на повышение устойчивости тканей головного мозга к гипоксии. Данные последних исследований указывают на способность обедненной дейтерием воды (ОДВ) изменять изотопный D/H состав крови и тканей и повышать, таким образом, потенциал защитных систем организма [2,3], увеличивая уровень стрессоустойчивости лабораторных животных [4]. Все это может быть весьма полезно в коррекции гипоксических состояний.

Исследование свободнорадикальных процессов в тканях головного мозга проводили методом хемилюминесцентного анализа с определением интегрального показателя – светосуммы (у.е.), а так же путем оценки содержания малонового диальдегида (МДА).

У гипоксированных животных развивался интенсивный окислительный процесс в тканях головного мозга крыс. Это выражалось повышением концентрации малонового диальдегида и увеличением интегрального показателя хемилюминесценции по сравнению с интактными группами. Крысы, в рационе которых была ОДВ (50 ppm) в течение двух недель и подвергшиеся гипоксии, имели достоверно самые высокие показатели уровня СРО ($92,9 \pm 2,1$ у.е.) и МДА ($3,1 \pm 0,3$ нмоль/мг) против контроля $54,8 \pm 2,0$ и $2,1 \pm 0,1$. При этом у животных, которые употребляли воду с природным содержанием дейтерия (150 ppm), концентрация МДА составила $2,9 \pm 0,1$ нмоль/мг, а светосумма свечения была $75,4 \pm 3,0$ у.е., что так же было выше контрольного значения. Отсюда можно предположить, что изменение соотношения D/H во внутренней среде организма на начальном этапе воздействия вызывает стрессовую реакцию, приводящую к гиперпродукции АФК и усилению ПОЛ. Таким образом, животные, в рационе которых была ОДВ, подверглись не только гипоксическому воздействию, но еще и дополнительному стрессу за счет изотопного D/H обмена, что и привело к повышенному образованию свободных радикалов.

Напротив, у животных, в шести недельном рационе которых была ОДВ и подвергшихся гипоксическому воздействию, уровень свободнорадикального окисления был достоверно ($p < 0,05$) на 15% меньше, а уровень МДА достоверно ($p < 0,05$) меньше на 33 %, по сравнению с гипоксированной группой животных, употреблявших воду с естественным содержанием дейтерия так же в течение шести недель.

Возможно, это указывает на антиоксидантные свойства ОДВ при более продолжительных сроках поения. При этом животные, которые употребляли ОДВ в течение 14 дней в условиях нормоксии, так же имели достоверно более высокие оценки окислительного стресса ($81 \pm 2,6$ у.е. и $2,8 \pm 0,2$ нмоль/мг). На шестой недели поения данные показатели были уже на уровне контроля.

Вероятно, что вода с пониженным содержанием дейтерия при длительном употреблении перестает действовать как стресс-фактор. Возможно, увеличение резистентности головного мозга крыс к гипоксическому воздействию на фоне продолжительного изотопного замещения дейтерия на протий, является следствием включения организмом комплекса адаптационных реакций.

Таким образом, дострессовое не продолжительное применение воды с пониженным содержанием дейтерия влечет за собой увеличение прооксидантного потенциала тканей головного мозга и подавлением стресс – лимитирующих функций организма. Предстрессовое продолжительное использование воды с уменьшенной концентрацией дейтерия влечет увеличение антиоксидантного потенциала в тканях головного мозга и активация протекторных функций организма. Это дает основание для использования воды с модифицированным изотопным составом в качестве антигипоксического средства.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект №19-44-233005) и государственного задания ЮНЦ РАН (№АААА-А19-119040390083-6).

1. Bondy S.C., LeBel C.P. The Relationship Between Excitotoxicity and Oxidative Stress in the Central Nervous System // *Free Radical Biology & Medicine*. 1993. 14: 633–642.
2. Kozin S.V., et al. Isotope Exchange of Deuterium for Protium in Rat Brain Tissues Changes Brain Tolerance to Hypoxia // *Biophysics*. 2019. Vol.64, № 2. P. 272 – 278.
3. Dzhimak S.S., et al. Influence of deuterium-depleted water on hepatorenal toxicity // *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*. 2018. Vol.13. №2
4. Mladin C., et al. Deuterium-depleted water has stimulating effects on long-term memory in rats // *Neuroscience Letters*. 2014. 583: 154–158.

НЕГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ТОКСИЧЕСКИХ И АДАПТАЦИОННЫХ ЭФФЕКТОВ. ИЗУЧЕНИЕ С ПОМОЩЬЮ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ ТЕСТОВЫХ СИСТЕМ РАЗЛИЧНОЙ СЛОЖНОСТИ – КЛЕТОК, ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ И ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫХ БЕЛКОВ

NONGENETIC MECHANISMS OF TOXIC AND ADAPTIVE EFFECTS VIA LUMINESCENT BIOASSAYS OF DIFFERENT COMPLEXITY: CELLS, ENZYME REACTIONS, AND FLUORESCENT PROTEINS

Кудряшева Н.С.^{1,2}, Алиева Р.Р.¹, Рожко Т.В.^{3,2}, Ноговицына Е.И.², Ковель Е.С.¹, Сачкова А.С.⁴

¹Институт биофизики СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск

²Сибирский федеральный университет, Красноярск

³Красноярская государственная медицинская академия, Красноярск

⁴Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск

Способность некоторых биологических систем люминесцировать обеспечивает исследователей удобным инструментом для изучения токсических и адаптационных эффектов. Люминесценция рассматривается как физиологический параметр и может быть зарегистрирована с помощью простых физических приборов.

Высокая скорость и простота анализа обеспечивает большое количество измерений в сопоставимых условиях, что чрезвычайно важно для корректной статистической обработки результатов.

Самый известный люминесцентный биотест – морские светящиеся бактерии. Этот биотест используется уже более пятидесяти лет благодаря высокой чувствительности к токсикантам. Современная тенденция к упрощению биотестовых систем привела к развитию нового направления – ферментативным биотестам, оценивающим действие токсикантов на скорости биохимических реакций. В наших работах мы используем биолюминесцентную систему сопряженных ферментативных реакции люминесцентных бактерий. Ранее [1] предложена классификация эффектов токсикантов на эту систему с точки зрения их воздействия на элементарные физико-химические процессы (переносы энергии, электрона, водорода).

Простейшая из используемых нами биотестовых систем – целентерамид-содержащий флуоресцентный белок (ЦЛМ-ФБ), который способен изменять цвет флуоресценции под влиянием химических или других деструктивных воздействий. Такое варьирование цвета – результат частичной деструкции белкового комплекса и изменения эффективности фотохимического переноса протона в этом комплексе. Т.о., токсичность в данном случае связывается с изменением структуры белка и его способности катализировать фотохимическую реакцию переноса протона – элементарный физико-химический процесс в белковом комплексе. Использование ЦЛМ-ФБ в качестве принципиально нового биотеста впервые предложено в [2].

Изучение эффектов на биохимическом и физико-химическом уровнях выявляет негенетический аспект токсических воздействий.

Для мониторинга токсичности модельных растворов органических соединений (красителей, хинонов, фенолов), солей металлов, радиоактивных элементов (америций-241, тритий, уран-235+238) [3] и гамма-излучения (цезий-137) использовали люминесцентные биотесты различной сложности – морские люминесцентные бактерии, их ферментативные реакции, ЦЛМ-ФБ; токсические эффекты сравнивались на клеточном, биохимическом и физико-химическом уровнях. Выявлены и охарактеризованы ингибирование (токсичность) и активация (адаптивный отклик) люминесценции биотестовых систем. Низкодозовые радиационные эффекты интерпретированы с использованием модели радиационного гормезиса. Выявлена роль активных форм кислорода (АФК) в низкодозовых воздействиях трития на люминесцентные бактерии; активационные эффекты связаны с «эффектом свидетеля» и сигнальной функцией АФК.

Люминесцентные биотесты различной сложности использованы для оценки эффективности детоксикации растворов окислителей с помощью биоактивных соединений природного и искусственного происхождения – гуминовых веществ и фуллеренолов [4-5]. Продемонстрирована активная роль биотестовых систем в процессах детоксикации. Показана связь токсического и антиоксидантного эффекта биоактивных веществ с содержанием АФК в водных растворах.

Работа поддержана грантами РФФИ и правительством Красноярского края, №18-44-242002 р_мк, 18-44-240004 р_а и 18-29-19003; программой РАН №32: Нанобиотехнологии. Нанодетекция и нанодиагностика.

1. Kudryasheva NS. Bioluminescence and exogenous compounds. Physico-chemical basis for bioluminescent assay // J.Photochem.Photobiol B. 2006. Vol. 83. P.77.
2. Alieva R., Kudryasheva N. Variability of Fluorescence Spectra of Coelenteramide-Containing Proteins as a Basis for Toxicity Monitoring // Talanta. 2017. Vol. 170. P. 425.
3. Kudryasheva N.S., Rozhko T.V. Effect of low-dose ionizing radiation on luminous marine bacteria: radiation hormesis and toxicity // J. Environ. Radioact. 2015. Vol. 142. P. 68.
4. Kudryasheva NS, Tarasova AS. Pollutant toxicity and detoxification by humic substances: mechanisms and quantitative assessment via luminescent biomonitoring // Environ. Sc. Pollut. Res. 2015. Vol. 22. P. 155.
5. Kudryasheva NS, et al. Bioluminescent Enzymatic Assay as a Tool for Studying Antioxidant Activity and Toxicity of Bioactive Compounds // Photochemistry and Photobiology. 2017. Vol. 93. P. 536.

УЧАСТИЕ КЛЕТОЧНЫХ СИСТЕМ РЕГУЛЯЦИИ У МЫШЕВИДНЫХ ГРЫЗУНОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ФИЗИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В МАЛЫХ ДОЗАХ

PARTICIPATION OF CELLULAR SYSTEMS OF REGULATION OF MUSCULATED RODENTS UNDER PHYSICAL AND CHEMICAL FACTORS IN LOW DOSES

Кудяшева А.Г.¹, Раскоша О.В.¹, Володин В.В.¹, Володина С.О.¹, Шишкина Л.Н.²

¹Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, kud@ib.komisc.ru

²Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия

Проблема повышения общей сопротивляемости организма и защиты населения, проживающего на территориях с техногенным загрязнением, приобрела особую актуальность в связи с глобальным загрязнением окружающей среды, а также прогрессирующим распространением хронического стресса у практически здоровых людей вследствие расширения сфер их профессиональной деятельности. Изучение адаптивных

возможностей организма при совместном действии повреждающих факторов разной природы вызывает необходимость оценки на мембранном и клеточном уровнях, поскольку наиболее ранние изменения выявляются в состоянии процессов перекисного окисления липидов и энергетического обмена, обуславливающих функционирование органов.

В работе обобщены результаты исследований действия повышенного уровня естественной радиоактивности и дополнительных воздействий физических и химических факторов низкой интенсивности на параметры системы регуляции перекисного окисления липидов, энергетического обмена в различных тканях, а также на морфофункциональное состояние щитовидной железы у мышевидных грызунов. Для оценки адаптационных возможностей организма проведены эксперименты: 1. хроническое γ -облучение полевок-экономок первого-третьего поколений, размноженных в условиях вивария от родителей с контрольного и радиоактивно загрязненного участков, суммарная поглощенная доза при облучении животных в течение 3,5 и 6 мес составила 1.6 и 2.8 сГр, соответственно; 2. совместное и раздельное действие хронического γ -излучения в течение одного месяца в дозе 1.6 сГр и нитрата свинца в диапазоне концентраций от 0.003 до 0.3 г/кг на мышей линии СВА; 3. совместное и раздельное действие хронического γ -излучения в течение одного месяца в дозе 1.6 сГр и нитратуранила (30 сут, удельная активность 25 Бк/л) на мышей линии СВА в ранние (1 сут) и отдаленные сроки (30 сут) после действия факторов; 4. совместное и раздельное действие γ -излучения в дозе 22.6 сГр и фитоэкдистероидного препарата «Серпистен» в дозах 5 и 50 мг/кг на белых беспородных мышей.

Установлено, что при действии физических и химических факторов в малых дозах в тканях потомков полевок-экономок и у лабораторных мышях развивается окислительный стресс, обуславливающий дисбаланс процессов дегидрирования, нарушение взаимосвязей между параметрами системы регуляции перекисного окисления липидов, а также изменение морфофункционального состояния щитовидной железы. Направленность и масштаб изменений изученных показателей имеют сложный нелинейный характер в зависимости от дозы γ -излучения и/или концентрации химического вещества, времени после воздействия, исходного значения показателей в тканях. Механизм действия химических факторов в клетках и тканях животных подобен адаптивным процессам, происходящим в организме при хроническом воздействии γ -излучения низкой интенсивности, действуя как мягкий стресс, включая активацию отдельных звеньев процессов перекисного окисления липидов и энергетического обмена, морфофункционального состояния тиреоидной ткани, изменение фосфолипидного состава клеточных мембран, а также индукцию биосинтеза белков теплового шока семейства 70 (Hsp70 и Hsc70), которые обеспечивают на клеточном уровне процессы срочной и долговременной адаптации и способствуют повышению резистентности организма к стрессовым воздействиям.

Представленные данные подтверждают участие процессов перекисного окисления липидов и энергетического обмена в перестройках организма при совместном воздействии факторов разной природы низкой интенсивности и позволяют использовать исследованные показатели для оценки его адаптационных возможностей. Сложный и неоднозначный характер ответных реакций на воздействие факторов разной природы в малых дозах необходимо учитывать при анализе последствий неблагоприятных экологических факторов на биологические объекты.

ВЛИЯНИЕ АТМОСФЕРНЫХ ФАКТОРОВ НА БАЗАЛЬНЫЕ И ИНДУЦИРОВАННЫЕ АКТИВНЫМИ ФОРМАМИ КИСЛОРОДА УРОВНИ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК КЛЕТОК МЫШЕЙ

INFLUENCE OF ATMOSPHERIC FACTORS ON THE BASAL AND INDUCED BY ACTIVE FORMS OF OXYGEN DNA DAMAGE LEVEL OF MICE CELLS

Е.А. Кузнецова¹, Н.П. Сирота¹, Т.А. Зенченко^{1,2}

¹*Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, E-mail: kuzglu@rambler.ru*

²*Институт космических исследований РАН, Москва*

В исследованиях на уровне организма в работах различных авторов многократно продемонстрировано, что показатели сердечно-сосудистой системы человека изменялись под воздействием факторов земной и космической погоды. Однако значительная вариабельность амплитуд и даже знаков обнаруженных эффектов, обусловленная, по-видимому, их зависимостью от текущего состояния, как самого человека, так и условий окружающей среды, не позволяет в настоящее время построить достаточно полную непротиворечивую модель реакции организма человека на комплекс факторов земной и космической погоды. В отличие от человека, лабораторные животные находятся в стандартных стационарных условиях и не подвергаются воздействиям, связанным с разнообразием питания, передвижением, общением с новыми индивидуумами, получением различной информации и самовнушением. Несмотря на это, при проведении многочисленных экспериментов мы обнаружили, что в разные дни некоторые показатели у одних и тех же клеточных популяций отличались друг от друга. Так, в экспериментах по определению уровней повреждений ДНК лейкоцитов крови мышей методом «комета тест» было обнаружено, что изменялся базальный уровень этих повреждений в разные дни. В

этой связи было интересно выяснить, существует ли зависимость наблюдающихся вариаций уровня повреждений ДНК от атмосферных факторов, используя биологические модели – мышинные клетки – при дополнительной генотоксической нагрузке (воздействие рентгеновского излучения – X-облучение) и без нее. X-облучение можно рассматривать как атаку активных форм кислорода (АФК). В норме уровень повреждений ДНК индивидуальных клеток отражает процессы возникновения повреждений и их репарации в ДНК, поскольку ДНК клеток постоянно подвергается спонтанной тепловой и гидролитической деградации, окислению и неферментативному метилированию. В настоящей работе изучали изменения уровней повреждений ДНК – %TDNA (per cent of DNA in a comet tail), определенных методом «комета тест» в лейкоцитах крови, клетках опухолей асцитной карциномы Эрлиха и лимфолейкоза P388 мышей, в зависимости от показателей атмосферного давления, температуры воздуха, его относительной влажности, парциального содержания кислорода и уровня геомагнитной активности. Здесь следует отметить, что из-за постоянной вентиляции в помещениях вивария идет активный обмен воздуха с внешней средой. Данные значений метеорологических параметров были получены с сайта <https://rp5.ru/> по г. Серпухов, по уровню геомагнитной активности – с сайта ftp://ftp.ngdc.noaa.gov/STP/GEOMAGNETIC_DATA/INDICES/KP_AP. Были использованы среднесуточные значения, полученные вычислением среднего арифметического для атмосферного давления, температуры, относительной влажности и суммированием – для Кр-индекса, т.е. планетарного индекса геомагнитной активности восьми трехчасовых показателей. Весовое (парциальное) содержание кислорода в атмосферном воздухе было рассчитано по формуле Клапейрона. Нами обнаружено: (1) повышенные значения %TDNA лейкоцитов регистрировались в узких диапазонах атмосферной температуры (-4 °С – +3 °С) и парциального содержания кислорода воздуха 298-304 мг/л; (2) по мере роста уровня геомагнитной активности увеличивался диапазон вариаций %TDNA лейкоцитов; (3) изменения %TDNA интактных или X-облученных (4 Гр) лейкоцитов и опухолевых клеток ассоциированы с изменениями температуры воздуха; (4) выявлена корреляция между атмосферной температурой и %TDNA обоих видов интактных опухолевых клеток и облученных клеток P388. Из литературы известно, что при фазовых превращениях воды (вода-лед-вода и вода-пар-вода) регистрировали появление H₂O₂, что можно объяснить механохимическими реакциями радикальной диссоциации воды [1]. Было показано, что, подобно тому, как это происходит при расплавлении и отвердевании полимеров, после фазовых переходов воды и в талой воде, и в конденсированной воде образуются ОН-радикалы и Н-атомы и накапливается H₂O₂, что происходит и без воздействия света. В экспериментах содержание H₂O₂ в талой воде еще некоторое время после таяния монотонно увеличивалось, достигая насыщения через несколько часов, что свидетельствовало о значительной продолжительности жизни радикалов воды в клетках структур воды – кластерах. Существование кластеров водяного пара в атмосфере не вызывает сомнений и полагают, что именно атмосферные кластеры воды способствуют перемещению веществ, переносимых парами воды из водных растворов [1]. Возможно, что обнаруженное нами повышение значений %TDNA лейкоцитов связано с воздействием на них АФК, формирующихся при фазовых переходах воды в окружающей среде. Изменения базального уровня повреждений ДНК клеток, по-видимому, могут приводить к изменению их радиационного ответа.

1. Домрачев Г. А., Селивановский Д. А., Стунжас П. А. и др. *Эффективность образования пероксида водорода и радикалов воды в природе*, Препринт ИПФ РАН № 537 (Нижний Новгород, 2000) (<http://mognovse.ru/nzx-effektivnoste-obrazovaniya-peroksida-vodoroda-i-radikalov.html>).

РЕЗУЛЬТАТЫ ЦИФРОВОГО МОРФОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПРИЗНАКОВ ИМАГО НАСЕКОМЫХ, ПОДВЕРГНУТЫХ ЭКЗОГЕННУМУ НИЗКОИНТЕНСИВНОМУ КОГЕРЕНТНОМУ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ НА ЭМБРИОНАЛЬНОЙ И ПОСТЭМБРИОНАЛЬНОЙ СТАДИЯХ ОНТОГЕНЕЗА

THE RESULTS OF DIGITAL ANALYSIS OF MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS OF ADULT INSECTS EXPOSED TO EXOGENOUS LOW-INTENSITY COHERENT ELECTROMAGNETIC RADIATION ON THE EMBRYONIC AND POSTEMBRYONIC STAGES OF ONTOGENESIS

Кузьмичев В.Е., ¹Белкина Е.Г., А.А. Празян, Т.Н. Мехдиев, Н.Д. Нестеров

Калужский государственный университет им. К.Э. Циолковского

¹Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва

Низкоэнергетическое воздействие в ИК-диапазоне на живые организмы обуславливает процессы, происходящие на клеточном и молекулярном уровнях. Эксперименты проводились на модельных объектах: *Drosophila melanogaster* и *Apis mellifera*. Исследовалась зависимость показателей флуктуирующей асимметрии жилкования крыльев имаго, экспонированных на доимагинальных стадиях онтогенеза, от параметров воздействия низкоинтенсивного лазерного излучения (НЛИ) (имп., 890нм).

В качестве источника ИК-излучения использовался инфракрасный импульсный лазерный аппарат АЛТ

«Узор-2К». Источник излучения был выбран не случайно, поскольку этот аппарат широко используется в медицине для лазерной терапии различных заболеваний человека. Параметры НЛИ: мощность в импульсе 4,1 Вт, частота следования импульсов 1500Гц, время экспозиции 60, 240 и 480с, экспозиционная доза $4,50 \cdot 10^{-2}$, $1,78 \cdot 10^{-1}$, $3,65 \cdot 10^{-1}$ Дж/см². Личинки дрозофилы содержались в стандартных условиях. Методика экспериментов на пчелах аналогична с учетом специфики работы с ними [1,2].

Метод геометрической морфометрии позволяет исключить влияние размеров на результаты анализа формы морфологических структур с помощью набора специфических алгебраических техник, которые делают данный подход весьма актуальным инструментом биометрии. У полученных взрослых особей отделялись крылья и изготавливались временные препараты на предметных стеклах. Результаты их сканирования с помощью цифровой камеры заносились в базу данных в виде цифровых фотографий. На цифровой фотографии крыла дрозофилы расставлялось 12 меток [4], а на передних крыльях пчел расставлялось 8 меток (по А. Карташову, 2013 [3]). Далее координаты меток сохранялись программой TPSdig в формате “TPS”. Итогом проделанной в программах “TPS” и “Exel” работы является файл, в котором содержатся значимые показания деформаций каждого крыла относительно общего консенсуса.

В работе использовались четыре индекса флуктуирующей асимметрии – FA1, FA2, FA4 и FA6, взятые из работ [5] и вычисленные согласно формулам: $FA1 = R - L / N$, (индекс учитывает зависимости от размера), (индекс учитывает проявление направленной асимметрии), и (индекс учитывает и проявление направленной асимметрии, и зависимость от размера), где L и R - значения признака, соответственно, на левой и правой стороне тела особи, N – размер выборки.

Показатели флуктуирующей асимметрии выше при 4-минутном облучении (Среднее значение FA4(CS)(опыт 4мин) = 0,000113) > (Среднее значение FA4((CS)(опыт 1мин) = 0,000086) и (Среднее значение FA4(CS)(опыт 4мин) = 0,000113) > (Среднее значение FA4((CS)(опыт 8мин) = 0,000094); (Среднее значение FA4(ORE)(опыт 4мин) = 0,000114) > (Среднее значение FA4((ORE)(опыт 1мин) = 0,000083) и (Среднее значение FA4(ORE)(опыт 4мин) = 0,000113) > (Среднее значение FA4((CS)(опыт 8мин) = 0,000075).

В исследуемых линиях CS и ORE под воздействием облучения достоверно часто наблюдалось повышение уровня флуктуирующей асимметрии относительно контроля (Среднее значение FA4(контроль) = 0,000076) < (Среднее значение FA4(опыт) = 0,000094). Уровень показателей FA4 совокупности признаков у самок и самцов исследуемых линий был одинаковым и, следовательно, можно предположить, что чувствительность к стрессирующему фактору по полу не различается (Среднее значение FA4(опыт самки) = 0,000094) = (Среднее значение FA4(опыт самцы) = 0,000094);

Полученные нами предварительные данные доимагинального экспонирования особей медоносной пчелы также показали перспективность метода цифровой геометрической морфометрии для оценки стрессирующего воздействия внешних факторов на морфометрические признаки имаго рабочих особей пчел.

1. Белкина Е.Г., Кузьмичев В.Е. Исследование изменения морфобиологических показателей имаго *Drosophila melanogaster*, подвергнутых экзогенному низкоинтенсивному когерентному электромагнитному воздействию / Научные труды Калужского государственного университета им. К.Э. Циолковского, 2014, С. 158-162.

2. Кузьмичев В.Е., Чернова Г.В., Каплан М.А. Изучение зависимости биостимулирующего эффекта НЛИ от стадии развития облученных особей *Apis mellifera*. // Физическая медицина. - 1994.- Т.4, №1-2.- С.19-20.

3. Карташев А.Б. Получение элитной матки среднерусской породы // Пчеловодство. - 2013. - №7.-С.13-14

4. Rohlf F.J., 2000. tpsUtil – TPS utility program. N. Y.: State Univ. at Stony Brook. [Electronic resource].

5. Palmer R.A. Fluctuating asymmetry analysis: a primer. In:MarkowT.A. (ed.) Developmental Instability:Its Origins and EvolutionaryImplications.// London: Kluwer Academic, 1994. – P.335-364.

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ САМООРГАНИЗАЦИИ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ УНИТИОЛА

THE STUDY OF THE SELF-ORGANIZATION PROCESSES IN UNITHIOL'S AQUEOUS SOLUTIONS

Кулешов Д.О., Муртазина Л.И.¹, Ахметзянова Л.Р.¹, Рыжкина И.С.¹, Галль Н.Р.², Галль Л.Н.

Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, hellchemist@yandex.ru

¹Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ Казанский научный центр РАН, Казань

²Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН, Санкт-Петербург

В настоящее время науки о жизни уделяют все более пристальное внимание изучению влияния слабых физических факторов (особенно – электромагнитных полей) на процессы, протекающие в молекулярных системах живых организмов. Хотя эти факторы имеют сверхнизкую интенсивность, они вызывают отчетливый макроскопический отклик живых систем. На сегодняшний день понимание физико-химических механизмов биологического действия сверхслабых естественных и искусственных факторов отсутствует [1]. Таким образом, актуальной является задача поиска молекулярных систем и биохимических процессов, являющихся

“мишенями” действия таких факторов. Одной из таких систем является тиол-дисульфидная система (ТДС) живых организмов.

ТДС представляет собой совокупность реакционноспособных тиоловых соединений, находящихся в организме в данный момент в восстановленном и окисленном состояниях, и сохраняющих способность к их изменению – окислению или восстановлению. В.В.Соколовским было показано [2], что состояние ТДС может быть количественно охарактеризовано отношением концентраций сульфгидрильных групп к дисульфидным, т.е. величиной тиол-дисульфидного отношения (ТДО), являющегося не только характеристикой неспецифической резистентности организма, но и интегральным показателем реакции организма на действие окружающей среды. Тем самым В.В.Соколовский впервые доказательно связал между собой процессы жизнедеятельности и их изменение под действием антропогенной и солнечной активности. Им же была предложена модельная химическая система для изучения реакции ТДС на влияние внешних химических, физических и биологических факторов [3]. Модельная система (“унитиоловый тест”) представляет собой реакцию окисления унитиола (2,3-димеркаптопропансульфоната-1 натрия) нитритом натрия, причем за количественный критерий принято время полуокисления тиоловых групп унитиола (ВПОУ). Полная корреляция между величинами ТДО *in vivo* и ВПОУ подтверждена в многолетних экспериментах группы В.В.Соколовского [3].

С целью детального понимания протекания реакции окисления унитиола нитритом натрия, в рамках исследования физико-химических механизмов биологического действия сверхслабых факторов, нами были проведены масс-спектрометрические исследования водных и водно-ацетонитрильных растворов унитиола. Было обнаружено, что унитиол присутствует в водных и водно-ацетонитрильных растворах в виде ассоциатов общей формулы $(C_3H_7O_3S_3Na)_nNa^+$, где наблюдаемое значение *n* достигало 8; так же было обнаружено, что продукты окисления унитиола способны к образованию ассоциатов с мономерами унитиола [4].

Полученные масс-спектрометрические данные позволили сделать предположение о наличии у унитиола поверхностно-активных свойств, а также о возможности существования в водных растворах унитиола мицелл и ассоциатов с большими числами агрегации. Это предположение было проверено методами динамического светорассеяния (Zetasizer Nano ZSP, Malvern Instruments) и тензиометрии (Sigma 720 ET, KSV Instruments). Для приготовления исследуемых растворов унитиола моногидрата (“фарм.”, ChemicalLine) использовалась деионизованная вода с удельным сопротивлением 18,2 МОм·см. Установлено, что унитиол является поверхностно-активным веществом и его критическая концентрация мицеллообразования имеет значение 0,3 моль/л. Показано, что в диапазоне концентраций унитиола 0,1 М – 1 М в водных растворах присутствуют частицы размером 0,5 – 2 нм, представляющие собой мицеллы. В диапазоне концентраций 10^{-6} - 10^{-2} М водные растворы унитиола имеют бимодальное распределение рассеивающих частиц по интенсивности объему с преобладанием частиц размером 50-500 нм, представляющих собой супрамолекулярные домены, образованные молекулами унитиола и молекулами воды.

Т.о., на основании полученных данных можно сделать вывод, что в области концентраций, в которой осуществляется проведение унитиолового теста, унитиол образует супрамолекулярные домены с размерами от 50 до 500 нм. Реакционная способность тиоловых групп зависит от структуры и физико-химических свойств супрамолекулярных доменов, на которые, предположительно, могут оказывать влияние внешние сверхслабые факторы.

1. В. Н. Бинги. Принципы электромагнитной биофизики. Физматлит, Москва, 2011, 592 с.
2. Соколовский В.В. // Вопросы медицинской химии. 1988. Т.34, №6 с. 200-210.
3. Соколовский В.В. Тиолдисульфидная система в реакции организма на факторы окружающей среды. СПб, Наука, 2008, 112с.
4. Кулешов Д. О. Кулешова Т. Э., Бобков Д. Е., Дьяченко А. А., Галль Н. Р., Галль Л. Н. //Научное приборостроение. – 2018. – Т. 28. – №. 3. – С. 72-83.

ВОЗМОЖНЫЕ ПРИЧИНЫ ВЫСОКОЙ ПОВРЕЖДАЕМОСТИ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК POSSIBLE REASONS FOR THE HIGH VULNERABILITY OF MITOCHONDRIAL DNA

Куцый М.П., Абдуллаев С.А., Маевский Е.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, Пущино

Характерной особенностью митохондриальной ДНК (мтДНК) является ее более высокая уязвимость по сравнению с ядерной ДНК (ядДНК) не только для активных форм кислорода (АФК), генерируемых в дыхательной цепи митохондрий, но и для различных экзогенных агентов. Ранее преобладала точка зрения, что повышенная чувствительность мтДНК к повреждающим воздействиям АФК и генотоксических агентов обусловлена отсутствием в митохондриях гистонов и других белков, образующих комплексы с мтДНК и защищающих ее от повреждений [1]. Однако в последнее время обнаружено, что молекулы мтДНК организованы в структуры, получившие название митохондриальные нуклеоиды [2]. Упаковка мтДНК в

нуклеоидах достигается с помощью ДНК-связывающих белков. Ранее нами было показано, что в митохондриях присутствуют гистон подобные белки, которые при физиологических условиях способны образовывать комплексы с ДНК [3]. Поэтому можно предположить, что более высокая чувствительность мтДНК по сравнению с яДНК обусловлена не отсутствием в митохондриях ДНК-связывающих белков, но является результатом процессов, происходящих в митохондриальных нуклеоидах.

В работе представлены результаты исследования влияния нуклеотидов на образование комплексов между ДНК и гистон подобными белками митохондрий печени крыс. Обнаружено, что АТФ и другие нуклеотиды препятствуют связыванию гистон подобных белков митохондрий с ДНК. При добавлении к лямбда ДНК гистон подобных белков митохондрий в отношении белок:ДНК равном 1, флуоресценция ДНК значительно снижается по сравнению с флуоресценцией ДНК в отсутствии белков. При отношении белок:ДНК равном 2 вся ДНК образует комплексы с белками. В тоже время, при добавлении 5 мМ АТФ, ГТФ или ЦТФ в инкубационную среду, содержащую белок и ДНК в отношении 1:1, флуоресценция ДНК примерно такая же как флуоресценция свободной ДНК. Это свидетельствует о том, что нуклеотиды полностью ингибируют образование ДНК-белковых комплексов. Однако, если в инкубационной среде белок и ДНК присутствует в отношении 2:1, то при добавлении 5 мМ АТФ не происходит полного ингибирования образования комплекса, при этом величина флуоресценции ДНК на 23,0% ниже флуоресценции исходной ДНК. В данном случае часть белков может взаимодействовать с АТФ и 5 мМ АТФ недостаточно для полного ингибирования образования ДНК-белковых комплексов. АТФ и другие нуклеотиды препятствуют связыванию гистон подобных белков с ДНК, возможно, потому, что сами способны связываться с данными белками. По-видимому, в нуклеоидах происходит конкуренция за ДНК-связывающие белки между мтДНК и АТФ. В присутствии АТФ с ДНК связывается значительно меньше белков, чем в их отсутствии. При связывании с гистон подобными белками АТФ предотвращает взаимодействие данных белков с мтДНК. Связываясь с белками, которые уже входят в состав мтДНК-белковых комплексов, АТФ может изменять структуру этих комплексов, и привести к диссоциации белков, лабильно ассоциированных с мтДНК. На основании проведенных исследований можно сделать вывод, что конкуренция между АТФ и мтДНК за ДНК-связывающие белки в нуклеоидах, а также структурные изменения ДНК-белковых комплексов в присутствии АТФ могут привести к появлению в мтДНК не защищенных белками участков, что может вызвать увеличение уязвимости мтДНК к действию АФК. По-видимому, АТФ принимает непосредственное участие в регуляции уровня ДНК в митохондриях. Ранее было показано, что АТФ и другие нуклеотиды ингибируют связывание гистона Н1 с яДНК [4]. Известно также, что ДНК-белковые комплексы ассоциированы с внутренней мембраной митохондрий вблизи комплексов ферментов дыхательной цепи, генерирующих АТФ и АФК, поэтому мтДНК в составе нуклеопротеиновых комплексов постоянно может подвергаться воздействию АТФ и АФК. Поскольку АТФ и АФК в митохондриях образуются в больших количествах, то их синхронное действие может влиять на структурное состояние ДНК-белковых комплексов в митохондриальных нуклеоидах.

Другая возможная причина высокой чувствительности мтДНК может быть обусловлена присутствием протеаз непосредственно в ДНК-белковых комплексах нуклеоидов. Мы обнаружили, что белки ДНК-белковых комплексов могут с разной интенсивностью расщепляться протеазами, входящими в состав этих комплексов и в результате, также могут появляться не защищенные белками участки ДНК, которые будут подвергаться повреждающим воздействиям АФК. Можно предположить, что, хотя в митохондриях присутствуют белки, обладающие способностью связываться с ДНК, постоянно высокая активность протеаз, в том числе активируемых ДНК, интенсивно расщепляющих данные белки, может привести к увеличению повреждаемости мтДНК активными формами кислорода.

1. Richter C. Reactive oxygen and DNA damage in mitochondria // *Mutat Res.* 1992. Vol. 275. P. 249.
2. Vogehagen D.F. et al. The layered structure of human mitochondrial DNA nucleoids // *J Biol Chem.* 2008. Vol. 283. P. 3665.
3. Kutsyi M.P. et al. DNA-binding proteins of mammalian mitochondria // *Mitochondrion*, 2005. Vol. 5. P. 35.
4. Nilson P. et al. DNA binding of histone H1 is modulated by nucleotides // *FEBS Lett.* 1992. Vol. 313. P. 67.

ДЕЙСТВИЕ НИЗКОЧАСТОТНЫХ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ ПОЛЕЙ НА АКТИВНОСТЬ РЕКОМБИНАНТНОЙ ЛЮЦИФЕРАЗЫ

THE INFLUENCE OF LOW-FREQUENCY ELECTRIC FIELD TO ACTIVITY RECOMBINANT LUCIFERASE

*Новиков В.Э. Олешкевич А.А., Данилова М. А.
кафедра радиобиологии МГАВМиБ, Москва. E-mail: laizzza@rambler.ru*

При исследовании действия электрических полей на активность люциферазы применяли систему «люцифераза-люциферин-АТФ- Mg²⁺» для чего использовали Биолуминесцентный реагент из стандартных наборов «Ultrasnap», «CheckLite», и т.п. Активность рекомбинантной люциферазы определяли по уровню биохемилуминесценции на стандартном хемилуминометре ХЛ-003. Кюветное отделение хемилуминометра

было дополнительно оборудовано гнездом-вкладышем для кюветы имевшим квадратное сечение (2×2)см. В одну пару противоположных сторон вкладыша были встроены металлические пластины, к которым подводилось переменное напряжение от специального низкочастотного генератора лабораторного изготовления. Генератор обеспечивал сигнал по форме близкий к синусоидальному в диапазоне от 6 до 100 Гц, с амплитудным значением 100В. Исследование проводили на частотах 6, 12, 24, 48, 96 Гц. Расстройка по частоте составляла около ±2Гц. Электрическое поле поавали на кювету в течение всего времени измерения. Во всех случаях использовали одну и ту же начальную концентрацию АТФ – (5×10⁻⁷) М. контролем служили аналогичные измерения без подачи напряжения от генератора на конденсаторные пластины кюветы. В качестве критериев активности люциферазы служили интенсивность хемиллюминесценции (I_{cl}), после выхода I_{cl} на стационарный уровень свечения и величину постоянной времени кривой затухания после окончания

стационарного свечения в связи с расходом АТФ: $(I_{cl}) - [I_{cl} = I_0 \times \exp(-\frac{t}{\tau})]$, где I₀ – стационарный уровень свечения; t - время от начала затухания; τ - постоянная времени экспоненты затухания свечения (увеличению τ соответствует рост скорости расхода АТФ и более высокая активность фермента).

При действии поля с частотой 6 Гц величина I₀ резко возрастала по сравнению с контролем от (250 ±47)имп/с до (1250 ± 75) имп/с. При этом длительность стационарного свечения сократилась приблизительно в 5 раз (от 30 мин до 5,5 мин), затухание свечения так же значительно ускорилось (τ возросло в 9 раз относительно контроля). Таким образом, воздействие электрического поля с частотой 6 Гц значительно повысило активность фермента. При исследовании на остальных частотах был обнаружен противоположный эффект. Так на частотах 12, 48, 96 Гц активность люциферазы была подавлена по сравнению с контролем от 2 (48 и 96 Гц) до 4 (12 Гц) раз. При действии поля с частотой 24 Гц активность люциферазы не отличалась от контроля.

ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ И РОСТ МАГНИТОМАРКИРОВАННЫХ КЛЕТОК SACCHAROMYCES CEREVISIAE

INFLUENCE OF THE STATIC MAGNETIC FIELD ON VIABILITY AND GROWTH OF MAGNETICALLY MODIFIED YEAST CELLS

Беспалова С.В., Кладько Д.В., Легенький Ю.А.

Донецкий национальный университет, 83055, г. Донецк, ул. Университетская, 24

e-mail: yu-legen@mail.ru, dan.kladko@yandex.ru

В научной литературе последних лет магнитомаркированные клетки успешно применяются в клеточных технологиях и экологии [1]. Использование таких клеток неразрывно связано с приложением внешнего магнитного поля, с помощью которого происходит управление магнитомодифицированными объектами. Однако вопросы возможного цитотоксического действия комбинации магнитного поля и магнитных наночастиц в научной литературе освещен недостаточно. В работе [2] авторы указывают, что инкубация клеток с магнитными наночастицами в присутствии постоянного магнитного поля снижает жизнеспособность и метаболическую активность клеток. В настоящей работе рассматривается влияние постоянного магнитного поля на функциональные свойства клеток, которые уже прошли процедуру магнитной модификации. Возможные цитотоксические эффекты комбинированного действия магнитного поля и магнитных наночастиц могут найти своё применение в тех областях медицины, где требуется регулировать жизнеспособность магнитомаркированных клеток.

Цель работы – исследовать влияние постоянного магнитного поля на жизнеспособность и рост магнитомаркированных и нативных дрожжевых клеток. Для магнитной модификации клеток использовались магнитные наночастицы магнетита (МНЧ), стабилизированные гидроксидом тетраметиламонния [3]. Магнитная модификация клеток проводилась по методике, описанной в работе [4]. Оценка жизнеспособности проводилась с помощью метода прижизненного окрашивания и теста «силы подкисления» [5]. Рост клеток отслеживался с помощью счетного метода. Магнитные свойства клеток исследовались магнитофоретическим методом и с помощью весов Фарадея. Для оценки влияния постоянного магнитного поля использовалась магнитная система с магнитной индукцией $B = 0,2$ Тл.

В результате магнитной маркировки с разной внеклеточной концентрацией МНЧ в среде культивирования были получены магнитомаркированные дрожжевые клетки с различной магнитной восприимчивостью. Оценка магнитной восприимчивости показала, что парамагнитные свойства клеток увеличивались пропорционально внеклеточной концентрации МНЧ в среде и сохранялись на протяжении исследованного интервала развития популяций, как для магнитомаркированных популяций, развивающихся в магнитном поле, так и для магнитомаркированных популяций, развивающихся без поля. Установлено, что

данная величина магнитного поля имеет цитотоксическое действие на магнитомаркированные клетки. В частности, удельная скорость роста магнитомаркированных дрожжевых клеток, растущих в магнитном поле, снижается в 3 раза по сравнению с нативными и магнитомодифицированными клетками, растущими без магнитного поля. Такой эффект наблюдается в области малых и средних концентраций магнитных наночастиц на клетках. В области же высокой концентрации магнетита рост клеток одинаково подавляется как под действием магнитного поля, так и без него. Кроме изменения в удельной скорости роста, также наблюдается существенное снижение жизнеспособности магнитомаркированных дрожжевых клеток в процессе роста в магнитном поле. Величина изменения жизнеспособности в таких образцах в 2 раза больше, чем в магнитомаркированных клетках, развивающихся без магнитного поля во всем диапазоне концентраций магнитных наночастиц на клетках. При этом стоит отметить, что подобные эффекты не обнаруживаются на нативных дрожжевых клетках: их рост и жизнеспособность не зависят от приложения магнитного поля данной величины в процессе роста популяции.

1. E.A. Naumenko, M.R. Dзамукова, Rawil F. Fakhrullin. «Magnetically Functionalized Cells: Fabrication, Characterization, and Biomedical Applications» Chapter 2 in Book «Implantable Bioelectronics» – Wiley-VCH, 2014, pp.7-26.
2. Ji Eun Bae, Man Il Huh, Byung Kyu Ryu and all. The effect of static magnetic fields on the aggregation and cytotoxicity of magnetic nanoparticles // Biomaterials, 2011, vol.32, pp.9401-9414.
3. Massart R. Preparation of aqueous magnetic liquids in alkaline and acidic media // Trans. Magn., 1981, vol. 17, pp. 1247-1249
4. Беспалова С.В., Кладько Д.В., Легенький Ю.А. Влияние постоянного магнитного поля на процесс магнитной модификации *Saccharomyces cerevisiae* // I Всероссийская конференция с международным участием «Физика и экология ЭМИ», п.Агой – 2017 – Научные труды конференции – т. 1 – стр.3-4.
5. Sigler K. Acidification Power Test and Similar Methods for Assessment and Prediction of Fermentation Activity of Industrial Microorganisms // Kvasny prumysl, 2013, №59, pp.204-208.

УПРАВЛЕНИЕ СИНТЕЗОМ АТФ С ПОМОЩЬЮ СЛАБЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ И МАГНИТНЫХ ИЗОТОПОВ ²⁵Mg И ⁶⁷Zn IN VIVO

CONTROL OF ATP SYNTHESIS BY WEAK MAGNETIC FIELDS AND MAGNETIC ISOTOPES ²⁵Mg AND ⁶⁷Zn IN VIVO

Летуна У.Г.

Оренбургский государственный университет, Оренбург, E-mail: shevulyana@yandex.ru

АТФ является основной макроэргической молекулой в живых организмах. Энергия, выделяемая при её расщеплении, используется во многих биологических процессах, включая различные ферментативные реакции, в том числе синтез ДНК и РНК. Изменение АТФ может индуцировать иммунный клеточный ответ, стимулируя синтез цитокинов, что говорит о более широком значении молекул АТФ для живых организмов, чем просто энергоноситель [1]. Возможность контроля внутриклеточной концентрации АТФ и процесса его синтеза является важной проблемой фундаментальной биологии и медицины.

Один из вероятных способов влияния на пул АТФ - это воздействие внешнего магнитного поля или магнитных изотопов химических элементов. В экспериментах *in vitro* на выделенных ферментах и митохондриях показано, что магнитные изотопы магния ²⁵Mg, цинка ⁶⁷Zn и кальция ⁴³Ca изменяют выход АТФ по сравнению с немагнитными ядрами [2]. Константа скорости синтеза АТФ креатинкиназой увеличивается при включении внешнего магнитного поля только для фермента, обогащенного магнитным изотопом магния ²⁵Mg. Обогащение фермента немагнитным изотопом магния ²⁴Mg не изменяет кинетических характеристик фермента во внешнем магнитном поле [3]. Механизм влияния магнитного поля и магнитных моментов атомных ядер связан с изменением спинового состояния (синглет-триплетная конверсия) ион-радикальной пары, которая образуется в активном сайте фермента [2-4]. Это приводит к изменению вероятностей прямой и обратной ферментативной реакции и выхода продукта.

В данной работе выполнен поиск экспериментальных подтверждений совместного влияния слабых магнитных полей (от 0,8 до 100 мТл) и магнитных ядерных моментов изотопов магния ²⁵Mg и цинка ⁶⁷Zn на внутриклеточную концентрацию АТФ *in vivo*. Диапазон магнитных полей выбран в соответствии с предложенной теорией ферментативной магниточувствительности живых организмов [4]. В качестве объекта исследования использовались грамотрицательные бактерии *E. coli*. Внутриклеточная концентрация АТФ измерялась с помощью биOLUMИнесцентного метода на люминометре «Люм-1» (Люмтек, Россия).

Проведенные теоретические расчёты и экспериментальные исследования *in vivo* показали, что ферментативный синтез АТФ – спин-селективный магниточувствительный процесс. Им можно управлять с помощью подбора диапазона магнитных полей и искусственного обогащения магнитными изотопами

химических элементов. При выборе изотопов необходимо руководствоваться константой сверхтонкого взаимодействия магнитного ядра и участием этого элемента в ферментативной реакции с обязательным переносом электрона и образованием ион-радикальной пары.

Пул АТФ в бактериях *Escherichia coli* зависит от величины внешнего постоянного магнитного поля и наличия магнитного ядерного момента у изотопа магния или цинка, добавленного в питательную среду. Совместное влияние внешнего постоянного магнитного поля 70-95 мТл и магнитного изотопа магния ^{25}Mg на бактерии *E. coli* приводит к значительному повышению внутриклеточной концентрации АТФ. Увеличивается колониеобразующая способность таких микроорганизмов и меняется их внутриклеточный элементный состав. Влияние слабых магнитных полей 0-10 мТл стимулирует рост бактериальных клеток, что приводит к изменению внутриклеточной концентрации АТФ. Эффекты в этом диапазоне были предсказаны теорией ферментативной магниточувствительности и обусловлены наличием природных магнитных изотопов. Все наблюдаемые эффекты внешнего магнитного поля и магнитного изотопа магния ^{25}Mg или цинка ^{67}Zn согласуются с теорией магниточувствительности живых организмов и подтверждают наши предыдущие результаты, полученные при раннем изучении магнитного изотопа магния.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект № 16-33-60021 и Правительства Оренбургской области.

1. Coutinho-Silva R., Ojcius D.M. Role of extracellular nucleotides in the immune response against intracellular bacteria and protozoan parasites // *Microbes Infect*, 2012, Vol. 14, P. 1271–1277.
2. Buchachenko A.L. *Magneto-Biology and Medicine*. - New York: Nova Science Publishers, 2014, p 236.
3. Buchachenko A.L., Kouznetsov D.A. Magnetic field affects enzymatic ATP synthesis // *J Amer Chem Soc*, 2008, Vol. 130, P. 12868–12870.
4. Letuta U.G., Berdinskiy V.L., Udagawa C., Tanimoto Y. Enzymatic mechanisms of biological magnetic sensitivity // *Bioelectromagnetics*, 2017, Vol. 38(7), P. 511-521.

ВОЗДЕЙСТВИЕ ВЕРТИКАЛЬНОЙ СОСТАВЛЯЮЩЕЙ СВЕРХСЛАБОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НИЗКОЙ ЧАСТОТЫ НА КУЛЬТУРЫ БАКТЕРИЙ

Н.П.Лехтман², А.И.Цыганков¹, Л.Н. Галль¹, В.Е.Холмогоров²

¹ИАП РАН, СПб, Россия; ²СПбГУ, Россия

Электронная почта ipm@bk.ru

Экспериментальные данные, в значительном количестве полученные к настоящему времени, надежно подтверждают действие очень слабых магнитных полей на биологические организмы, находящиеся в естественных (водных) условиях, т.е. в водной среде [1]. Нами было изучено действие слабого ($5 \cdot 10^{-6}$ Тл) электромагнитного поля с частотой 4 Гц на способность к размножению бактерий *E.coli* и *S.aureus* в воде и в физиологическом растворе при 25°C путем их обработки в низкоинтенсивном низкочастотном электромагнитном поле. Обработке подвергались: вода, или физиологический раствор, или непосредственно суспензия бактерий в воде. Обработка проводилась в специально разработанной для этого установке с катушкой соленоида. Катушка соленоида высотой 200 мм с внутренним отверстием диаметром 20 мм запитывалась от генератора синусоидального напряжения с частотой 8 Гц. В цепь питания соленоида введен диод-выпрямитель с переключателем, позволяющий подавать на катушку положительный или отрицательный полупериод тока. Частота выпрямленного сигнала составляла 4Гц. Соленоид был установлен таким образом, что его ось была близка Z-оси геомагнитного поля. Пробирка с обрабатываемым образцом (10 мл) размещалась на подставке в отверстии соленоида таким образом, чтобы образец находился в его средней части в области наиболее однородного магнитного поля.

Культуру бактерий в стандартном разведении в 10^{10} раз разделяли на контроль и культуру для последующей обработки в электромагнитном поле соленоида, которую вносили на 4 часа в соленоид. Для измерений из контроля и из исследуемых образцов через 5, 60 и 180 мин. брали отдельными стерильными мерными пипетками пробы по 0,1 мл и наносили каждую в 3 чашки Петри, содержащих плотную питательную среду, с последующим равномерным распределением по поверхности стерильным шпательем. Результаты опытов определяли путём подсчёта колоний бактерий в чашках Петри после их инкубации при 37°C в течение 24 часов.

Результаты исследований показали, что направленности способности бактериальных культур к размножению в результате обработки суспензии бактерий *E.coli*, и *S.aureus* или растворителя – воды в низкочастотном (4 Гц) низкоинтенсивном выпрямленном электромагнитном поле $\sim 5 \cdot 10^{-6}$ Тл изменяется при различном направлении вектора действующего на образец магнитного поля по отношению к Z-оси геомагнитного поля. Достоверно установлено, что при увеличении суммарной Z-компоненты поля, действующего на бактерии, рост колоний бактерий ускоряется, а при уменьшении – ингибируется.

Также установлено, что эффекты увеличения роста колоний бактерий или их ингибирования не зависят от того, какая именно компонента образца подвергалась обработке в поле: суспензия бактерий или среда-растворитель. Характер эффекта во всех случаях был одинаковым, несколько изменялась лишь его интенсивность. Вновь открытым эффектом явилось дистантное действие обработанного физиологического раствора, когда пробирка с физиологическим раствором, обработанным в течение 4 часов в соленоиде магнитным полем (4 Гц, $5 \cdot 10^{-6}$ Тл), устанавливалась рядом на расстоянии 5 мм от пробирки, содержащей суспензию бактерий *E.coli*. После 5 мин. совместного нахождения наблюдались эффекты, аналогичные прямому действию магнитного поля. Наблюдаемая зависимость роста или ингибирования колоний хорошо коррелируют с результатами о влиянии Z-компоненты геомагнитного поля на живые организмы, представленными в [2].

1. Фесенко Е.Е., Новиков В.В., Кувичкин В.В., Яблокова Е.В. 2000. Биофизика, т.45 с.232
2. Лушнов М.С., Головина Е.Г., Ступишина О.М. // Биосфера, 2010, том 2, №1, с.26-30.

ДЕЙСТВИЕ СВЕРХСЛАБОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НИЗКОЙ ЧАСТОТЫ НА КУЛЬТУРЫ БАКТЕРИЙ *E.COLI*

ACTION OF SUPERWEAK MAGNETIC FIELD OF LOW FREQUENCY ON *E.COLI* BACTERIA CULTURES

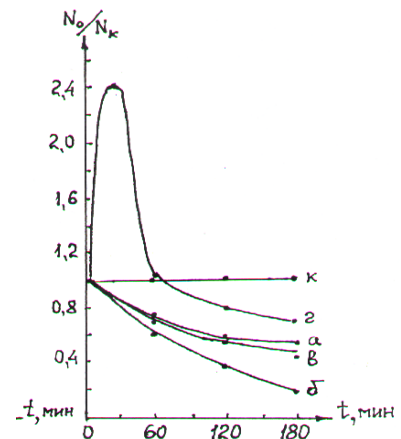
Н.П. Лехтлаан, А.И.Цыганков, В.Е.Холмогоров

С-ПбГУ, 198504 С-Петербург, Петродворец, Ульяновская 1.

К настоящему времени получено достаточное количество экспериментальных данных, подтверждающих действие очень слабых полей на биосистемы в виде водных растворов. Они свидетельствуют, что структурно-динамические перестройки в таких растворах, вызванные очень слабым низкочастотным магнитным полем, длительное время сохраняются после воздействия, но исчезают при нагревании до 100°C , после чего и вода-растворитель приобретает первоначальные свойства[1].

Нами было изучено действие слабого ($5 \cdot 10^{-6}$ Тл) электромагнитного поля с частотой 4 Гц на способность к размножению бактерий *E.coli* (штамм М-17) в физиологическом растворе при 25°C по следующей методике. Культуру бактерий в стандартном разведении в 10^{10} раз разделяли на контроль (К) и культуру для последующей обработки (О) в электромагнитном поле соленоида. Эту культуру вносили на 4 часа в соленоид, обеспечивающий магнитное поле $5 \cdot 10^{-6}$ Тл. Для измерений из контроля (К) и из исследуемых образцов (О) через 5, 60 и 180 мин брали отдельными стерильными мерными пипетками пробы по 0,1 мл и наносили каждую в 3 чашки Петри, содержащих плотную питательную среду, с последующим равномерным распределением по поверхности стерильным шпателем. Результаты опытов определяли путём подсчёта колоний бактерий в чашках Петри после их инкубации при 37°C в течение 24 часов. Подсчёт колоний производили с помощью прибора СКМ-1 СПУ (Россия).

Результаты представлены на рисунке. По оси ординат - значения N_t/N_k (число колоний бактерий в культурах, обработанных магнитным полем, к контролю колоний в фиксированное время t). Кривые на рисунке относятся к разным условиям опыта: кривая «а» – обработка суспензии бактерий в магнитном поле; «б» - внесение малого количества суспензии бактерий в физиологический раствор, обработанный в магнитном поле; кривая «в» -внесение малого количества обработанного физиологического раствора в необработанную культуру бактерий). Кривая «г» соответствует вновь открытому явлению – дистантному влиянию обработанного физиологического раствора. В этом случае пробирка с физиологическим раствором, обработанным в течение 4 часов в соленоиде магнитным полем (4 Гц, $5 \cdot 10^{-6}$ Тл), устанавливалась рядом на расстоянии 5 мм с пробиркой, содержащей суспензию бактерий *E.coli*. После 5 мин их совместного нахождения друг с другом по описанной выше методике производился засев колоний бактерий через 5, 30, 60 и 180 мин. Затем производили подсчёт колоний после их инкубации при 37°C в течение 24 часов. При дистантном воздействии во всех опытах отмечается инициирование роста колоний в начальный период времени, которое далее также сменяется их ингибированием. Описанные результаты с бактериями достоверно подтверждены в серии опытов, проводимых в течение 3 месяцев, и хорошо коррелируют с результатами, наблюдаемыми в ряде опытов с растениями, инфузориями и рыбами. [2,3].



1. Фесенко Е.Е., Новиков В.В., Кувичкин В.В., Яблокова Е.В. 2000. Биофизика, т.45 с.232
2. Новицкий Ю.И., Новицкая Г.В., Сердюков Ю.А. Физиология растений, 2015, т.62, с.404
3. Бурлаков А.Б., Бурлакова О.В., Голиченков В.А. Онтогенез, 2000, т.31, №5, с.340-347.

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО ОКСИДА АЗОТА НА КРИСТАЛЛОГЕННЫЕ СВОЙСТВА И СОСТОЯНИЕ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНЫХ СИСТЕМ КРОВИ IN VITRO

THE INFLUENCE OF EXOGENOUS NITRIC OXIDE ON CRYSTALLOGENIC PROPERTIES AND STATE OF PRO- AND ANTIOXIDANT SYSTEMS OF THE BLOOD IN VITRO

Мартусевич А.К., Голыгина Е.С., Ковалева Л.К.¹, Шумаев К.Б.², Соловьева А.Г.

Университетская клиника ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Нижний Новгород

¹ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Краснодар

²ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Цель: оценить влияние экзогенного оксида азота на окислительный метаболизм и кристаллогенные свойства крови in vitro.

Материалы и методы исследования. Материалом исследования служили образцы крови 15 здоровых людей. Изучался характер реакции крови на воздействие различных концентраций оксида азота. Для проведения эксперимента каждый образец крови разделяли на 5 порций (интактную, на которую не оказывали воздействий, и 4 опытных, подвергавшихся обработке). Объем каждой порции составлял 5 мл. Для обработки производили прямой барботаж четырех образцов крови газообразным оксидом азота, генерируемым аппаратом «Плазон» при стандартной мощности (концентрация NO – 800 ppm), а также экспериментальным аппаратом (“NO-генератор”) для синтеза оксида азота, созданным в Российском федеральном ядерном центре. Используемые концентрации составляли 20, 50 и 100 ppm. Время барботирования - 3 мин., экспозиция после воздействия – 5 мин. В образцах изучали кристаллогенные свойства плазмы крови (кристаллоскопия), параметры окислительного метаболизма (биохемилюминесцентное определение интенсивности липопероксидации, общей антиоксидантной активности и активности эритроцитарной супероксиддисмутазы).

Результаты. Установлено, что влияние NO на интенсивность свободнорадикальных процессов в плазме крови зависит от концентрации NO в газовом потоке. Интенсивность процессов липопероксидации в плазме крови при ее обработке газовым потоком от аппарата «Плазон» (концентрация NO – 800 ppm) существенно увеличивается (на 46%; $p < 0,05$ относительно интактного образца). При использовании аппарата для генерации NO РФЯЦ она дозозависимо возрастает, но даже при использовании самой высокой концентрации NO (100 ppm) не превышает 15% ($p < 0,05$) относительно контрольного образца. Минимальная концентрация NO (20 ppm) не вызывает статистически значимого нарастания интенсивности ПОЛ (+6,1%; $p > 0,05$). Эта динамика прослеживалась и для общей антиоксидантной активности плазмы крови. При обработке биожидкости газовым потоком от аппарата «Плазон» (концентрация NO – 800 ppm) рассматриваемый показатель уменьшается на 31% относительно контрольного образца ($p < 0,05$). Наблюдается состояние окислительного стресса, т.е. снижение АОА на фоне увеличения липопероксидации. При обработке крови газовым потоком от экспериментального аппарата для генерации NO, разработанного в РФЯЦ наблюдается дозозависимое снижение АОА: на 18% в случае применения концентрации NO 100 ppm, на 12% и 3% при использовании 50 и 20 ppm соответственно.

Кроме показателей, характеризующих состояние процессов липопероксидации, проведена оценка активности супероксиддисмутазы, утилизирующая супероксидный анион-радикал. При обработке крови NO-содержащим газовым потоком от «Плазона» (концентрация NO – 800 ppm) происходит угнетение активности супероксиддисмутазы относительно контрольного образца на 39% ($p < 0,05$). При использовании в качестве газовой фазы потока от экспериментального NO-генератора (концентрация NO – 100 ppm и 50 ppm) активность фермента уменьшается по сравнению с контрольным образцом ($p < 0,05$) лишь на 24% и на 19% соответственно. Наконец, обработка биологической жидкости наиболее низкой концентрацией газообразного оксида азота (20 ppm) не оказывала значимого влияния на активность супероксиддисмутазы эритроцитов, что косвенно свидетельствует о физиологичности действия подобного режима барботажа.

Описание дегидратированных образцов плазмы крови производили морфологически. Для контрольного образца биожидкости был характерен типичный рисунок фации с умеренными признаками кристаллизации в центральной зоне и многочисленными регулярными аркообразными разломами в краевой зоне. Наиболее низкая из использованных концентраций газообразного оксида азота (20 ppm) способствовала умеренной оптимизации кристаллоскопической картины биосубстрата. Нарастание действующей концентрации оксида азота до 50 ppm обуславливает дальнейшую трансформацию результата дегидратационной структуризации сыворотки крови. В этих образцах наблюдали умеренное обеднение кристаллического компонента фации с одновременным сужением краевой зоны микропрепарата. Использование самой высокой концентрации NO от экспериментального NO-генератора РФЯЦ (100 ppm) способствовала оптимизации сети разломов картины (с формированием дугообразных разломов), стимулировала непосредственное кристаллообразование в центральной и промежуточной зонах фации, а также обеспечивала относительную неоднородность текстуры образца. Морфологическое описание особенностей структуризации сыворотки крови позволило установить, что обработка крови высокими дозами NO (800 ppm) приводит к образованию в краевой зоне микропрепарата рельефной полосы, в которой находятся нитрозилированные белки.

Вывод. Выявлено, что между кристаллоскопическими параметрами и показателями окислительного метаболизма крови существуют многочисленные корреляционные зависимости.

Исследование частично поддержано РФФИ (грант 19-015-00444).

МОДУЛЯЦИЯ ПАРАМЕТРОВ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ТКАНИ ПОД ВЛИЯНИЕМ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И АЗОТА

MODULATION OF PARAMETERS OF BIOLOGICAL TISSUE UNDER THE INFLUENCE OF REACTIVE OXYGEN SPECIES AND NITRIC OXIDE

Мартусевич А.К., Краснова С.Ю., Голыгина Е.С., Соловьева А.Г., Мартусевич А.А.

Университетская клиника ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Нижний Новгород

Современная физиотерапия располагает широким ассортиментом лечебных факторов. Так, достижением последних десятилетий стала озонотерапия, нашедшая применение в различных областях медицины [1]. Нашими предшествующими работами и публикациями других исследователей было показано, что не только озон, но и иные экзогенные формы кислорода и азота могут обладать позитивными эффектами в отношении биосистем [1-4]. В частности, для образцов крови были продемонстрированы оптимизирующиеся сдвиги для низких концентраций монооксида азота (NO; 20-100 ppm) и газового потока от генератора синглетного кислорода [3, 4]. Установлено, что в определенных режимах указанные воздействия повышают антиоксидантный потенциал плазмы крови и умеренно стимулируют активность супероксиддисмутазы. Также выявлено позитивное действие фактора на параметры энергетического метаболизма, однако все указанные результаты относились к обработке крови *in vitro*. Следует отметить, что данные о характере модификации параметров тканей в отечественной и зарубежной литературе отсутствуют.

Цель: оценить действие активных форм кислорода и оксида азота на фрагмент рубцовой ткани *ex vivo*.

Материалы и методы исследования. Для проведения эксперимента была собрана специальная установка, позволяющая создавать газовое окружение вокруг фрагмента ткани под стеклянным куполом, в который нагнетали газовый поток от генератора синглетного кислорода или NO-генератора. Продолжительность периода обработки ткани составляла для всех факторов 5 минут. Концентрация NO в газовом потоке составляла 20 ppm, синглетный кислород создавали в режиме 100% мощности соответствующего аппарата. Исследование проводили с использованием фрагментов рубцовой ткани (n=10), удаленных интраоперационно у пациентов с контрактурой Дюпюитрена. Каждый фрагмент делили на 3 равных части, с первой из которых не проводили никаких манипуляций, вторую обрабатывали синглетным кислородом, третью - оксидом азота. Далее каждую порцию ткани гомогенизировали с применением аппарата "UltraTurrax" по стандартной методике. В полученных гомогенатах методом Fe- индуцированной биохимиллюминесценции изучали параметры окислительного метаболизма: интенсивность процессов свободнорадикального окисления (по уровню максимальной фотовспышки, I_{max}) и общую антиоксидантную активность (как величину, обратную светосумме ХЛ за 30 сек, 1/S). Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica 6.1 for Windows.

Результаты. Установлено, что обработка фрагмента рубцовой ткани источниками радикалов на протяжении 5 мин приводит к существенным сдвигам состояния свободнорадикальных процессов. Так, по активности последних действие рассматриваемых факторов было противоположным. Обработка фрагментов ткани синглетным кислородом обеспечивала умеренную стимуляцию радикальных реакций (1,21 раза; p<0,001 по сравнению с контрольным образцом, с которым не производили никаких манипуляций). Напротив, при использовании малой концентрации монооксида азота (20 ppm) обнаружено снижение изучаемого параметра на 12,4% (p<0,05 относительно интактного фрагмента ткани). По влиянию на общую антиоксидантную активность биоматериала оба фактора демонстрируют тенденцию, заключающуюся в нарастании значения параметра.

Установлено, что оксид азота в большей степени способствует увеличению антиоксидантного потенциала биологического образца (на 28,9%; p<0,05 по сравнению с интактным фрагментом ткани). Вкупе со снижением интенсивности свободнорадикальных процессов это указывает на выраженное антиоксидантное действие оксида азота. Воздействие синглетного кислорода также приводит к повышению антиоксидантной активности гомогенатов ткани, но эти сдвиги выражены в меньшей степени (+15,7%; p<0,05 относительно фрагмента биоматериала, на который не осуществляли воздействий). В этом случае можно предполагать сбалансированность влияния фактора на состояние про- и антиоксидантных систем биообразца.

Вывод. Выполненный эксперимент позволил установить, что обработка фрагментов рубцовой ткани газовым потоком от генераторов синглетного кислорода и монооксида азота приводит к изменению диэлектрических свойств ткани и интенсивности свободнорадикальных процессов в ней, причем характер ответа специфичен относительно природы воздействующего фактора.

1. Перетягин С.П., Стручков А.А., Мартусевич А.К., Костина О.В., Лузан А.С. Применение озона как средства детоксикации в раннем периоде ожоговой болезни // Скорая медицинская помощь. 2011. Т. 12, №3. С. 39-43.
2. Заворотная Р.М. // Украинский ревматологический журнал. 2002. №1. С. 35-37.
3. Мартусевич А.А., Перетягин С.П., Мартусевич А.К. Молекулярные и клеточные механизмы действия синглетного кислорода на биосистемы // Современные технологии в медицине. 2012. №2. С. 128-134.
4. Vanin A.F. Dinitrosyl-iron complexes with thiolate ligands: physico-chemistry, biochemistry and physiology // Nitric Oxide Biol. Chem. 2009. Vol. 21. P. 136-149.

РОЛЬ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КЛЕТОЧНЫХ СТЕНОК КОРНЯ В ПОГЛОЩЕНИИ МЕДИ И НИКЕЛЯ КОРНЯМИ РАСТЕНИЙ

THE ROLE OF ROOT CELL WALL PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES IN COPPER AND NICKEL UPTAKE OF PLANT ROOTS

Мейчик Н.Р., Кушунина М.А., Николаева Ю.И.

Биологический факультет МГУ, Москва, E-mail: meychik@mail.ru

Загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами (ТМ) является серьезной экологической проблемой. Отравление ими оказывает крайне негативное воздействие на все живые организмы, нарушая процессы их жизнедеятельности. Ввиду неподвижного образа жизни растениям необходимо приспосабливаться к повышенному содержанию ТМ в среде. Внутриклеточные защитные механизмы, реализуемые в ответ на металл-стресс широко изучаются и обсуждаются научным сообществом, и освещены в достаточном количестве обзоров. В то же время, проблема детоксикации Cu и Ni в апопласте изучена недостаточно, хотя клеточная стенка клеток корня первой вступает в контакт с ионами ТМ почвенного раствора, и является первым барьером на пути проникновения металлов в протопласт. Наличие у КС значительной способности к связыванию ионов ТМ может быть движущей силой их поступления в корень из почвенного раствора и создавать конкуренцию поглощению симпластом, особенно при низких концентрациях металла. Однако прямых определений сорбционной способности клеточной стенки по отношению к ионам Cu и Ni в зависимости от pH, вида растения и в связи с количеством функциональных групп, способных участвовать в связывании этих металлов, проведено не было. Цель работы состояла в определении ионообменной способности клеточных стенок, изолированных из корней растений разных видов, по ионам меди и никеля при разных pH и оценить роль экстраклеточного матрикса в поглощении ионов данных тяжелых металлов растениями маша (*Vigna radiata* (L.) R.Wilczek) и пшеницы (*Triticum aestivum* L.) при изменении концентрации металла в среде.

Сравнительный анализ данных о Cu(Ni)-связывающей способности клеточных стенок корней растений разных видов и о содержании в них карбоксильных групп полигалактуроновой кислоты показал, что при pH 3-4 Cu(Ni) это свойство изменяется в том же ряду, что и содержание карбоксильных групп полигалактуроновой кислоты. Кроме того, установлено, что эти два показателя, характеризующие адсорбционные свойства клеточных стенок, являются взаимозависимыми параметрами, что позволяет по изменению Cu(Ni)-связывающей способности клеточных стенок растений, находившихся под воздействием избыточных концентраций этих металлов, по сравнению с контрольными, делать заключение об изменении состава пектинов в них, не проводя прямого измерения содержания карбоксильных групп полигалактуроновой кислоты. Принято было считать, что клеточные стенки могут связывать ионы тяжелых металлов, при этом это свойство зависит от количества таких функциональных групп в оболочке, как -COOH, -OH and -SH. Наши результаты исследования о Cu(Ni)-связывающей способности клеточных стенок позволили впервые установить, что (1) гидроксильные группы не участвуют в связывании Me^{2+} ; (2) наряду с карбоксильными группами полигалактуроновой кислоты в связывании Me^{2+} принимают участие карбоксильные группы гидроксикоричных кислот; (3) аминокислотные остатки участвуют в связывании Me^{2+} посредством образования координационных связей с Me^{2+} . Данные настоящей работы об изменении Cu(Ni)-связывающей способности в зависимости от pH подтверждают полученные ранее результаты о существовании в клеточных стенках корней растений второго типа карбоксильных групп, принадлежащих гидроксикоричным кислотам и принимающих участие в ионообменных реакциях при физиологических значениях pH в апопласте.

Сравнительный анализ данных об адсорбирующей способности изолированных клеточных стенок и поглощающей способности корней транспирирующих растений дает нам основания полагать, что основной стратегией защиты растений маша от повышенных концентраций меди и никеля в окружающей среде является предотвращение поступления ионов этого металла в клетку путем его депонирования в клеточные стенки корня. При нетоксичной для растений маша концентрации Cu 10 мкМ (т.к. имеет место прирост сухой массы корней) происходила модификация состава полимеров КС, направленная на ограничение накопления Cu в корнях. Несмотря на то, что всего лишь около 15% карбоксильных групп ПГК занято ионами Cu, в КС маша происходит изменение в составе ионообменных групп, направленное на снижение содержание токсичного металла в корнях.

У пшеницы эффективность клеточной стенки, как барьера для проникновения Cu^{2+} и Ni^{2+} в цитоплазму клеток корня, зависела от концентрации металла в растворе. При 10 и 50 мкМ Cu^{2+} и Ni^{2+} в среде связывание металлов клеточными стенками корней являлось основным механизмом защиты клеток. При увеличении концентрации Me^{2+} до 100 мкМ только 60% Cu^{2+} и 76% Ni^{2+} , поступивших в корни пшеницы, было связано функциональными группами клеточной стенки. Полученные результаты отчетливо свидетельствуют, что при этой концентрации меди и никеля в корнях пшеницы одновременно функционируют как внеклеточный, так и внутриклеточный механизмы накопления меди и никеля в корнях. Так как при 100 мкМ Cu наблюдалось снижение массы корней по сравнению с контролем, можно заключить, что накопление меди в симпласте токсично для растений пшеницы, в отличие от иммобилизации меди в апопласте корней при 10 и 50 мкМ Cu^{2+} в среде, которая не приводила к снижению биомассы корней. Таким образом, связывание полимерами клеточных стенок корней ионов никеля и меди при их повышенной концентрации в среде является важным процессом, определяющим распределение этих металлов в растениях.

ВЫЯВЛЕНИЕ ПРОТЕОМНЫМИ МЕТОДАМИ ГЕНА ГЛУТАМИНСИНТЕТАЗЫ E. COLI, ЧУВСТВИТЕЛЬНОГО К ТЕРАГЕРЦОВОМУ ИЗЛУЧЕНИЮ

PROTEOMIC EVIDENCE OF GLUTAMINE SYNTHETASE GENE INDUCTION UNDER TERAHERTZ IRRADIATION

Мещерякова И.А.¹, Банникова С.В.¹, Горячкова Т.Н.¹, Демидова Е.В.¹, Демидов Е.А.¹, Розанов А.С.¹, Полик В.М.², Пельтек С.Е.¹

¹ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт ядерной физики им. Г.И. Будкера Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск

Терагерцовое излучение (ТГц) относится к неионизирующему типу, его частоты в электромагнитном спектре располагаются между микроволновым и инфракрасным диапазонами. В обычной среде обитания организмов данное излучение практически отсутствует, но в последнее время на его основе разрабатывается много приборов в силу теоретически обоснованной биобезопасности. Однако, соответствие частот волн ТГц излучения частотам колебаний водородных связей, формирующих структуры высших порядков макромолекул, вызывает интерес к изучению взаимодействия этого излучения и биологических объектов.

Анализ изменений белковой экспрессии в культуре *E. coli*, облученной ТГц излучением, выявил набор белков, на основе гена одного из которых, *glnA*, был построен геносенсор *E.coli/pGlnA-GFP*. Активация геносенсора в ответ на облучение несущих его клеток ТГц излучением согласуется с увеличением количества глутаминсинтетазы, регистрируемой протеомными методами в облученных клетках.

Изменение белковой экспрессии определяли, проводя двумерный электрофорез белка облученных и контрольных клеток с последующей масс-спектрометрической идентификацией фракций, количество белка в которых различалось более чем в полтора раза. Было идентифицировано 5 белков, для конструкции геносенсора был выбран ген белка, количество которого увеличивалось максимально в ответ на облучение - *glnA*. Геносенсор представляет собой плазмиду, в которой под контролем промотора гена-сенсора находится ген флуоресцентного белка GFP, свечение которого регистрировали при помощи флуориметра в ответ на облучение культуры клеток. Облучение клеток проведено на специальной станции Новосибирского лазера на свободных электронах при постоянном контроле температуры облучения в пределах $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Работа выполнена при финансовой поддержке бюджетного проекта ФИЦ ИЦиГ СО РАН № 0324-2018-0017 Генетические основы биотехнологий и биоинформатика.

АНАЛИЗ ДИНАМИКИ НЕКОТОРЫХ СТАТИСТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ РЕАКЦИИ ГЕТЕРОГЕННОЙ СИСТЕМЫ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ НА ДЕЙСТВИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

ANALYSIS OF THE DYNAMICS OF SOME STATISTICAL INDICATORS TO ASSESS THE RESPONSE OF A HETEROGENEOUS SYSTEM OF BIOLOGICAL OBJECTS TO THE ACTION OF PHYSICOCHEMICAL FACTORS

А.П. Миронова

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, antoninamironova@mail.ru

Популяция животных как любая гетерогенная система, обладает достаточно широкой изменчивостью морфологических и физиологических признаков, их нормой реакции. В наиболее комфортных условиях (в зоне оптимума) или «зоне экологического покоя» по Б.П. Ушакову обнаруживается наиболее широкий диапазон изменчивости каждого признака [1], Поэтому неудивительно, что первой реакцией на воздействие физико-химических факторов, на их отклонение от зоны оптимума, является сужение диапазона изменчивости исследуемого признака. Это было показано в работах, проводимых под руководством профессора Б.П. Ушакова, по изучению изменения характера проявления признака теплоустойчивости у пойкилотермных животных и их изолированных тканей после акклимации (повышения температуры в пределах толерантной зоны). Индивидуальный анализ реакций в достаточно большой — репрезентативной выборке животных показал следующее. Величина и направление (знак) изменений индивидуальных уровней определяется его исходным значением: у исходно низкоустойчивых наблюдается значительное повышение величины устойчивости, высокоустойчивые несколько снижают ее, у средних же этот показатель практически не меняется. В результате обнаруживается обратная зависимость (отрицательная корреляция) сдвига индивидуального уровня показателя с исходной величиной, что, собственно, и ведет к сужению диапазона изменчивости. Отрицательная корреляция и сужение индивидуальной изменчивости наблюдаются гораздо

раньше, чем повышается средняя величина уровня проявления признака — адаптивной реакции на воздействие. По мнению Б.П. Ушакова в популяциях интактных организмов такой отклик на акклимационное воздействие обусловлен подбором генотипов и запрограммированностью их реакций, направленных на сохранение жизнеспособности биологических объектов в системе. Он осуществляется в пределах, не превышающих адаптивных возможностей системы.

Репрезентативная выборка образцов изолированных тканей (клеток) от разных животных сохраняет тот же подбор генотипов, и, по-видимому, такие же реакции, что и популяция. Поэтому она может служить простой и удобной моделью для изучения влияния как физических, в частности температуры, так и химических агентов разной природы при их непосредственном воздействии на образцы ткани (клетки). Представляло интерес проследить динамику индивидуального уровня признака устойчивости под влиянием нарастающего воздействия температуры и ряда химических факторов.

Основные исследования были проведены на выборках изолированных мышц лягушек и мерцательном эпителии моллюсков. Также, как и в популяции интактных организмов, при незначительном отклонении условий от зоны оптимума (влияние относительно слабого воздействия) наблюдается сужение диапазона изменчивости индивидуальной устойчивости образцов ткани. Сдвиг устойчивости связан с исходным уровнем, определяемым в оптимальных условиях, обратной зависимостью. Оптимумом для изолированных тканей служило нахождение в физиологическом растворе для холоднокровных либо при комнатной температуре, либо при пониженной - температуре содержания животных. Препаровка тканей велась у животных, содержавшихся в стабильных условиях и находившихся на одинаковых стадиях онтогенеза. Поэтому исходные индивидуальные уровни устойчивости образцов ткани практически обусловлены генотипами.

Наблюдаемые в относительно длительном интервале слабого воздействия небольшие изменения диапазона индивидуальной изменчивости, являются недостоверными при их оценке традиционными методами статистики (Стьюдента-Фишера). Однако в этом интервале между сдвигом диапазона изменчивости и значением коэффициента отрицательной корреляции обнаруживается тесная взаимосвязь. Она описывается уравнением линейной регрессии. Такое сопоставление позволяет выявить даже незначительный сдвиг диапазона индивидуальной изменчивости признака в ответ на воздействие. Более того, это свидетельствует о том, что обнаруживаемые изменения индивидуальной устойчивости не являются случайными [2]. Отрицательная корреляция и сужение диапазона индивидуальной изменчивости обнаруживаются гораздо раньше, чем повышается средний уровень показателя. При усилении воздействия до критического наблюдается падение значения коэффициента отрицательной корреляции до нуля или изменение его знака на положительный, в результате чего происходит расширение диапазона индивидуальной изменчивости признака устойчивости. И происходит это гораздо раньше, чем падает средний уровень показателя, что свидетельствует о большей чувствительности коэффициента отрицательной корреляции и индивидуальной изменчивости признака, чем его средний уровень. Следовательно, они могут быть использованы для ранней диагностики дестабилизации системы, утрате ее адаптивных возможностей или, что важно, перехода на новый уровень функционирования. Кроме того, увеличение диапазона индивидуальной изменчивости резистентности клеток является и чувствительным индикатором значимых перестроек в организме. Так, было выявлено увеличение диапазона индивидуальной изменчивости теплоустойчивости мышц лягушек при гормональных перестройках в организме животных в период размножения [3]. Оно также обнаруживается значительно раньше, чем изменяется средний уровень теплоустойчивости мышц — падение в весенний период года.

Представляется, что выявленные закономерности являются закономерностями общего порядка. А увеличение диапазона индивидуальной изменчивости резистентности клеток, как вероятно, и любых других признаков, может служить для ранней диагностики патологии. По нашему мнению, исследование динамики индивидуального уровня реакции клеток и организмов, ее зависимости от исходного уровня, то есть применение системного анализа - «популяционного анализа» по Б.П. Ушакову [1,4] является более конструктивным, чем исследование только одного среднего уровня.

1. Ushakov B.P., Pashkova I.M. Population analysis of individual responses to temperature effects. II. Changes in the rate of development of *Salamandra salamandra* larvae. // J. Thermal. Biol. 1986. V. 11. N. 3. P. 175–180.

2. Миронова А.П. Динамика статистических показателей при тестировании функциональной активности мышц химическим воздействием. Автореф. канд. дисс. СПб. 2003. 25 стр.

3. Миронова А.П. О популяционном анализе реакции биологических объектов на воздействие разных факторов. // Цитология. 2019. Т. 61, № 7 (в печати).

4. Ushakov B.P., Pashkova I.M. Population analysis of individual responses to temperature effects. I. Changes in the heat resistance of muscle tissue and contractile muscle models of *Salamandra salamandra* larvae. // J. Thermal. Biol. 1986. V.11. N. 3. P. 167-173.

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ТКАНЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПОСЛЕ ИШЕМИИ МИОКАРДА И ИХ МОДИФИКАЦИЯ С ПОМОЩЬЮ ШИРОКОПОЛОСНОГО СВЕТА

OXIDATIVE PROCESSES IN BRAIN TISSUES AFTER MYOCARDIUM ISCEMIA AND THEIR MODIFICATION BY WIDE-BAND LIGHT

Монич В.А.¹, Тиунова Н.В., Малиновская С.Л., Борзиков В.В., Соколова К.А., Аникина А.А.

Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород

¹Нижегородский государственный технический университет, Нижний Новгород, E-mail (vamm@list.ru)

Оксидативный стресс возникает во внутренних органах, как следствие патологических процессов, связанных с нарушениями кровообращения. Хрестоматийным фактом является развитие оксидативного стресса при возникновении холестериновых бляшек в коронарной системе сердца и его ключевой роли в процессе развития такой острой патологии, как инфаркт миокарда [1]. Реже обсуждается последовательность нарушения циркуляции крови в других внутренних органах, как следствия нарушения деятельности сердечной мышцы. Проблемой биофизики является исследование механизмов воздействия видимого и инфракрасного света, спектр которых относится к так называемому окну прозрачности кровенаполненных тканей, на внутренние органы после острых нарушений циркуляции крови.

В данной работе изучается влияние ишемии миокарда на окислительную модификацию белков и липидов в тканях миокарда и головного мозга и модификация этих процессов с помощью низкоинтенсивного красного света и ближнего инфракрасного излучения.

Белые беспородные крысы с массой тела 250-250 г были случайным образом разделены на интактную, контрольную группы, и четыре экспериментальные группы по семь животных в каждой. В контрольной и экспериментальных группах моделировалась адреналиновая ишемия миокарда. Животные экспериментальных групп получали облучение проекционной зоны сердца светом красного светодиода, (спектральный центр 650 нм), интенсивность излучения на поверхности тела 5 мВт/см², плотность энергии 0,9 Дж/см², площадь светового воздействия, 2 см². Облучение проводилось один раз в день, в течение семи дней. По такой же схеме облучались животные другой экспериментальной группы ближним инфракрасным светом (спектральный центр 810 нм), В двух других экспериментальных группах производилось транскраниальное воздействие на головной мозг (одна группа облучалась красным светом и одна – ближним инфракрасным светом со спектральными максимумами, указанными выше. Шерсть в областях облучения не сбивалась. Эффекты воздействия оценивались по содержанию продуктов окислительной модификации белков (ОМБ) и содержанию продуктов пероксидации липидов (диеновых, триеновых конъюгатов и оснований Шиффа). Уровень содержания белков изучался спектрофотометрически, на пяти длинах волн, at 356 нм, 363 нм, 370 нм, 430 нм и 530 нм.

Адреналиновая ишемия вызвала многократное увеличение содержания продуктов ОМБ и пероксидации липидов, как в тканях головного мозга, так и сердца. Приведём полученные данные для головного мозга. Средние уровни содержания продуктов ОМБ в тканях головного мозга в интактной группе составляли соответственно указанным выше длинам волн спектрофотометрического исследования, следующие значения: 0.0152, 0.0171, 0.0162, 0.0063, 0.0002 (в единицах поглощения образца гомогената ткани). В контрольной группе ишемия миокарда привела к многократному увеличению содержания продуктов ОМБ (0,0669, 0,0669, 0,0640, 0,0285, 0,0057). Воздействие красным светом привело к снижению содержания продуктов ОМБ (0.0183, 0.0120, 0.0114, 0.0061, 0.0044). Подобный эффект наблюдался при облучении ближним инфракрасным светом (0.0271, 0.0272, 0.0259, 0.0120, 0.0028), а также для содержания продуктов пероксидации липидов.

Низкоинтенсивный свет может оказать фото-химическое воздействие на ткани внутренних органов, предотвратить развитие оксидативного стресса и снизить содержание продуктов окислительной модификации белков и липидов до уровней, близких к интактным образцам.

1. Monich V. et al. Low-power light and isolated rat hearts after ischemia of myocardium // J Photochem Photobiol B. 2011 Vol. 105(1). P:21-24.

2. Monich V.A., et al. Modification in oxidative processes in muscle tissues exposed to laser- and light-emitting diode radiation // Lasers Med Sci. 2018 Jan;33(1). P.159-164.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ УФ-ИНДУЦИРОВАННОГО АПОПТОЗА ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

INVESTIGATION OF THE MECHANISMS OF UV-INDUCED HUMAN LYMPHOCYTE APOPTOSIS

Наквасина М.А.¹, Артюхов В.Г.¹, Радченко М.С.², Токмакова Е.В.¹

¹Воронежский государственный университет, Воронеж, E-mail: nakvasina_ma@mail.ru

²Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж

Изучение механизмов и способов регулирования программированной клеточной смерти иммуноцитов человека — одна из ключевых проблем биофизики клетки, физико-химической биологии и биомедицины.

В этой связи нами исследованы механизмы и пути реализации апоптотической гибели лимфоцитов периферической крови доноров в условиях воздействия УФ-света (240—390 нм) в дозах 151, 1510 и 3020 Дж/м².

Установлено, что УФ-свет во всех дозах индуцирует фрагментацию ДНК после 20 ч инкубации модифицированных лимфоцитов.

Воздействие УФ-излучения (1510 Дж/м²) на лимфоциты с их последующей инкубацией в течение 1 ч при 37 °С вызывает образование агрегатов облученных клеток, тестируемое методом электронной микроскопии.

Обнаружено повышение уровня экспрессии мембранных Fas-рецепторов смерти (CD95) в течение 1-5 ч после воздействия УФ-света во всех использованных дозах на лимфоциты по сравнению с таковым интактных клеток.

Выявлено увеличение по сравнению с контролем функциональной активности иницирующих каспаз-8 и -12 соответственно через 3 ч после УФ-облучения лимфоцитов в дозе 1510 Дж/м² и сразу после их фотомодификации. Обнаружено повышение уровня активности эффекторной каспазы-3 по отношению к таковому для интактных образцов через 8 и 24 ч и 6 и 8 ч соответственно после облучения клеток в дозах 151 и 1510 Дж/м². УФ-модификация лимфоцитов в дозе 3020 Дж/м² и их последующая инкубация в течение 2, 4, 6 и 24 ч индуцировали статистически значимое снижение уровня функциональной активности каспазы-3 по отношению к контрольным образцам.

Повреждения ДНК (однонитевые разрывы) зарегистрированы сразу после УФ-облучения лимфоцитов в дозах 1510 и 3020 Дж/м² (ДНК-кометы типа С1) и достигают максимума через 6 ч после УФ-модификации клеток (ДНК-кометы типов С2 и С3). Через 20 ч после воздействия на лимфоциты УФ-света в дозе 1510 Дж/м² зарегистрировано образование фрагментов ДНК размерами менее 1500 п.н. и ДНК-комет С3-класса, что указывает на межнуклеосомную фрагментацию ДНК, характерную для погибающих клеток. Через 20 ч после облучения лимфоцитов в дозе 151 Дж/м² обнаружены фрагменты ДНК с размерами 6000 п.н. и менее 1500 п.н. Использование метода ДНК-комет в этих условиях позволило выявить кометы класса С2, характерные для предапоптотических клеток (фрагменты ДНК менее 50 т.п.н.). Через 20 ч после воздействия на лимфоциты УФ-света в дозе 3020 Дж/м² обнаружены фрагменты ДНК размером примерно 5000 п.н. и менее 1500 п.н., кометы С3- и С4-классов.

Через 6 ч после воздействия УФ-света (1510 и 3020 Дж/м²) на лимфоциты наблюдалось повышение уровня p53 в исследуемых клетках.

Установлено, что УФ-облучение (1510 Дж/м²) иммуноцитов и последующая инкубация в течение 1 и 2 ч индуцировали существенное повышение внутриклеточного уровня активных форм кислорода по сравнению с контрольными образцами. Выявлены изменения интенсивности флуоресценции «митохондриального» зонда родамина 123 в присутствии УФ-облученных (1510 Дж/м²) лимфоцитов и величин функциональной активности маркерного фермента митохондрий – сукцинатдегидрогеназы.

Обнаружено повышение концентрации свободного кальция в цитозоле лимфоцитов через 1-4 ч после их УФ-модификации в дозе 1510 Дж/м² по сравнению с таковым для интактных клеток.

В ходе проведения проточно-цитометрического анализа лимфоцитов после их УФ-облучения в дозе 1510 Дж/м² выявлены временные характеристики реализации апоптотической гибели клеток. Время — 2–4 ч после фотомодификации клеток, достаточно для осуществления основных событий программированной клеточной смерти, сопровождающихся транслокацией фосфатидилсерина во внешний монослой плазматической мембраны лимфоцитов (большая часть клеток в суспензии находится на ранней стадии апоптоза).

Полученные нами результаты позволили сделать заключение о важной роли рецепторопосредованного (Fas-зависимого) каспазного, митохондриального и ядерного (p53-зависимого пути) механизмов в реализации апоптоза лимфоцитов, индуцированного воздействием УФ-света в дозах 151 и 1510 Дж/м². В случае анализа результатов УФ-облучения лимфоцитов в дозе 3020 Дж/м² можно предположить участие рецепторопосредованного без участия каспазы-3 (с участием каспазы-12), p53-зависимого и каспазозависимого путей апоптотической клеточной смерти. Активные формы кислорода и ионы кальция являются медиаторами УФ-индуцированного апоптоза лимфоцитов.

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОЙ АКТИВАЦИИ НА ДЕГИДРАТАЦИЮ БЕЛКА

EFFECT OF ELECTROCHEMICAL ACTIVATION ON PROTEIN DEHYDRATION

Некрасова Л.П.

ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью»
Минздрава России, 119121, Москва, ул. Погодинская, 10, с.1, e-mail: lanekrasov@gmail.com

При кристаллизации растворов белков наблюдаются процессы самоорганизации и возникновение упорядоченных структур. Под действием различных факторов изменяется гидратация белковых молекул, что может приводить, к изменению их конформации, и как следствие, функциональных свойств, а также к их агрегации. В системе белок – вода при фазовом переходе наблюдается возникновение спиральных структур, синхронизация колебаний в системе и самокопирование [1]. При дегидратации белка в открытой неравновесной системе происходит самоорганизация белка с образованием характерных «ракушечных» структур. В то же время как в закрытой системе дегидратация протекает медленно, характеризуется отсутствием когерентности и приводит к образованию кристаллического белка [2]. Литературные данные о самоорганизации биологических жидкостей свидетельствуют о существовании четких зависимостей между видом наблюдаемых структур и патологическими процессами. При высушивании биологических жидкостей нарушение типичной картины обусловлено изменениями физико-химического состояния этой жидкости при патологии [2].

Под электрохимической активацией (ЭХА) систем понимают процесс перевода растворов в метастабильное состояние, вызванное структурно-энергетическими и электрохимическими изменениями в электрическом поле, в результате которых растворы в течение периода релаксации проявляют аномальные свойства в физико-химических превращениях [3]. В результате ЭХА целый ряд свойств, а именно, pH, электропроводность, окислительно-восстановительный потенциал (ОВП), поверхностное натяжение и др., претерпевают изменения. Вода из катодного пространства имеет щелочную реакцию и отрицательный ОВП, а из анодного – кислую реакцию и высокий положительный ОВП. Полезные свойства активированной воды связывают с отрицательным значением окислительно-восстановительного потенциала. Предпринимались многочисленные попытки исследования влияния ЭХА на живые организмы, однако полученные результаты не позволяют сделать однозначных выводов. Были выявлены как положительные, так и отрицательные эффекты ЭХА на биологические системы. Первичными мишенями действия физико-химических факторов предположительно являются белки. Отмечено влияние ЭХА на флуоресценцию растворов бычьего сывороточного альбумина, на активность пероксидазы из корней хрена и аспартаминотрансферазы [4].

Активацию природной воды проводили в бездиафрагменном электролизере коаксиального типа. Особенностью этого электролизера является то, что вода, активированная в нем, характеризуется крайней неустойчивостью и колебательным режимом релаксации. При некоторых режимах активации, вода, имеющая отрицательный ОВП после активации, по окончании процесса релаксации заканчивающегося спустя 24 часа приобретает аномально высокий положительный потенциал. Исследование влияния электрохимически активированной воды такого типа проводили на курином белке свежих (3-5 дней) куриных яиц. Куриный белок смешивали с активированной природной водой в соотношении 1:1 и 1:5, капли раствора с помощью микродозатора помещали на обезжиренное предметное стекло и оставляли в открытом виде для высыхания. В качестве сравнения использовали такие же образцы, приготовленные на исходной природной воде. Количество образцов в каждой серии составляло 5. После высыхания образцы изучали с помощью микроскопа Nikon Eclipse TS100. При использовании необработанной воды наблюдали стандартную картину дегидратации белка с образованием ракушечных структур. При разбавлении куриного белка электрохимически активированной водой, склонной к высоким значениям ОВП при релаксации наблюдали нарушение процессов самоорганизации белковых молекул, выражающихся в отсутствии ракушечных структур, характерных для биологических жидкостей в норме.

1. Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др. Молекулярная биология клетки в трех томах. М.: Мир, 1993, 539 с.
2. Рапис Е. Белок и жизнь. М.: ЗАО «МИЛТА-ПКП ГИТ», 2002. 256 с.
3. Кирпичников П.А., Бахир В.М., Гамер П.У. и др. // Докл. АН СССР, 1986. Т. 286. № 3. С. 663 -667.
4. Некрасова Л.П. Влияние бесконтактной химической активации на водные растворы некоторых белков // Межд. журн. прикл. и фундамент. иссл., 2015. № 5. С. 452 – 456.

ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ТЕРАГЕРЦОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ С БИОПОЛИМЕРАМИ НА ПРИМЕРЕ БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА
INVESTIGATION OF THE MOLECULAR MECHANISMS OF THE INTERACTION OF TERAHERTZ RADIATION WITH BIOPOLYMERS BY THE EXAMPLE OF BOVINE SERUM ALBUMIN

Немова Е.Ф., Черкасова О.П.

Институт лазерной физики СО РАН, Новосибирск

Влияние терагерцового излучения на биологические полимерные молекулы остается малоизученной областью биофизики. Выявленные к настоящему времени экспериментальные факты пока еще не позволяют достичь понимания молекулярных механизмов взаимодействия терагерцового излучения с биологическими объектами. Удобную модель для исследования таких механизмов представляет собой глобулярный белок – бычий сывороточный альбумин (БСА). Его структура хорошо изучена, а изменения в его реакционной способности, наблюдаемые под действием терагерцового излучения, позволяют выделить структурные фрагменты, ответственные за наблюдаемые эффекты, и таким путем приблизиться к установлению механизмов взаимодействия терагерцового излучения с биополимерами.

Нами было установлено экспериментально, что облучение пленочных образцов БСА в терагерцовой области приводит к увеличению адсорбции кислорода на реакционных центрах БСА. Кроме того, было обнаружено, что терагерцовое излучение вызывает изменение реакционной способности БСА по отношению к важному внутриклеточному мессенджеру – оксиду азота NO. С использованием pH-чувствительной спиновой ловушки было показано, что окисление NO до NO₂ более эффективно идет в присутствии облученного БСА, чем необлученного. Это означает, что степень связывания NO с БСА уменьшается под действием терагерцового излучения. Для того чтобы понять химическую природу таких изменений, было проведено квантовохимическое моделирование взаимодействий кислорода и оксида азота с отдельными функциональными группами и структурными фрагментами БСА.

На уровне отдельных функциональных групп были выявлены участки первичной структуры БСА, обеспечивающие эффективную адсорбцию кислорода (при условии отсутствия стерических затруднений для доступа молекулы O₂ к соответствующим участкам): -SH, -S-S-, =NH, атом азота пирролидинового гетероцикла. Вторичная и третичная структуры взаимозависимы от адсорбции кислорода, поскольку обязаны своим существованием водородным связям, которые участвуют и в адсорбционных взаимодействиях. Для реализации экспериментально обнаруженного уменьшения связывания оксида азота с реакционными центрами БСА под действием терагерцового облучения должен быть облегчен доступ оксида азота к окислительным центрам, на которых адсорбирован кислород. Моделирование показало, что для этого необходим конформационный переход с участием азотсодержащих гетероциклов и тиольных групп.

Для того чтобы понять природу конформационного перехода, вызываемого в молекуле БСА терагерцовым излучением, результаты квантовохимического исследования были дополнены моделированием пространственной структуры путем последовательного «отключения» функциональных групп, участвующих в ее формировании. Это позволило определить группы, вовлеченные в наблюдаемый конформационный переход. Ключевым структурным звеном, обеспечивающим конформационный переход, оказался пролиновый фрагмент. По-видимому, терагерцовое излучение возбуждает вращательные моды в петлях, связанных с пролиновыми звеньями БСА. Для экспериментального подтверждения полученных результатов предлагается подобрать лиганды для селективного связывания функциональных групп в этих петлях и исследовать влияние такого связывания на конформационный переход.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ СЛАБЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ НА ПРОДУКЦИЮ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В КРОВИ И НЕЙТРОФИЛАХ

MOLECULAR MECHANISMS OF ACTION OF WEAK MAGNETIC FIELDS ON THE PRODUCTION OF REACTIVE OXYGEN SPECIES IN THE BLOOD AND NEUTROPHILES

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

Институт биофизики клетки Российской академии наук - обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», г. Пущино, E-mail: docmag@mail.ru

В экспериментах на цельной крови и нейтрофилах методами активированной хемилюминесценции и флуоресцентной спектроскопии нами показано усиление генерации свободных радикалов и других АФК в результате действия комбинированных постоянного и низкочастотного переменного магнитных полей (КМП) с очень слабой переменной составляющей (менее 1 мкТл) [1-4]. В этих работах зарегистрирован праймирующий

эффект (предактирование респираторного взрыва в нейтрофилах) слабых комбинированных постоянного (42 мкТл) и коллинеарного ему низкочастотного переменного (1; 4,4 и 16,5 Гц; 0,86 мкТл) магнитных полей, который проявляется как более выраженное усиление хемилюминесценции суспензии нейтрофилов, после их предварительной обработки КМП, в ответ на введение бактериального пептида N-формил-Met-Leu-Phe или форболового эфира форбол-12-меристат-13-ацетата в присутствии люминола [4].

Показано, что различные химические агенты (этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА), сульфат цинка, этиловый спирт, ротенон) по-разному влияют на предактирование нейтрофилов, развивающуюся при действии слабых КМП [5]. Низкие концентрации (0,05%) ЭДТА меньше снижают интенсивность люминол-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов в ответ на активатор респираторного взрыва - пептид N-формил-Met-Leu-Phe при действии КМП, чем в контроле. Напротив, этиловый спирт (0,45 %) и сульфат цинка (0,1 мМ) в большей степени влияют на этот процесс именно при действии КМП. Ротенон (1 мкМ) оказывает слабое влияние на хемилюминесценцию нейтрофилов, как при действии КМП, так и в контроле. Низкие концентрации хелатора внутриклеточного кальция ВАРТА АМ блокируют этот эффект слабых КМП [6]. При этом уровень внеклеточного кальция практически не влияет на степень выраженности праймирования респираторного взрыва. Из этого следует, что одним из ключевых моментов механизма действия слабых КМП на нейтрофилы является усиленный выход ионов кальция в цитозоль из внутриклеточных депо. Вторым из экспериментально установленных ключевых моментов механизма предактирования нейтрофилов в слабом КМП является выраженная зависимость величины этого эффекта от давления атмосферных газов [7]. Предварительная мягкая частичная дегазация суспензии нейтрофилов, приводит к существенному снижению степени влияния КМП, но практически не отражается на способности клеток генерировать респираторный взрыв в ответ на активатор (пептид N-формил-Met-Leu-Phe) в контроле.

1. Новиков В.В., Яблокова Е.В., Фесенко Е.Е. Действие комбинированных магнитных полей с очень слабой переменной низкочастотной компонентой на люминолзависимую хемилюминесценцию крови млекопитающих // *Биофизика*, 2015, Том 60, № 3, стр. 530–533.
2. Новиков В.В., Яблокова Е.В., Фесенко Е.Е. Действие слабых магнитных полей на хемилюминесценцию крови человека // *Биофизика*, 2016, Том 61, № 1, стр. 126–130.
3. Новиков В.В., Яблокова Е.В., Фесенко Е.Е. Влияние слабых магнитных полей на продукцию активных форм кислорода в нейтрофилах // *Биофизика*, 2016, Том 61, № 6, стр. 1159–1163.
4. Новиков В.В., Яблокова Е.В., Фесенко Е.Е. Праймирование респираторного взрыва у нейтрофилов *in vitro* при действии слабых комбинированных постоянного и низкочастотного переменного магнитных полей // *Биофизика*, 2016, Том 61, № 3, стр. 510–515.
5. Новиков В.В., Яблокова Е.В., Новикова Н.И., Фесенко Е.Е. Влияние различных химических агентов на прайминг нейтрофилов в слабых комбинированных магнитных полях // *Биофизика*, 2019, Том 64, № 2, стр. 290–295.
6. Новиков В.В., Яблокова Е.В., Фесенко Е.Е. Роль гидроксильных радикалов и ионов кальция в праймировании респираторного взрыва в нейтрофилах и усилении люминол-зависимой хемилюминесценции крови при действии комбинированных магнитных полей с очень слабой переменной низкочастотной компонентой // *Биофизика*, 2017, Том 62, № 3, стр. 547–551.
7. Новиков В.В., Яблокова Е.В., Фесенко Е.Е. Роль кислорода в прайминге нейтрофилов при действии слабого магнитного поля // *Биофизика*, 2018, Том 63, № 2, стр. 277–281.

МЕХАНИЗМ РЕАЛИЗАЦИИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА (НА «СТАДИИ ТРЕВОГИ») ПРИ ДЕЙСТВИИ СУБЛЕТАЛЬНЫХ ДОЗ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ. ГИПОТЕЗА. ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

THE MECHANISM REALIZATION OF OXIDATIVE STRESS (ON THE “ANXIETY STAGE”) UNDER THE ACTION OF SUBLETHAL DOSES OF IONIZING RADIATION. HYPOTHESIS. OBJECTIVES OF THE STUDY

Новиков В.Э., Ковалев И.И., Новикова А.В.

кафедра радиобиологии МГАВМиБ, Москва. E-mail: laizzza@rambler.ru.

Согласно многочисленным источникам при действии ионизирующей радиации на организм как в летальных, так и в сублетальных дозах центральным звеном начальной стадии патогенеза служит «оксидативный стресс» с развитием «синдрома липопереокисления» (ЛПО). Промотор оксидативного стресса -- интенсификация образования активных форм кислорода (АФК). Здесь уместен вопрос, откуда появляется патологически значимое повышение АФК? Вопрос многократно освещен в литературе. Основными источниками «избытка» АФК (при радиационном воздействии) обычно указывают: радиолиз воды, утечку АФК из митохондрий во внутриклеточное пространство (в ряде тканей), респираторный взрыв в лейкоцитарных клетках. Так ли это?

ВЫДВИГАЕМАЯ ГИПОТЕЗА В основе механизма развития ЛПО при радиационном воздействии лежит небольшое повышение уровня внутрисосудистого гемолиза. Появление свободного оксигенированного гемоглобина в плазме крови, в количествах превышающих возможности системы детоксикации гемоглобина в плазме (гаптоглобин, гемооксигеназы и т.п.) приводит к повышению уровня АФК (избыток геминового и негеминового редокс-активного железа, дезоксигенация внеэритроцитарного гемоглобина). Последнее, в свою очередь, приводит к развитию «синдрома липопереокисления». Причиной повышения внутрисосудистого гемолиза, вероятно, служит деформационный стресс эритроцитов, который возникает вследствие вазоконстрикции часто сопровождающей стадию тревоги как неспецифической реакции на воздействие ионизирующей радиации.

ПРЕДПОСЫЛКИ ГИПОТЕЗЫ 1. Большинство радиопротекторов наиболее эффективны при введении в организм млекопитающих за 15 – 30 минут до облучения. 2. В момент облучения концентрация протектора в крови, вероятно, выше, чем в других тканях. 3. Основные реакции первичных продуктов облучения и протекторов следует ожидать именно в крови. 4. На одну тысячу эритроцитов в среднем в крови содержится одна лейкоцитарная клетка. 5. Основная масса кислорода крови сосредоточена в эритроцитах. 6. Активность внутриэритроцитарных антиоксидантных систем превышает (3 порядка) аналогичную величину в плазме крови. 7. При облучении как сублетальными, так и большими дозами индивидуальность различий в чувствительности к облучению по многим критериям достаточно заметно выражена: различный гормональный статус; первичная неспецифическая реакция на облучения может у части животных из группы иметь противоположную направленность (например: вазоконстрикция – вазодилатация и т.п.). 8. Еще в начале XX века, многие исследователи отмечали, что на уровне функциональных изменений, первой на облучение реагирует ЦНС – изменением электрической активности мозга.

ЗАДАЧИ ВЕРИФИКАЦИИ ГИПОТЕЗЫ. Для подтверждения гипотезы необходимо прямо или косвенно доказать что: 1) сразу после облучения имеет место интенсификация внутрисосудистого гемолиза; если повышение внутрисосудистого гемолиза имело место, то оно должно было происходить на уровне микроциркуляции (спазм артериол и прекапилляров); в этом случае, должно иметь место повышение pO_2 в плазме и увеличение (значительное) (HvO_2 %) в эритроцитах в венозной крови; 2) повышение уровня внутрисосудистого гемолиза сопровождается повышением уровня АФК в плазме крови – данное явление должно сопровождаться снижением антиокислительной активности плазмы крови, а также может быть обнаружено методом активированной хемилюминесценции (люминол- и люцигенин-зависимой), по реакции с нитросиним цитрозолем и т.п. (косвенным подтверждением может служить исследование *in vitro* – любым способом вызывать незначительный гемолиз. Уровень гемолиза должен быть настолько слабым, что проявится только повышением оксигенации внутриэритроцитарного гемоглобина (HvO_2 %). Если гипотеза верна – должен возрасти уровень АФК в плазме);

3) повышение уровня внутрисосудистого гемолиза является неспецифической реакцией на облучение и связано с деформационным стрессом эритроцитов – сразу после облучения у части облученных (животных) должно быть зарегистрировано повышение АД и ухудшение микроциркуляции (Допплеровская флоуметрия); де-формационный стресс эритроцитов должен сопровождаться потерей ими кальция.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ГИПОТЕЗЫ. Если выдвигаемая гипотеза верна, открывается новое направление поиска протекторов, особенно эффективных при действии сублетальных доз. Открывается дополнительная возможность «разрыва» патогенетической цепочки лучевой болезни. Поиск протекторов должен быть направлен на препараты, понижающие вазоконстрикцию при стрессе, а также повышающие скорость утилизации (нейтрализации) свободного гемоглобина и гема в плазме крови. Также, следует обратить внимание на возможное повышение концентрации редокс- активного железа в плазме крови.

ПОВЫШЕНИЕ УРОВНЯ АФК В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПРИ ИНТЕНСИФИКАЦИИ ВНУТРИСОСУДИСТОГО ГЕМОЛИЗА

RAISING OF ROS LEVEL IN BLOOD PLASMA BY INTENSIFICATION THE LEVEL OF INTRAVASCULAR HEMOLYSIS

Новикова А.В., Новиков В.Э.

кафедра радиобиологии МГАВМиБ, Москва. E-mail: laizzza@rambler.ru

Белых беспородных крыс-самцов, массой 180 – 200г, индивидуально подвергали действию пульсирующего электрического поля. Для этого животных помещали в специальный контейнер из оргстекла (6 × 12 × 7)см. К боковым стенкам контейнера были прикреплены металлические пластины (12 × 7)см. К пластинам прикладывали пульсирующее напряжение (амплитудное значение -- 1000 В, частота пульсаций --25 Гц). Среднее значение напряженности поля в контейнере – 100 В/см. Пульсирующее напряжение получали путем однополупериодного выпрямления промышленного напряжения от повышающего трансформатора. Для каждого животного экспозиция составляла 5 минут. У каждого животного за 2 часа до облучения и через 5 минут после из хвостовой вены брали по (0,25-0,5) мл крови. Аналогично брали кровь в контрольной группе

животных, но без воздействия электрическим полем. В полученных образцах крови исследовали (1) кислотные эритрограммы; определяли: (2)концентрацию эритроцитов [ЭР] , (3) pO_2 в плазме крови, (4) степень оксигенации гемоглобина [% HbO₂], (5)константу проницаемости мембран эритроцитов по кислороду [K_z], (6)средство эритроцитарного гемоглобина к кислороду [pO_2 -50%], (7)интенсивность люминол-зависимой хемилюминесценции [I-ЛХЛ] плазмы крови, светосумму «H₂O₂-вспышки» люминол-зависимой хемилюминесценции как (8) с добавлением ЭДТА [SXL-1] , так и (9) без ЭДТА [S-XL-2]. Всего исследовано 11 животных в опытной группе и 11 -- в контрольной группезживотных. Частные особенности методик (1 –6) подробно описаны в [1]; методики (7-9) – в [2].

Кроме того, плазму крови спектрофотометрировали для контроля свободного гемоглобина.

В силу значительного индивидуального разброса определяемых параметров, при сравнении опытной и контрольной групп статистической обработке подвергали не сами значения, а разницу между значениями параметров в каждой паре образцов крови. принадлежавших конкретному животному. Во всех случаях воздействия поля, на эритрограммах было отмечено снижение доли присутствия наименее устойчивых клеток, однако при этом достоверной эритропении отмечено не было/ Все изменения в содержании эритроцитов лежали в пределах погрешности метода. Спектрофотометрически зарегистрировать появление свободного гемоглобина в плазме крови также не удалось ни в одном из случаев. С другой стороны, после воздействия электрического поля на животных имело место значительное возрастание pO_2 в плазме крови (на 33 Т относительно контроля), оксигенированности гемоглобина (на 60 %), проницаемости мембран эритроцитов для кислорода (константа проницаемости K_z выросла на 0,42 с⁻¹, в контроле на 0,02 с⁻¹). Указанные изменения совместно со сдвигом кислотных эритрограмм косвенно свидетельствуют о повышении уровня внутрисосудистого гемолиза. Однако, уровень увеличения гемолиза таков, что обнаружить его классическими методами довольно проблематично. повышения явно недостаточного для устойчивого появления свободного Hb в плазме крови.

Одновременно зарегистрированы значительные сдвиги ряда параметров люминол-зависимой хемилюминесценции: так изменение [I-ЛХЛ] – после воздействия поля составило 500 имп/с, тогда как в контроле – 8 имп/с. Это свидетельствует о повышении в плазме крови содержания АФК (активных форм кислорода). При этом уровень антиокислительной активности соответствующий величине [SXL-1] заметно снизился (на.180×10³имп), в контроле – не изменился. С другой стороны аналогичное измерение без добавления ЭДТА [S-XL-2] показало менее существенные изменения (понижение составило лишь около (90×103) имп). Вероятно, в плазме после воздействия поля появились дополнительное редокс-активное железо, что и повышает [S-XL-2], по сравнению с [SXL-1]. Наиболее вероятное происхождение этого эффекта – некоторое увеличение свободного гемоглобина в плазме вследствие повышения уровня внутрисосудистого гемолиза.

1. В.Э. Новиков, В.М.Розенталь Измерение проницаемости мембран эритроцитов для кислорода. LAP LAMBERT Academic Publishing, Deutschland, 2014/
2. Владимиров Ю. А. , Шерстнев М. П. Хемилюминесценция клеток и животных . - В кн. : Итоги науки и техники . Биофизика . т . 24. - Москва . - 1989.

ИЗМЕНЕНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО АППАРАТА КОРТИКОСТЕРОЦИТОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭНДОКРИННОГО ДИСРАПТОРА ДДТ НА РАЗВИВАЮЩИЙСЯ ОРГАНИЗМ

CHANGES IN MITOCHONDRIA OF ADRENAL CORTICAL CELLS AFTER DEVELOPMENTAL EXPOSURE TO ENDOCRINE DISRAPTER DDT

Обернихин С.С., Яглова Н.В., Назимова С.В., Яглов В.В.

ФГБНУ «НИИ морфологии человека», Москва, ул. Цюрупы, 3, e-mail: ober@mail.ru

Развитие секреторной деятельности коркового вещества надпочечников при постоянном воздействии эндокринный дисрапторов является малоизученной проблемой, значимость которой обусловлена увеличением воздействия эндокринных дисрапторов на организм животных и человека в последние годы. Известно, что митохондрии являются главными участниками биосинтеза стероидных гормонов, поскольку в них содержатся стероидогенные ферменты. Митохондрии способны автономно интегрироваться в биосинтетические процессы и реагировать на клеточные сигналы путем структурных изменений. Цель работы – изучение изменений митохондриального аппарата кортикостероцитов при воздействии эндокринного дисраптора дихлордифенилтрихлорэтана (ДДТ) на развивающийся организм во внутриутробном периоде и после рождения особи.

Изучение ультраструктуры клеток клубочковой, пучковой и сетчатой зон коркового вещества надпочечников крыс выявило наличие изменений митохондриального аппарата, связанных с развитием надпочечников в постнатальном онтогенезе.

При переходе от пубертатного периода к половой зрелости отмечалось уменьшение размеров клубочковой зоны и одновременное повышение продукции альдостерона. Исследования показали, что этот эффект достигался за счет двукратного увеличения количества митохондрий в клетках и уменьшения их размера. Таким образом, это позволяет увеличить площадь поверхности внутренних мембран и активировать как процессы биологического окисления, так и повысить стероидогенную активность. Это предположение подтверждается и уменьшением процента митохондрий с отеком матрикса, возникающем при функциональной перегрузке митохондрий.

В отличие от клубочковой пучковая зона коркового вещества, наоборот, увеличивалась в размерах, а продукция кортикостерона не увеличивалась. Количество митохондрий в клетках уменьшалось, а их размер увеличивался. Наблюдалось и снижение доли митохондрий с отеком матрикса.

В сетчатой зоне после достижения половой зрелости происходит снижение функциональной активности клеток в связи с активным синтезом половых стероидов в семенниках. Изменения митохондриального аппарата в сетчатой зоне характеризовались уменьшением размера митохондрий и увеличением их числа в клетках. Отек матрикса митохондрий был выражен одинаково и в пубертатном, и в постпубертатном периодах.

При исследовании ультраструктуры клеток надпочечника крыс, подвергавшихся воздействию низких доз ДДТ в пре- и постнатальном периодах развития был выявлен ряд существенных отличий. В пубертатном периоде в клубочковой зоне доля митохондрий с отеком матрикса была в шесть раз меньше, чем у крыс контрольной группы, что свидетельствует о меньшей интенсивности синтетических процессов в митохондриях и подтверждается и более низким уровнем альдостерона. К периоду половой зрелости, у этих животных не наблюдалось достоверного уменьшения диаметра митохондрий. Общее количество митохондрий в мм² цитоплазмы была в полтора, а доля митохондрий с отеком матрикса в три раза ниже, чем в контрольной группе. Нормализация продукции альдостерона достигалась за счет гиперплазии клубочковой зоны.

К пубертатному периоду в пучковой зоне надпочечников крыс подвергавшихся воздействию дисраптора, диаметр, количество и доля митохондрий с отеком матрикса были выше, чем у интактных животных. Несмотря на то, что динамика возрастных изменений была такая же, как и в контрольной группе, значения этих показателей оставались на более высоком уровне. Это позволяло сохранять продукцию кортикостерона на уровне контрольных значений.

В сетчатой зоне в пубертатном периоде диаметр митохондрий был меньше, а их количество в цитоплазме клеток больше, чем в контрольной группе. При достижении половой зрелости все эти показатели не отличались от контрольных значений. Доля митохондрий с отеком матрикса была высокой на всех этапах исследования и во всех возрастных группах.

Заключение. Воздействие эндокринного дисраптора ДДТ на развивающийся организм в пренатальном и постнатальном этапах вызывает изменения структурных и функциональных показателей развития митохондриального аппарата в кортикостероцитах надпочечников. Наибольшую чувствительность демонстрируют клетки клубочковой и пучковой зон. Полученные данные указывают на способность эндокринного дисраптора ДДТ вызывать изменения морфогенетических процессов и влиять на деление митохондрий как показатель развития секреторного аппарата.

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР *LINUM AUSTRIACUM* ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ «ЗЕЛЕННЫХ» НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF CALLUS CULTURES *LINUM AUSTRIACUM* EFFECTED BY “GREEN” SILVER NANOPARTICLES INFLUENCE

Оганесян А.А., Арутюнян А.А.

ГОУ ВПО Российско-Армянский Университет, Лаборатория Аналитической Биохимии и Биотехнологии
Армения, Ереван, О. Эмина 123, E-mail: ashkhen.hovhannisyanyan@rau.am, armine.arutiunian@rau.am

За последнее десятилетие исследование в области нанобиотехнологии показали, что многие биологические объекты (бактерии, водоросли, грибы и растения) способны превращать ионы неорганических металлов в металлические наноразмерные частицы, за счет восстановительных свойств разных компонентов содержащихся в них. В растениях такими системами могут являться вторичные метаболиты. Базилик армянский (*Ocimum araratum*), растущий в Араратской долине, был выбран нами за счет своих антирадикальных и окислительно-восстановительных свойств. Считается, что в экстрактах *O.araratum* некоторые флавоноиды, такие как лютеолин и розмариновая кислота, способствуют восстановлению наночастиц серебра (AgNPs) из их ионов [2].

Базилик давно используется в народной медицине, а в кулинарии как приправа. Также он нашел множественное применение в фармацевтике, косметологии, ароматерапии и парфюмерии [3]. AgNPs уже применяются в фармакологии, агро и пищевой промышленности, а также, используются как стерилизаторы, антибактериальные препараты, стимуляторы клеточного роста.

Полученные 50% этанольные экстракты *O.araratum* использовали для конгрегации AgNPs. Для стабилизации AgNPs был использован 50% этанольный экстракт *O.araratum*, а также розмариновая кислота. Для идентификации и определения размеров наночастиц был проведен СЭМ и спектральный анализ.

Для исследования свойств и механизмов действия AgNPs в качестве модельных систем нами предложены длительно пассируемые каллусные культуры [1]. Культуры *Linum ausriacum* инкубировались на качалке в течение 15 дней на жидкой культуральной MS-BN среде содержащей 50% этанол; спиртовой раствор розмариновой кислоты; экстракт *O. araratum*; 2.6 мкг/мл AgNPs, стабилизированных экстрактом *O. araratum* и розмариновой кислотой в стерильном боксе (MRC, Израиль), при световом цикле 16/8 ч. и температуре 25°C.

Все образцы по сравнению с контрольными культурами морфологически не имели никаких различий.

В супернатантах гомогенатов каллусных культур определяли общее содержание флавоноидов (ОСФ), антирадикальную активность (АРА) и пероксидазную (ПО) активность [1]. На основе полученных результатов можно сказать, что воздействие зеленых AgNPs на каллусные культуры, не зависимо от стабилизатора, увеличивает ОСФ, способствует увеличению ПО активности, в то время как АРА уменьшается. Розмариновая кислота имеет свойства нейтрализации активных форм кислорода (АФК) [4], в отличие от AgNPs, которые генерируют АФК [5]. Это и объясняет снижение АРА по сравнению с контролем.

1. Оганесян А., и др. Действие наноразмерного серебра на морфогенетические свойства каллусных культур *Linum ausriacum* // IV межд. Конференция “Физико-химическая биология”, Ставрополь. 2016.С. 24-27.
2. Makarov V., et al. “Green” Nanotechnologies: Synthesis of Metal Nanoparticles Using Plants // Acta Naturae. 2014. Vol. 6(1). P 35–44.
3. Libera Z., et al. Chemical Characterization and Genetic Relationships among *Ocimum basilicum* L. Cultivars. Chemistry & Biodiversity. 2011. Vol. 8(11). P. 1978–89.
4. Pérez-Fons et al. Relationship between the antioxidant capacity and effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) polyphenols on membrane phospholipid order // J Agric Food Chem. 2010. Vol. 58. P.161–171.
5. Dwivedi S. et al. // Reactive oxygen species mediated bacterial biofilm inhibition via zinc oxide nanoparticles and their statistical determination. Rev. 2014. Vol. 185. P.938-944.

ЧТО ЗАПУСКАЕТ ДЕЛЕНИЕ ЯДРА В ЯЙЦЕ ПРИ 37.5⁰? КОНВЕРСИЯ СПИН-ИЗОМЕРОВ H₂O, РАСПЛАВ ГИДРАТНОЙ ОБОЛОЧКИ И ИХ ТРАНСПОРТ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНУ БЕЛОК/ЖЕЛТОК

WHAT DOES NUCLEUS DIVIDE IN THE EGG AT 37.5⁰? SPIN-ISOMERS H₂O CONVERSION, MELTING THE HYDRATE SHELL AND THEIR TRANSPORT THROUGH THE PROTEIN / YOLK MEMBRANE

С.М. Першин

Институт общей физики им. А.М.Прохорова РАН, 119991, Вавилова 38, Москва, pershin@kapella.gpi.ru

Предложен механизм 0-100 % скачка «текучести» эритроцитов через микрокапилляр пипетки при температуре более 36.4±0.3 °С, обнаруженного ранее [G.Arntmann et al., Temperature Transitions of Protein Properties in Human Red Blood Cells, *Biophysical Journal*, **75** (1998) 3179], а также транспорта H₂O через мембрану белок/желток в яйце при ~37.5 °С, имеющих одинаковую природу. Механизм основан на экспериментальных фактах существования орто и пара спин-изомеров H₂O в воде и их спиновой конверсии, а также спин-селективным взаимодействии белков с пара-изомерами H₂O при формировании гидратных оболочек [A.F. Bunkin et al., *Laser Phys. Lett.* **3**(6), 275 (2006)]. Кроме этого, выявлен резонанс броуновского движения kT и энергии вращательных квантов $h\Omega$ перехода 3_{13} - 2_{02} пара-изомеров H₂O при температуре 36.6 °С, который увеличивает вероятность спиновой конверсии изомеров H₂O при столкновениях. Столкновения смешивают квантовые состояния близко-расположенных уровней пара-H₂O 3_{13} (285.2 см⁻¹) и орто-H₂O 3_{30} (285.4 см⁻¹), соответственно, и индуцируют конверсию пара-изомеров в орто-H₂O. Показано, что конверсия изомеров H₂O в льдоподобной гидратной оболочке гемоглобина внутри эритроцита ускоряется при наличии кислорода и железа как катализаторов с магнитным моментом. Обосновано, что наблюдаемая при входе в капилляр потеря воды эритроцитом обусловлена выходом через его мембрану орто-изомеров H₂O, которые освобождаются при «расплаве» гидратной оболочки гемоглобина или белка в яйце. При этом яйцо поворачивают, когда порция воды из оболочки белка просочится через мембрану на ядро в желток, чтобы новая часть белка со связанной водой оказалась над ядром в тёплой зоне под брюшком наседки/инкубатора. «Расплав» способствует уплотнению молекул гемоглобина и сопровождается увеличением плотности катализаторов, которые ускоряют конверсию и структурный переход гель-золь. Последовательность этих процессов подобна цепной реакции, которая запускает лавинно-образный скачок «текучести» эритроцитов через микрокапилляр. Этот же механизм позволяет обосновать аномальное понижение вязкости водного раствора гемоглобина почти на порядок в области температуры 36.6 °С при повышении его концентрации в 1.7 раза.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ В КОРНЕВОЙ МЕРИСТЕМЕ ПРИ ОБЛУЧЕНИИ БЫСТРЫМИ НЕЙТРОНАМИ В ДОЗЕ 10 ГР И ИХ МОДИФИКАЦИЯ ГИПОМАГНИТНЫМИ УСЛОВИЯМИ НА ПРИМЕРЕ СЕМЯН САЛАТА

CYTOGENETIC EFFECTS IN ROOT MERISTEM AFTER EXPOSURE TO FAST NEUTRONS IN DOSE 10 GY AND THEIR MODIFICATION BY GYPOMAGNETIC ENVIRONMENT ON AN EXAMPLE OF LETTUCE SEEDS

Платова Н.Г., Лебедев В.М.¹, Спаский А.В.¹, Труханов К.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, nataliaspl@inbox.ru

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», Научно-исследовательский институт ядерной физики имени Д.В. Скобельцына, Москва

Радиационная обстановка в космическом полёте формируется галактическими и солнечными космическими лучами, а также нейтральными частицами. При взаимодействии заряженных частиц с веществом создается поток нейтронов. С увеличением толщины защиты вклад в общую дозу от вторичных нейтронов будет возрастать. При полётах за пределы магнитосферы Земли, на лунных и марсианских базах человек и биообъекты будут находиться в условиях пониженного на несколько порядков магнитного поля, т.е. в гипомагнитных условиях (ГМУ). Изучение комбинированного воздействия различных факторов космического полёта представляет теоретический и практический интерес для развития пилотируемой космонавтики.

Семена салата посевного *Lactuca sativa* L. облучали нейтронами со средней энергией 1,6 МэВ с мощностью дозы 14,2 мГр/с на биологическом оборудовании Будапештского исследовательского реактора в дозе 10 Гр. Дополнительное γ -излучение составляло около 10%. Семена проращивали в гипомагнитной камере из магнитомягкого материала, расположенной в НИИЯФ МГУ. Чашки Петри с семенами располагали в местах с ослаблением геомагнитного поля в 50, 360 и 2500 раз со средними величинами магнитной индукции $1 \cdot 10^3$ нТл, $1,4 \cdot 10^2$ нТл и до $2 \cdot 10^1$ нТл соответственно. Величина магнитной индукции измерялась трехкомпонентным магнитометром типа НВ0204.4А (ООО «НПО ЭНТ») с диапазоном от 10 нТл до 100 мкТл и точностью измерений 10 нТл. По достижении корешками длины 2-4 мм проростки фиксировали, корешки окрашивали ацеторцеином и использовали для дальнейшего цитогенетического анализа. Использовали ана-телофазный метод для учета хромосомных aberrаций в первом митозе корневой меристемы.

Ранее было показано, что при прорастании семян, облученных ионами аргона [1] и углерода [2] в ГМУ происходит увеличение радиационного поражения клетки по тесту хромосомных aberrаций. При облучении нейтронами в дозе 10 Гр отмечено достоверное увеличение процента клеток с хромосомными aberrациями и процента клеток с множественными aberrациями при всех условиях проращивания по сравнению с необлученными семенами, прораставшими в обычных условиях. Отмечено снижение среднего количества делящихся клеток в стадиях ана- и телофазы при всех условиях проращивания по сравнению с контрольными необлученными семенами. Рассмотренные режимы облучения и ослабления ГМП не оказывают влияния на энергию прорастания и всхожесть семян, но вызывают задержку прорастания на 1 сутки.

По сравнению с облученными семенами, прораставшими в обычных условиях в корневой меристеме проростков облученных семян, прораставших в ГМУ, происходит увеличение процента aberrантных клеток при всех режимах ослабления ГМП, при этом процент клеток с множественными aberrациями существенно не изменяется. Суммарный процент хроматидных мостов и фрагментов увеличен при всех режимах ослабления ГМП, а хромосомных мостов и фрагментов при $1 \cdot 10^3$ нТл и $2 \cdot 10^1$ нТл.

Таким образом, при прорастании в ГМУ семян, облученных быстрыми нейтронами с энергией 1,6 МэВ в дозе 10 Гр, происходит увеличение хромосомных повреждений.

Работа выполнена при поддержке программы фундаментальных исследований ГНЦ РФ – ИМБП РАН и при использовании оборудования, приобретенного НИИЯФ МГУ за счет Программы развития Московского университета.

1. Платова Н.Г. и др. Хромосомные нарушения в семенах салата при комбинированном последовательном воздействии ускоренных ионов аргона и гипомагнитных условий // *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2016. Т. 50. № 3. С. 35–41.
2. Платова Н.Г. и др. Воздействие ускоренных ионов углерода и гипомагнитных условий на семена салата // *Известия Российской Военно-медицинской академии*. 2017. Т.36. № 2.(1). С. 2043.

ВЛИЯНИЕ ОЗОНО-ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ОКИСЛИТЕЛЬНУЮ ДЕСТРУКЦИЮ БЕЛКОВ В ТКАНЯХ КРЫС С КАРЦИНОМОЙ ПОЧКИ

EFFECT OF OZONE-PHOTODYNAMIC THERAPY ON OXIDATIVE DESTRUCTION OF PROTEINS IN RATS WITH CARCINOMA

Плеханова Е.С., Щербатюк Т.Г.

Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород, evgenya_plekhanova@mail.ru

Фотодинамическое (ФД) воздействие в последнее время все чаще используется в онкологической практике, но его эффективность зависит от кровоснабжения и степени оксигенации опухоли. Один из подходов, способствующих увеличению насыщенности кислородом крови и тканей, - озонотерапия. Показано, что озонированный физиологический раствор (ОФР) в плане предлучевой подготовки животным с лимфосаркомой Плисса повышает уровень свободнорадикальных реакций в опухолевой ткани, что приводит к усилению повреждающего действия ионизирующего излучения за счет повышения радиочувствительности опухоли [1]. Мы предположили, что комбинирование ФД воздействия и ОФР усилит деструкцию опухолевой ткани. В качестве контроля повреждений, вызываемых окислительной терапией, выбрали оценку свободнорадикальной модификации белка, как одного из ранних индикаторов повреждения ткани [2].

Целью исследования стала оценка влияния озono-фотодинамического воздействия на окислительную деструкцию белков тканей организма лабораторных животных - опухоленосителей.

Эксперименты выполнены на 33 ювенильных самцах белых нелинейных крыс. Здоровые и с трансплантированной подкожно опухолью животные были разделены на группы: «ФДТ», «ОФР», «ФДТ+ОФР», «контроль» и «интактные». Модель неоплазии - карцинома почки РА (РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Москва). В эксперимент отбирали животных с опухолями от 0,5 до 4,2 см³. При ФД воздействии интратуморально вводили 0,3% раствор гидроксид алюминия трисульфидфталоцианина (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Россия) и через 10 ч после инъекции облучали опухоль светодиодным лазером ($\lambda=660\pm 10$ нм, $P=100$ мВт/см²). Всего проведено 2 сеанса ФДТ на 15-е и 19-е сутки после перевивки. Животным групп «ОФР» и «ФДТ+ОФР» с 10-х суток развития опухоли внутривентриально вводили по 0,5 мл ОФР с концентрацией озона в озono-кислородной смеси 400 мкг/л (курс 10 дней). Противоопухолевый эффект оценивали на 20-е сутки роста неоплазии по коэффициенту абсолютного прироста опухоли [3]. Уровень окислительной модификации белков (ОМБ) в гомогенатах тканей печени, селезенки и опухоли определяли по реакции карбонильных группировок с 2,4-динитрофенилгидразином [4]. Гомогенизацию органов осуществляли в жидком азоте. Статистическую обработку данных проводили непараметрическими методами (U-критерий Манна-Уитни).

На 20-е сутки роста опухоли РА в гомогенатах печени животных-опухоленосителей по сравнению со здоровыми крысами наблюдалось повышение содержания альдегид-динитрофенилгидразонов (АДНФГ), полученных при спонтанном окислении ($p=0,023$), и АДНФГ ($p=0,015$) и кетон-ДНФГ (КДНФГ) ($p=0,039$), полученных при металл-катализируемом окислении белка. Это говорит о ранних стадиях развития окислительного стресса в тканях печени опухоленосителей и истощении резервно-адаптационных возможностей клеток. Аналогичная тенденция прослеживалась и в гомогенатах селезенки. ФДТ привела к замедлению развития перевиваемой опухоли в 3,9 раза, но в некоторых случаях была отмечена интенсификация ее роста. При этом по сравнению с контролем в ткани печени произошло снижение уровня как АДНФГ, так и КДНФГ, полученных при металл-индуцированном окислении белка ($p=0,037$). Однако ФД воздействие усилило окислительную напряженность в тканях селезенки – повышение уровня АДНФГ при спонтанном и металл-катализируемом окислении ($p=0,045$) в гомогенатах ткани по сравнению с интактными крысами. Курс инъекций ОФР привел к торможению интенсивности опухолевого роста в 1,8 раза по сравнению с животными без воздействия, а в тканях печени и селезенки к снижению ОМБ. Комплексное действие ФДТ и ОФР привело к опухолевой регрессии без случаев интенсификации роста карциномы РА ($p=0,045$) и восстановлению окислительных процессов в печени до уровня интактных животных. Однако комбинированное воздействие привело к увеличению спонтанного уровня АДНФГ ($p=0,039$) и КДНФГ ($p=0,028$) в гомогенатах селезенки по сравнению с интактными животными, что говорит о развитии окислительного стресса в тканях этого органа.

Таким образом, совместное действие ФД воздействия и ОФР приводит к повышению противоопухолевой терапии и снижает риск интенсификации опухолевого роста, но сопровождается окислительным повреждением тканей селезенки.

Работа поддержана грантом РФФИ 19-02-00667/19.

1. Щербатюк Т.Г. Свободнорадикальные процессы и их коррекция у животных с экспериментальными опухолями: Дис. ... док.биол. наук. - Нижний Новгород; 2003.
2. Губский Ю.И. и др. Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях // Современные проблемы токсикологии. 2005. Т. 8. №3. С. 20–27.
3. Ярославцева-Исаева Е.В. и др. Разработка методики фотодинамической терапии экспериментальной опухоли (саркома М-1) при локальном введении фотосенсибилизатора // Российский биотерапевтический журнал. 2003. Т. 2. № 4. С. 19-22.
4. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма. – СПб.: ИКФ «Фолиант»; 2000.

ВЛИЯНИЕ ОБЛУЧЕНИЯ ПРОТОНАМИ НА ПОВЕДЕНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ ГРЫЗУНОВ И НЕЙРОГЕНЕЗ ВЗРОСЛОГО МОЗГА

THE INFLUENCE OF PROTON IRRADIATION OF THE BEHAVIOR OF LABORATORY RODENTS AND ADULT NEUROGENESIS

Поletaева И.И.¹, Перепелкина О.В.¹, Федотова И.Б., Огиенко Н.А.¹, Николаев Г.М., Тарасова А.Ю.¹, Лилья И.Г.¹, Кошлань И.В.³, Павлова Г.В.², Ревущин А.В.²

¹Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, РФ (ingapoletaeva@mail.ru)

²Институт Биологии Гена РАН, Москва, РФ

³Объединенный Институт Ядерных Исследований, Дубна, РФ

Исследование эффектов облучения заряженными частицами (в частности, протонов) на ЦНС и поведение актуально оценивать в модельных экспериментах на животных в связи с перспективой полетов человека в дальний космос [1]. Протоны составляют значимую часть космического излучения, и их влияние на организм необходимо исследовать, используя разные биологические модели. Эффекты облучения протонами на поведение в экспериментах на животных бывают как негативными (снижение показателей нейробиохимических процессов, усиление тревожности и др.), так и, в целом, нейтральными [2-5], и они отличаются от эффектов облучения заряженными ионами тяжелых металлов [6]. В докладе будут представлены данные по влиянию облучения протонами (в расширенном пике Брэгга с дозами: 1, 2 и 4 Гр, мощность дозы около 1 Гр/мин, энергия протонов на входе пучка- 150 МэВ) на ряд показателей поведения лабораторных мышей и крыс. В работе были использованы мыши самцы гибриды F1 (СВА x C57BL/6J и крысы инбредной линии Крушинского-Молодкиной, предрасположенные к аудиогенной эпилепсии. Облучение проводили в лаборатории радиобиологии ОИЯИ на протонном пучке фазотрона Медико-технического комплекса. После облучения у животных не было обнаружено резкого падения веса, а также изменений в адекватности выполнения когнитивных тестов, тестов на неофагофобию, приподнятый крестообразный лабиринт и др. Быстрота выполнения мышами теста на неискраемость [7] у облученных мышей практически не отличалась от контроля. Однако доли облученных и контрольных мышей, решивших наиболее сложные пробы теста (с замаскированным лазом в темную часть камеры), достоверно различались. Среди облученных мышей было меньше особей, решивших пробы, в которых надо было копать стружку (нарушение врожденной реакции «копания»), но облученные мыши достоверно успешнее решали пробы, где надо было манипулировать предметом, закрывающим проход в комфортную зону. Облучение не изменило интенсивности судорожных припадков на звук у крыс, тогда как при формировании аудиогенного миоклонуса (18-20 ежедневных звуковых экспозиций) латентность начала припадков была выше у крыс облученной группы. У крыс облученной группы картина исследовательского поведения в тесте «открытого поля» отличалась от показателей контроля. Облучение протонами у мышей и крыс вызвало снижение числа клеток, иммунопозитивных к маркеру нейрогенеза Ki-67.

Работа поддержана ОФИ (грант №17-29-01001) и Госпрограммой N NIOKTR AAAA-A16-116021660055-1

1. Григорьев А.И. и др. К вопросу о радиационном барьере при пилотируемых межпланетных полетах // Вест. РАН. 2017. Т: 87. № 1. С. 65-69. DOI: 10.7868/S0869587317010030.
2. Штемберг А.С. и др. Влияние высокоэнергетических протонов на поведение крыс и его нейробиохимические механизмы // Авиакосм. и экол. мед. 2013. Т. 47. № 6. С. 54-60.
3. Davis C.M. et al. Individual differences in attentional deficits and dopaminergic protein levels following exposure to proton radiation // Radiat Res. 2014. Vol. 181. P. 258-271.
4. Shukitt-Hale B. et al. The effects of proton exposure on neurochemistry and behavior // Adv Space Res. 2004. Vol. 33. P.1334-1339.
5. Bellone J.A. et al. A single low dose of proton radiation induces long-term behavioral and electrophysiological changes in mice // Radiat Res. 2015. Vol. 184. P. 193-202.
6. Rabin B.M., Shukitt-Hale B., Joseph J.A. et al. Relative effectiveness of different particles and energies in disrupting behavioral performance // Radiat. Environ. Biophys. 2007. Vol. 46. P. 173-177.
7. Перепелкина О.В. и др. Селекция мышей на высокие показатели решения элементарной логической задачи // ДАН. 2015. Т. 460. С. 617-621.

ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ ПОСТОЯННЫХ МАГНИТОВ, НАЛИЧИЯ НАНОЧАСТИЦ И ФЕРРОМАГНИТНЫХ МИКРОПРОВОДОВ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА И Т-ЛИМФОБЛАСТОВ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ JURKAT

THE EFFECT OF MAGNETIC FIELD FROM PERMANENT MAGNETS, NANOPARTICLES AND MICROWIRES PRESENCE ON HUMAN PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR AND T-LYMPHOBLASTS JURKAT CELLS VIABILITY

Пшеничников С.Е., Шунькин Е.О., Малащенко В.В., Газатова Н.Д., Колесникова В.Г., Омелянчик А.С., Литвинова Л.С., Родионова В.В., Левада Е.В.

Балтийский Федеральный университет им. И. Канта, Калининград, SPshnikov@gmail.com

Актуальным направлением изучения особенностей взаимодействия магнитных материалов на биологические структуры, является установление закономерностей влияния магнитных полей на клетки живого организма. Магнитные поля широко применяются в биомедицинских приложениях, однако большая изменчивость и разнообразие клеточных структур, способны в значительной степени переопределять характер воздействий. Подобные закономерности могут быть использованы для разработки биомедицинских приложений, в том числе для манипулирования одиночными клетками. Объектами исследования выбраны мононуклеарные клетки периферической крови человека (МНК), как модель здоровой клетки человека, часто взаимодействующей с магнитными полями и наноматериалами в ходе противораковых терапий. В качестве онкологической модели в экспериментах использована клеточная линия Т-лимфобластного лейкоза человека (Jurkat). МНК были получены путем забора крови у условно здоровых доноров, с последующим градиентным центрифугированием на фиколле (Ficoll-Paque™ Premium, GE Healthcare).

Клеточная линия Jurkat была получена из Российской коллекции клеточных культур позвоночных Института цитологии РАН, Санкт-Петербург. Оценка жизнеспособности и подсчет численности осуществлялись на автоматическом счётчике клеток Countess Automated Cell Counter (Invitrogen, USA) с проведением окрашивания трипановым синим (Trypan Blue, Invitrogen, USA). Для культивирования использовалась питательная среда RPMI-1640 (Sigma, USA), содержащая 10% фетальной бычьей сыворотки (Fetal Bovine Serum, Sigma, USA) и 0.3 мг/мл L-Глютамина (L-glutamine, Sigma, USA). В качестве источников постоянного магнитного поля использовались магниты с индукцией поля 0.30 Т, 0.35 Т, 0.41 Т. Экспериментальные образцы культивировались в концентрации 5×10^5 кл/мл и располагались в 24-луночных планшетах. Постоянные магниты находились под лунками планшета с клеточными культурами. Дальнейшее культивирование составляло 24 часа в инкубаторе (5% CO₂, 37°C). Так же, для экспериментальной оценки воздействия больших магнитных полей использовался источник постоянного магнитного поля на основе принципа дипольной Хальбах-структуры (AMT&CLLC). Экспериментальная камера устройства включала область однородного магнитного поля (1.8 Т, неоднородность не более 0,5 %). Время экспозиции образцов составляло 4 часа. Экспериментальные группы клеток находились в плотно закрытых инкубационных пробирках, при этом питательная среда предварительно прогревалась и насыщалась CO₂. Контрольные образцы культивировались в инкубаторе, а также в плотно закрытых культуральных пробирках, вне источников магнитного поля.

Для оценки влияния наноматериалов, а также совокупного действия наноматериалов и постоянных магнитных полей на жизнеспособность исследуемых клеточных линий, использовались магнитные наночастицы на основе феррита, полученные методом соосаждения (диаметром ~10 нм). Было использовано 3 экспериментальные группы клеток (в зависимости от факторов воздействия). Рабочая концентрация наночастиц составляла 100 мкг/мл питательной среды. В первой группе в качестве исследуемого фактора использовались наночастицы, во второй – сочетание наночастиц и внешнего постоянного магнитного поля. Перед экспериментами у половины образцов осуществлялась предварительная инкубация (24 часа) в присутствии наночастиц, для обеспечения интернализации.

Жизнеспособность клеток была проанализирована с использованием двух методов: проточной цитометрии (BD Accuri C6 Flow Cytometer System, BD Biosciences, USA) с окрашиванием образцов пропидиум йодидом (Propidium Iodide, Invitrogen, USA). Для изучения клеточной морфологии использовался микроскоп Olympus IX51 S8F («Olympus Corporation», Philippines).

Согласно результатам исследования, влияние постоянных магнитных полей с различной величиной индукции не оказали ингибирующего влияния на жизнеспособность клеточных линий МНК и Jurkat. Однако, инкубация (в течение 24 часов) в магнитном поле 0.35 Т в присутствии магнитных наночастиц (100 мкг/мл) привела к цитотоксическому эффекту в клеточной линии Jurkat, но не изменила жизнеспособность МНК. Различные интенсивности течения цитотоксических процессов при интернализации магнитных наночастиц в клетки, используются для разработки магнитного микроманипулятора, и для систем локальной индукции клеточной смерти (данные не показаны) на основе ферромагнитных микропроводов в стеклянной оболочке. Наличие различных композиций составов металлической жилы микропровода (Fe и Co) влечёт за собой отличия в реакции клеток на микропровода в клеточной среде. Таким образом, данные исследования нацелены на применение магнитных материалов различных видов для разработки биомедицинских приложений, нацеленных на работу с клетками.

МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ К ДЕЙСТВИЮ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ММ-ИЗЛУЧЕНИЯ У ЖИВОТНЫХ, НАХОДЯЩИХСЯ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА РАЗНОЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ

MECHANISMS OF MICROCIRCULATION ADAPTATION TO THE ACTION OF LOW INTENSITY MM-RADIATION IN ANIMALS UNDER THE STRESS OF DIFFERENT DURATION

Раваева М.Ю., Чуян Е.Н.

ФГАОУ ВО "КФУ им. В.И. Вернадского", г. Симферополь, ravaevam@yandex.ru

Исследование направлено на решение актуальной фундаментальной проблемы, связанной с установлением механизмов адаптации тканевой микрогемодинамики животных к действию низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового (мм) диапазона (длина волны 7,1 мм, плотность потока мощности – 0,1 мВт/см²; локализация – затылочно-воротниковая область, экспозиция 30 минут, продолжительность – 10 суток), условиям острого (ОС, тест вынужденного плавания, однократно в течение 60 мин) и хронического стресса (десятисуточное ограничение подвижности, гипокинезия, ГК), а также их различной комбинации, что дает возможность не только углубить современные представления о развитии стрессорных реакций организма, выявить ранние «маркеры» патологических изменений, сопровождающих развитие стресс-реакции, являющейся неспецифическим компонентом любого заболевания, а так же определить возможности модифицировать и /или нивелировать развитие стресс-реакции.

Исследование микроциркуляции проводилось методом лазерной доплеровской флоуметрии при помощи лазерного анализатора кровотока «Лазма-МЦ» (производство НПП «Лазма», Россия), рассчитывали осцилляторные и неосцилляторные показатели кожной микрогемодинамики.

Результаты исследования показали, что микроциркуляторные реакции на действие стресс-факторов разной продолжительности имели выраженную специфичность. Так, особенностью реакции тканевой микрогемодинамики животных к условиям ОС является определенный паттерн: нутритивная гиперемия (через один час после действия стресс-фактора) сменяется нутритивной (через 24 часа после действия стресс-фактора) и вновь возвращается к нутритивной (через 48 часов после действия стресс-фактора). Противоположная реакция Мц формировалась на действие ГК, при которой развивалась вазоконстрикция, нарушение притока и оттока крови и доминирование шунтового кровотока, уменьшение количества функционирующих капилляров.

Исследование Мц при действии комбинации стресс-факторов позволило установить, что предварительное воздействие ГК стресса модифицирует реакцию Мц на действие острого стрессирующего фактора, нивелируя развитие гиперемии, сопровождающей изолированное действие ОС. В пользу этого свидетельствует динамика коэффициента модификации микроциркуляторных показателей, значения которого постепенно увеличивались в отрицательной части графика, что свидетельствует об усилении эффекта модификации. Предварительное воздействие ОС у животных позволяет снизить уровень проявлений стресс-индуцированной вазоконстрикции, сопровождающей ГК и, как следствие, ишемии тканей. Можно предположить, что применение острого стресса является своего рода тренировкой, подготавливающей Мц и организм в целом к действию неблагоприятных факторов, одним из которых является, например, длительное ограничение подвижности.

При изолированном 10-тикратном мм-воздействии у животных наблюдалось достоверное изменение активности всех компонентов регуляции микрососудистого тонуса, что выражалось в увеличении эндотелий-зависимой вазодилатации, снижении периферического сопротивления, увеличении притока крови в нутритивное микрососудистое русло, улучшении венолярного оттока.

Комбинированное действие низкоинтенсивного мм-излучения, ОС и ГК приводило к значительному снижению развивающихся при стрессе нарушений микрогемодинамики, о чем свидетельствует отсутствие достоверных различий большинства показателей Мц у животных исследованных групп по сравнению с показателями у животных контрольной группы.

Таким образом, одним из основных механизмов действия мм-излучения является его способность лимитировать развитие стресс-реакции на уровне микроциркуляции, что является одним из основных проявлений физиологических эффектов низкоинтенсивного мм-излучения, лежащих в основе его антистрессорного действия.

Работа выполнена на оборудовании ЦКП ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» «Экспериментальная физиология и биофизика». Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках инициативной части государственного задания № 6.5452.2017/8.9 Минобрнауки России в сфере научной деятельности темы «Временная организация физиологических систем человека и животных: феноменология и механизмы генерации и регуляции микро- и мезоритмов».

ДЕЙСТВИЕ МЕТАЛЛООРГАНИЧЕСКИХ КОМПЛЕКСОВ НА ОСНОВЕ ИОНОВ МЕДИ НА ФЛУОРЕСЦЕНЦИЮ ХЛОРОФИЛЛА

THE EFFECT OF ORGANOMETALLIC COMPLEXES BASED ON COPPER IONS ON CHLOROPHYLL FLUORESCENCE

М.В. Родионова¹, С.К. Жармухамедов², Л.Ф. Халилова³, Я.М. Фейзиев³, И.М. Гусейнова³, Аллахвердиев С.И.¹⁻⁵

¹Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

²Институт фундаментальных проблем биологии, РАН, Пущино, Московская обл., Россия

³Институт молекулярной биологии и биотехнологии, НАНА, Баку, Азербайджан

⁴Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

⁵Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Московская область, Россия

Ранее синтезированные металлорганические комплексы на основе ионов меди (Cu(II)) были исследованы по их действию на фотоиндуцированный перенос электрона при фотосинтезе, а также на некоторые ключевые реакции растительной клетки [1]. Среди исследованных соединений были выявлены агенты, эффективно подавляющие активность карбоангидразы эритроцитов быка, карбоангидразную активность компонентов фотосистемы II (ФСII), активность глутатионредуктазы дрожжей, а также фотосинтетическую активность, главным образом, на уровне ФСII. Было показано, что эти комплексы ингибируют фотосинтетический перенос электрона в тилакоидах и субхлоропластных мембранных частицах, обогащенных ФСII (ВВУ-частицах). Фотоиндуцированный перенос электрона регистрировали от воды к ферририцианиду (FeCy) или паре DCBQ+FeCy, играющих роль экзогенных акцепторов электрона. Кроме того, эти агенты подавляют фотоиндуцированные изменения флуоресценции хлорофилла ФСII (ΔF), не оказывая влияния на уровень F_0 . Однако нельзя было исключить, что уменьшение величины максимального уровня F_m может быть вызвано не только следствием ингибирования процесса фотонакопления восстановленного первичного акцептора электрона ФСII (пластохинона Q_A), но также вследствие того, что синтезированные комплексы способны также вызывать нефотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла. Для некоторых ингибиторов переноса электрона при фотосинтезе, например, DBMIB [2], а также экзогенных акцепторов электрона, например, DCBQ [3] известно, что помимо влияния на фотосинтез они также вызывают нефотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла. Флуоресценцию хлорофилла, а также возможные изменения ее величины в присутствии металлорганических комплексов меди или известных тушителей флуоресценции (DBMIB и DCBQ), используемых в качестве контроля, исследовали на тилакоидах из шпината на сканирующем спектрофлуориметре Cary Eclipse Agilent (Variant) (США). Флуоресценцию хлорофилла возбуждали светом с длиной волны 436 нм, при ширине щели 10 нм. Спектры испускания флуоресценции измеряли от 600 нм до 800 нм, ширина щели 10 нм. Установлено, что новые металлорганические комплексы не вызывают нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла.

Работа поддержана грантом РФФИ №19-14-00118 и частично грантом РФФИ №18-54-06017-Аз_а.

1. Rodionova M.V., Zharmukhamedov S.K., Karacan M.S., Venedik K.B., Shitov A.V., Tunç T., Mamas S., Kreslavski V.D., Karacan N., Klimov V.V., Allahverdiev S.I. Evaluation of new Cu(II) complexes as a novel class of inhibitors against plant carbonic anhydrase, glutathione reductase, and photosynthetic activity in photosystem II // *Photosynth. Res.*, 2017, 133(1-3): 139-153.
2. Belatik A., Joly D., Hotchandani S., Carpentier R. Re-evaluation of the side effects of cytochrome b6f inhibitor dibromothymoquinone on photosystem II excitation and electron transfer // *Photosynth. Res.*, 2013, 117:489-496.
3. Rajagopal S., Egorova E.A., Bukhov N.G., Carpentier R. Quenching of excited states of chlorophyll molecules in submembrane fractions of Photosystem I by exogenous quinones // *Biochim. Biophys. Acta*, 2003, 1606:147-152.

ВОЗДЕЙСТВИЕ УЛЬТРАЗВУКА НА ЗАМЕРЗАНИЕ КРИОЗАЩИТНЫХ РАСТВОРОВ

EFFECT OF ULTRASOUND ON FREEZING OF CRYOPROTECTIVE SOLUTIONS

Садикова Д.Г., Андреев А.А.

ФИЦ ПНЦБИ РАН Институт Биофизики Клетки РАН, г. Пущино, sgd7@list.ru

В процессе замерзания водных растворов при достижении определенного уровня переохлаждения любая точка зарождения вызывает рост микрочастиц льда по всему объему этого раствора. Формирование микрочастиц льда, наряду с другими повреждающими факторами (токсичность криопротекторов, осмотический шок, перекристаллизация и т. д.), существенно влияет на выживание клеток в процессе замораживания–оттаивания. При наличии различных примесей изменяется температура образования зародышей. В результате мы получаем разную скорость замерзания и форму образованных микрочастиц льда в воде и криозащитных

растворах. Использование ультразвука при замораживании водных растворов приводит к изменению процесса замерзания, возникновению дополнительных точек зарождения микрочастиц льда и др., в результате чего появляется возможность влиять на процесс криоконсервации биологических материалов в зависимости от параметров ультразвука.

В работе использовались дистиллированная вода и три типа растворов: физиологический раствор для осетровых (ФРО), ФРО с 10% диметилсульфоксида (Me_2SO) и ФРО + Me_2SO с добавлением яичного желтка (ЯЖ).

Замораживание образцов проводилось с нелинейной скоростью 10-20⁰С/мин в камере Фукса-Розенталя таким образом, чтобы на один из образцов воздействовал ультразвук (частота - 0.88 МГц, интенсивность 0.7 Вт/см²), а другой замерзал без ультразвукового воздействия (контроль). Для фиксации кристаллизации раствора использовался криомикроскоп (на основе микроскопа Orthoplan Zeiss, Германия) с видеоокуляром (НВ-35 NV-Group, Россия).

В результате были получены изображения микрочастиц льда. Для количественной оценки и анализа изменения морфологической структуры микрочастиц льда в контроле и при воздействии ультразвука, мы использовали изопериметрический фактор Шмидта, который в нашем случае является коэффициентом формы сравнения с идеальной фигурой (круг).

В результате ультразвукового воздействия микрочастицы льда приобретают более упорядоченную структуру и во многих случаях более округлую форму. Микрочастицы льда, сформированные из дистиллированной воды в контроле имеют остроугольную форму, при обработке ультразвуком микрочастицы становятся более упорядоченными и меньшего размера. Микрочастицы льда, сформированные из ФРО также становятся менее остроугольными, ФРО + диметилсульфоксид при воздействии ультразвука становятся более однородными, без рыхлых включений. При добавлении яичного желтка в криозащитный раствор границы между микрочастицами становятся более размыты, однако при воздействии ультразвука происходит изменение формы границ в более округлую сторону.

Изопериметрический фактор при воздействии ультразвука для всех используемых растворов увеличивался, причем самое заметное изменение было для дистиллированной воды с 0.675 в контроле до 0.74 при воздействии ультразвука. Для ФРО – 0.72 и 0.77, ФРО + 10% Me_2SO – 0.79 и 0.82, ФРО + Me_2SO + ЯЖ – 0.865 и 0.89 соответственно в контроле и при воздействии ультразвука.

Одним из повреждающих факторов при криоконсервации живых организмов является разрыв тканей (и др.) микрочастицами льда имеющие форму радикально отличную от формы круга. Как видно из нашего исследования, использование ультразвука может стать перспективным для модификации и дальнейшего изменения процесса образования микрочастиц льда при криоконсервации. Таким образом, использование ультразвука может быть эффективным инструментом при создании новых способов и методов криоконсервации генетического материала.

ИЗМЕРЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЯ ПРЕЛОМЛЕНИЯ РАСТВОРА NaCl В ВОДЕ ПРИ МАЛЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ СОЛИ

MEASUREMENT OF THE REFRACTIVE INDEX OF SOLUTION NaCl IN WATER WITH SMALL CONCENTRATION OF SALT

Саримов Р.М., Гудков С.В.

Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук (rusa@kapella.gpi.ru)

Исследования показателя преломления раствора NaCl в настоящее время проводятся с целью уточнения концентрационной и температурной зависимости и, как правило, при достаточно больших концентрациях NaCl 1–30% [1]. Это связано, прежде всего, с тем, что такие исследования проводятся в основном с помощью рефрактометров, предел погрешности которых лежит в диапазоне 10⁻³–10⁻⁴ RIU (refraction index unit). В диапазоне концентраций NaCl 1–30% инкремент показателя преломления dn/dc не меняется и равен примерно 1.77 · 10⁻³·RIU для длины волны 589.3 нм [1]. Однако, для растворов с концентраций соли <1% экспериментальных работ по измерению показателя преломления практически нет. В одной из редких работ наблюдались изменения значений инкремента показателя преломления водного раствора NaCl в районе концентрации 0.1% [2]. Однако, авторы связали эти изменения с особенностями метода (интерферометрия пористых кремниевых наноструктур).

В нашей работе исследовался инкремент показателя преломления в широком диапазоне концентраций соли (0.001–1%). Работа проводилась с целью калибровки интерферометра, для его дальнейшего использования в биофизических экспериментах. Ранее с помощью интерферометра удалось впервые зафиксировать увеличение показателя преломления раствора белка в процессе протеолиза [3], а также связать эти изменения с параметрами гидратной оболочки белка [4]. Планируются к публикации данные по изменению показателя преломления раствора белка в ходе денатурации и ренатурации.

Растворы с разной концентрацией NaCl (Panreac, 131659.1211) были получены путем последовательного разбавления в дистиллированной и деионизованной воде с удельным сопротивлением >10 МОм/см из 30% раствора NaCl. Измерения проводились в интерферометре Маха-Цендера с использованием красного лазерного диода (Sharp GH0631IA2GC 638nm CW 185 mW). Интенсивность излучения проходящего через контрольную и опытную кювету с растворами ~ 1 мВт. Также в каждую кювету, помещали платиновые датчики температуры (HEL-705, Honeywell) для учета температуры и импеллеры для размешивания. Импеллеры вращались с частотой ~ 2 Гц и не влияли на температуру в кювете. Более подробное описание интерферометра можно найти в ранее опубликованных работах [3, 4].

В интерферометре в кюветы (контрольную и опытную) первоначально наливали 18 мл воды и далее в течение 16 минут в опытную кювету доливали 2 мл раствора соли с концентрацией (0.01–10%), а в контрольную доливали воду. При этом приводили измерение сдвига интерференционного паттерна и вычисляли разность показателя преломления между контрольной и опытной кюветой. Калибровка интерферометра осуществлялась по температурным изменениям в дистиллированной воде в диапазоне температур 10–25°C.

В предварительных экспериментах было обнаружено, что концентрационная зависимость в лучше аппроксимируется экспонентой ($R^2=0.99991$), чем линейной функцией ($R^2=0.99814$). Инкремент преломления раствора соли меняется от $2.55 \cdot 10^{-3} \cdot \text{RIU}$ при концентрациях 0.001–0.03% до $2.21 \cdot 10^{-3} \cdot \text{RIU}$ при концентрациях 0.1–0.3%.

Таким образом, описанная методика показала свою применимость для анализа показателя преломления в растворах малой концентрации, по всей видимости, одной из областей ее применения может быть анализ растворов сверхнизких концентраций, что является сложной и актуальной задачей [5]. Подобные работы мы собираемся провести в нашей лаборатории в дальнейшем.

Часть работы выполнена при поддержке НИР "Физические методы в сельском хозяйстве и экологии" (№ 0024-2019-0004).

1. Tan C. Y., Huang Y. X., Dependence of Refractive Index on Concentration and Temperature in Electrolyte Solution, Polar Solution, Nonpolar Solution, and Protein Solution. // Journal of Chemical and Engineering Data. 2015. V.60 (10). P.2827-2833.
2. Mariani S., Strambini L. M., Barillaro G., Electrical Double Layer-Induced Ion Surface Accumulation for Ultrasensitive Refractive Index Sensing with Nanostructured Porous Silicon Interferometers. // ACS Sensors. 2018. V.3 (3). P.595-605.
3. Sarimov R. M., Matveyeva T. A., Vasin A. L., Binhi V. N., Changes in the refractive index of a solution during proteolysis of bovine serum albumin with pepsin. // Biophysics (Russian Federation). 2017. V.62 (2). P.177-181.
4. Sarimov R. M., Matveyeva T. A., Binhi V. N., Laser interferometry of the hydrolytic changes in protein solutions: the refractive index and hydration shells. // Journal of Biological Physics. 2018. V.44 (3). P.345-360.
5. Epstein O. The spatial homeostasis hypothesis // Symmetry. 2018. Vol.10(4). 103.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ТЕРАГЕРЦОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ГЕННУЮ ЭКСПРЕССИЮ С ПОМОЩЬЮ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ГЕНОСЕНСОРОВ

STUDY OF THE EFFECT OF TERAHERTZ RADIATION ON GENE EXPRESSION WITH BACTERIAL GENOSENSERS

Сердюков Д.С.^{1,2,3}, Розанов А.С.¹, Мещерякова И.А.¹, Банникова С.В.¹, Горячкова Т.Н.¹, Ощепков Д.Ю.¹, Попик В.М.⁴, Черкасова О.П.², Пельтек С.Е.¹

¹Федеральный Исследовательский Центр «Институт Цитологии и Генетики СО РАН», Новосибирск

²Институт лазерной физики СО РАН, Новосибирск

³Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск

⁴Институт ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН, Новосибирск

Serdyukov@protonmail.com

В настоящее время наблюдается активное освоение терагерцовой (ТГц) области электромагнитного спектра, которое сопровождается как разработкой устройств излучения и приёма ТГц волн, так и их внедрением во многие сферы жизни. ТГц излучение является неионизирующим и простирается в интервале частот от $0,3 \times 10^{12}$ до 10×10^{12} Гц. По свойствам оно погранично между радио- и оптическим излучением и имеет ряд уникальных характеристик, определяющих основные направления его практического применения: спектроскопия, в т. ч. идентификация веществ; сканирование и 3D-имиджинг предметов и живых организмов; терапевтическое воздействие; беспроводная связь и локация [1–3]. Высокая биологическая активность ТГц волн неоднократно показана, в т. ч. на уровне генной экспрессии [4, 5]. В естественных условиях данное излучение практически не представлено, и это, вкупе с уже имеющимися данными по его воздействию на живой организм, обостряет интерес к исследованию биологической стороны данных технологий и всерьёз поднимает вопрос их

биологической безопасности. Генетические же исследования здесь наиболее актуальны по причине их фундаментальности, чувствительности и возможности фиксировать ранние биологические отклики, а применение в таких исследованиях геносенсоров является новым и перспективным направлением.

Флюоресцирующие геносенсоры на основе *E. coli* – это бактериальные клетки, несущие гибридные генетические конструкции, которые объединяют в себе промотор чувствительного к определённому внешнему воздействию гена и контролируемый этим промотором структурный ген-репортер – ген флюоресцентного белка. Таким образом, в условиях данного воздействия (специфичный физический или химический фактор) клетки геносенсора нарабатывают репортерный белок, детектируемый флюоресцентными методами анализа.

В Институте Цитологии и Генетики СО РАН ранее уже проводился ряд геносенсорных исследований ТГц излучения [6, 7]; также общим скринингом РНК-транскриптов был определён ряд генов *E. coli*, активируемых при облучении (неопубликованные результаты), и эти данные послужили отправной точкой настоящей работы. На базе данной информации генно-инженерными методами были сконструированы ТГц-чувствительные гибридные ДНК-конструкции с использованием промоторов активируемых при облучении генов транскрипционных факторов TdcR, MatA и ChbR, а также структурных генов жёлтого (TurboYFP) и зелёного (TurboGFP) флюоресцентных белков. Путём трансформации клеток *E. coli* штамма JM109 были получены и протестированы соответствующие геносенсоры: *E. coli/pTdcR-TurboYFP*, *E. coli/pMatA-TurboGFP*, *E. coli/pChbR-TurboYFP*.

В результате была показана активация (флюоресцентное свечение в течение минимум 4 ч) геносенсоров при их 30-минутном импульсном ТГц облучении (частота 2,3 ТГц, средняя плотность мощности 1,4 Вт/см², соответствующая нагреву образцов до 37°C). Воздействие тепловым шоком (30-минутное нагревание до 42°C) и токсическими агентами (перекись водорода, салициловая кислота, фенол, ионы меди (II) и железа (III)) в широком диапазоне концентраций видимую активацию не вызывали.

Разработанные флюоресцентные геносенсоры на ТГц излучение могут быть использованы для фундаментальных научных исследований по воздействию данного фактора на живую систему, а также потенциально применимы для разработки биосенсорных систем ТГц мониторинга окружающей среды.

1. Бецкий О.В. и др. Возможные применения терагерцевых волн // Биомед. радиоэлектроника. 2008. Т. 3. С. 48–54.
2. Братман В.Л. и др. Освоение терагерцевого диапазона: источники и приложения // Успехи физ. наук. 2011. Т. 181. № 8. С. 867–874.
3. Dhillon S.S. et al. The 2017 terahertz science and technology roadmap // J. Phys. D: Appl. Phys. 2017. V. 50. N 4. P. 043001.
4. Wilink G.J., Grundt, J.E. Invited review article: current state of research on biological effects of terahertz radiation // J. Infrared Millim. Terahertz Waves. 2011. V. 32. N 10. P. 1074–1122.
5. Fedorov V.I. et al. The influence of terahertz radiation on the cell's genetic apparatus // J. Opt. Technol. 2017. V. 84. N 8. P. 509–514.
6. Demidova E.V. et al. Studying the non-thermal effects of terahertz radiation on *E. coli/pKatG-GFP* biosensor cells // Bioelectromagnetics. 2013. V. 34. N 1. P. 15–21.
7. Demidova E.V. et al. Impact of terahertz radiation on stress-sensitive genes of *E. Coli* cell // IEEE Trans. THz Sci. 2016. V. 6. N 3. P. 435–441.

ОЦЕНКА УРОВНЯ НИТРИТОВ И НИТРАТОВ В ОРГАНАХ И ТКАНЯХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭКЗОГЕННОГО ОКСИДА АЗОТА

ASSESSMENT OF NITRITE AND NITRATE IN THE ORGANS AND TISSUES IN EXPERIMENTAL THERMAL INJURY AFTER EXPOSURE TO EXOGENOUS NITRIC OXIDE

Соловьева А.Г., Беляева К.Л., Коробко В.М., Мельникова Н.Б.

Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород, E-mail: sannag5@mail.ru

Введение. Развивающаяся при термической травме ожоговая болезнь сопровождается возникновением окислительного и карбонильного стресса, тканевой гипоксии и синдрома эндогенной интоксикации. В настоящее время в модуляции метаболических сдвигов большое внимание уделяется оксиду азота (NO), в том числе донору NO – динитрозильным комплексам железа (ДНКЖ) [1]. В связи с этим при терапии ДНКЖ возникает необходимость количественной оценки продукции NO. Целью данного исследования было изучение особенностей метаболизма NO в крови, тканях печени и почек крыс с комбинированной термической травмой (КТТ) под влиянием ДНКЖ.

Материал и методы исследования. Эксперимент выполнен на крысах-самцах Wistar. Исследование проводили в соответствии с требованиями Европейской Конвенции ET/S 129, 1986 и директивам 86/609 ESC. Сформировано 3 группы: 1 – здоровые животные (n=10); 2 – животные с КТТ (контактный ожог на 20%

поверхности тела и термоингаляционное воздействие горячим воздухом и продуктами горения в течение 20–30 сек., n=10); 3 – животные с КТТ, ежедневно получавшие лечение в виде внутривенных инъекций 10%-ного раствора ДНКЖ (1 мл; 0,3 ммоль/л) (n=10). ДНКЖ получали по методике А.Ф. Ванина [2]. КТТ, вывод животных из эксперимента на 10 сутки после травмы путем декапитации проводили под наркозом (Zoletil 100 + Xyla VET). В плазме крови, гомогенате печени и почек оценивали концентрацию метаболитов NO – NO₂⁻ и NO₃⁻ при λ=540 нм спектрофотометрическим методом, основанном на реакции Грисса. Результаты исследований обрабатывали с использованием программы Statistica 6.0 (StatSoft Inc., USA).

Результаты и их обсуждение. Полученные результаты показали, что КТТ сопровождалась повышением концентрации конечных метаболитов NO в крови, но их снижением в субклеточных фракциях печени и почек крыс. На 10 сутки после КТТ содержание NO_x в плазме крови увеличилось на 105,61%, уровень нитритов – на 19,50%, нитратов – на 128,67% по сравнению со здоровыми животными. В цитоплазматической фракции клеток печени на 10 сутки после КТТ содержание суммарных метаболитов NO, нитритов и нитратов снизилось на 47,05%, 63,93% и 42,37% соответственно. В митохондриях клеток печени на 10 сутки после КТТ содержание суммарных метаболитов NO уменьшилось на 16,74%, нитритов – на 34,63%, нитратов – на 6,53% по сравнению со здоровыми животными. На 10 сутки после КТТ суммарная концентрация продуктов NO, нитритов и нитратов в цитоплазматической фракции почек снизилась на 47,92%, 77,34% и 32,50% соответственно. В митохондриях почек крыс также отмечено уменьшение конечных продуктов метаболизма NO на 10 сутки после КТТ: уровень NO_x снизился на 27,09%, нитритов – на 26,89%, нитратов – на 27,20% по сравнению со здоровыми животными. Наибольшее падение уровня NO_x, NO₂⁻ и NO₃⁻ при КТТ наблюдалось в цитоплазматической фракции почек, затем – печени. NO постоянно синтезируется в почках в эндотелии почечных сосудов, мезангиоцитах, эпителиальных клетках почечных канальцев, собирательных трубочек и в области плотного пятна [1]. Выявленное снижение концентрации стабильных конечных метаболитов NO в субклеточных фракциях органов крыс при КТТ может быть обусловлено уменьшением активности NO-синтазы или количества L-аргинина, а также нарушением нитрит-редуктазных механизмов синтеза молекулы NO.

Под влиянием ДНКЖ в плазме крови крыс с КТТ уровень суммарных стабильных конечных метаболитов NO (NO_x), нитритов и нитратов уменьшился на 11,86% (p=0,031), 5,34% (p=0,883) и 12,77% (p=0,025) соответственно по сравнению с показателями животных с КТТ без лечения. В цитоплазматической и митохондриальной фракциях печени под влиянием ДНКЖ при КТТ уровень суммарных стабильных конечных метаболитов NO (NO_x), нитритов и нитратов увеличился. Под влиянием ДНКЖ при КТТ в цитоплазматической фракции почек выявлено повышение уровня суммарных стабильных конечных метаболитов NO (NO_x), нитритов и нитратов на 33,20%, 26,83% и 34,32% соответственно. В митохондриальной фракции почек под влиянием ДНКЖ при КТТ уровень суммарных стабильных конечных метаболитов NO (NO_x), нитритов и нитратов повысился на 27,20%, 7,97% и 37,36% соответственно по сравнению с показателями животных с КТТ без лечения. Рост продукции NO в органах под влиянием ДНКЖ при КТТ может быть обусловлено стимуляцией изоформ синтаз NO.

Таким образом, применение ДНКЖ при КТТ оказало нормализующий эффект на уровень конечных метаболитов NO в крови и субклеточных фракциях печени и почек, что свидетельствует о возможности использования его в качестве терапевтического агента.

Список литературы. 1. Lok H.C. et al. Glutathione S-transferase and MRP1 form an integrated system involved in the storage and transport of dinitrosyl-dithiolato iron complexes in cells // Free Radic Biol Med. 2014. Vol. 75. P. 14-29. 2. Ванин А.Ф. Динитрозильные комплексы железа и S-нитрозотиолы – две возможные формы стабилизации и транспорта оксида азота (обзор) // Биохимия. 1998. Т. 63, № 7. С. 924-938.

ВЛИЯНИЕ ВНЕШНЕГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВОДЫ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ

EFFECT OF EXTERNAL EXPOSURE ON THE PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF WATER AND BIOLOGICAL SYSTEMS

Старожилова К.В.^{1,2}, Колосова Е.А.^{1,2}, Чиркова В.Ю.², Шарлаева Е.А.², Щербаков Д.Н.^{1,2}

¹ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор" Роспотребнадзора, 630559, р.п. Кольцово

² ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет», 656049, Барнаул, пр. Ленина, 61
ksenka0611@mail.ru

Любое внешнее воздействие на систему, будь то водные или биологические объекты, вызывает существенный отклик, проявляющийся для каждой системы по-разному. Несмотря на большое количество исследований по воздействию электромагнитных полей и излучений на биообъекты, механизм выявленных эффектов до конца не изучен. Представляет интерес изучить влияние полевого воздействия и излучений не только на биологические системы в целом, но и на ее отдельные элементы.

Проведенные исследования показали, что в результате воздействия электромагнитного поля на деионизованную воду изменяются ее объемные (электропроводность, показатель преломления, температура

кипения, скорость и теплота испарения), а также поверхностные свойства (поверхностное натяжение, краевой угол смачивания твердых поверхностей и коэффициент растекания). Эффективность электромагнитного воздействия зависит от частоты поля и времени его воздействия. В изученном диапазоне частот 30-200 МГц изменение свойств воды происходит лишь при определенных частотах поля. Причем смещение частоты на ± 1 МГц резко снижает эффект полевого воздействия. При увеличении времени облучения происходит постепенное изменение свойства до определенного предела, зависящего от частоты поля [1]. Электропроводность воды также возрастает, причем в наибольшей степени в результате воздействия поля частотой 170 МГц, ее нарастание наблюдается на протяжении 2 – 3 часов. После прекращения полевого воздействия электропроводность воды продолжает увеличиваться. За двое суток она возрастает еще в 2,5 раза. Поверхностное натяжение воды также измеряли после прекращения облучения. В течение двух суток оно практически не изменялось [2].

P. rhodozyma культивировали [3] в жидкой питательной среде при 17°C в течение 90 – 96 ч. до оптической плотности при 600 нм выше 1. Далее чистую культуру высевали газоном на твердую агаризованную среду с расчетом 10-20 колоний на чашки Петри (50-100 мкл), и инкубировали в термостате при 17°C в течение 16 ч. После инкубации посева, проводили мутагенез дрожжей УФ-излучением в диапазоне от 1 до 14 часов. Значительное увеличение окраски отдельных колоний наблюдалось после 9-часового облучения. Уже после однократного воздействия, более чем в 10 последующих пассажах облученной культуры, сохранилось свойство яркой окраски.

Кроме ультрафиолетового излучения, воздействовать на микроорганизмы могут и другие формы лучистой энергии. Гамма-излучение имеет высокую проникающую способность и может стимулировать отдельные жизненные функции при малых дозах облучения. После посева культуры, проводили мутагенез *P. rhodozyma* γ -излучением. После первого воздействия γ -излучением, отличий в морфологии и окраске колоний не наблюдалось. Однако далее культура приобретала более яркий цвет. Пересевы на новую питательную среду привели к закреплению яркой окраски. После пяти пассажей у культуры *P. rhodozyma* визуально наблюдалось углубление окраски, ее смещение с оранжевой в сторону красной. *P. rhodozyma* после воздействия γ -излучением сохраняет цвет не только от пассажа к пассажи, но и в течение срока хранения культуры. Было замечено, что мутагенная культура культивируется и набирает более насыщенный цвет, при более низких температурах. Кроме того, значительно увеличилась относительная скорость роста культуры. В связи с этим можно сделать вывод, что γ -облучение привело к качественному изменению состава культуры *P. rhodozyma*.

1. Стась И.Е., Чиркова В.Ю., Бессонова А.П. Изменение поверхностного натяжения воды и водных растворов бутанола в результате воздействия электромагнитного поля // Известия АлтГУ, 2012, № 3(1), стр. 150-153.
2. Иванова Н.Д., Чиркова В.Ю., Стась И.Е. Изменение физико-химических свойств ассоциированных жидкостей в результате воздействия электромагнитного поля // Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности: материалы X Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых с международным участием. Бийск, 24-26 мая 2017, с. 124-128.
3. Старожилова К.В., Колосова Е.А., Щербаков Д.Н. Получение высокоэффективного продуцента астаксантина на основе дрожжей *Phaffia rhodozyma* (*Xanthophyllomyces Dendrorhous*) // IV Международная конференция молодых ученых: биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов – 2017 : Сб. тез. / Новосиб. гос. ун-т. – Новосибирск: ИПЦ НГУ, 2017, стр.110-112.

МОДЕЛЬ ПОВЕДЕНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ В КРОВЯНОМ РУСЛЕ

MODEL ORIENTATION RBC IN BLOODSTREAM

Султанова Г.Г.

Институт Ботаники Национальной Академии Наук Азербайджана, Баку, E-mail:sultanqul@mail.ru

Проведен анализ литературных источников и результатов собственных исследований о роли деформации эритроцитов в процессе микроциркуляции. Показано, что в основе эффективной деформируемости эритроцитов лежат как свойства плазматической мембраны, так и сопротивления при течении в сосудистом русле. Механическое воздействие на эритроциты было смоделировано *in vitro* действием сил ультразвукового поля на клетки крови. Проведена аналогия поведения эритроцитов в кровотоке и в поле действия терапевтического ультразвука.

В кровяном русле при движении крови наблюдается действие механических факторов: сопротивление сосудов, определяемое сосудистым тонусом, вязкостью крови, напряжениями сдвига на стенке сосуда, изменения давления, а также синергизм действия сосудистых реакций и реологических факторов. При течении в сосудах кровь принимается как ньютоновская жидкость.

В циркуляторном русле эритроциты в силу своей эластичности принимают самую разнообразную конфигурацию, приспосабливаясь к форме сосуда или изменяясь под действием текущей плазмы. Важными

свойствами эритроцита являются деформируемость и агрегационная способность. Нормальной деформируемостью обладают лишь нормоциты. При нарушении этих свойств эритроцитов нарушается их упорядоченность в кровеносном русле, превращая ламинарное течение в турбулентное. В силу изменённых размеров, эритроциты, склеиваясь, могут существенно нарушать капиллярный кровоток в микрососудах. Эритроциты в отличие от других форменных элементов крови, наименее чувствительными к повреждающему действию ультразвука. Считается, что гемолиз УЗ вызывается либо кавитацией, либо высокими гидродинамическими напряжениями. Гемолиз может также происходить при терапевтических интенсивностях в случае коллапсирующей кавитации и в зонах турбулентных потоков [1]. Показано, что в используемом режиме озвучивания основные повреждающие факторы – акустические микротечения и сдвиговые напряжения не вызывают химических изменений в среде озвучивания. Получено что при действии внешних факторах на эритроциты меняются механические свойства их стромы. Получена зависимость этих параметров от свойств самих эритроцитов (возраст, форма, реология), от условий озвучивания, фактора воздействия и наличия патологии в организме [2]. При сравнении результатов по резистентности эритроцитов в кровяном русле (in vivo) и в поле действия УЗ волн (in vitro) нами была сделана попытка провести аналогию между этими процессами.

Известно, что сердечно - сосудистая система образована сосудами различных размеров и физико-химических характеристик, влияющих на кровоток и состав красной крови. При этом течение крови в различных участках кровеносной системы проходит с неравными скоростями и давлением, так как эритроциты в организме подвергаются механическим, гидродинамическим, биохимическим воздействиям. Наиболее оптимальным режимом воздействия ультразвука на эритроциты нами был выбран физиотерапевтический режим ($J=0.1-0.3 \text{ Вт/см}^2, f=0.88 \text{ МГц}$) используемый в медицинских учреждениях, т.к. в этих условиях не наблюдались негативные воздействия УЗ на клетки [3]. По-видимому в аорте и артериях течение крови происходит с высокой скоростью (кавитационный режим), в дальнейшем скорость кровотока уменьшается в венах и доходит до минимума в капиллярах (докавитационный режим). В то же время именно в капиллярах эритроциты подвергаются наибольшему риску разрушения, нежели чем в аорте и артериях. Нами предложена модель механического разрушения клеток в ультразвуковом поле, как аналог их разрушения в кровяном русле. Как в ультразвуковом поле (вихревые потоки, сдвиговые напряжения, микропотоки), так и при движении в кровяных сосудах (трения, соударения, вихревые движения, пульсация) имеет место действие механических факторов на клетки. Таким образом можно предположить что, в основе механизмов морфологических и функциональных повреждений биологических клеток ультразвуком лежат механические факторы – ударные волны, микропотоки и акустические течения что существенно знать для эффективного использования его в медицинских целях и микробиологической промышленности.

- 1 Н.Х. Шадрин 2013. О влиянии реологических и иогенных факторов на кровоток в резистивном сосуде. Российский журнал биомеханики. Т. 17, № 4 (62): 8–21
2. Vercaemst L. Hemolysis in cardiac surgery patient under going cardiopulmonary bypass: A review in search of a treatment algorithm // The J. of Extra Corporeal Technology. 2008. Vol. 40, № 4. P. 257–267.
3. Sultanova G. et al The action of some antineoplastic medicines on growth and metabolism of tumor cells *in vitro*. SYLWAN 2017, 161(1) p. 161-169

ВКЛАД НЕКОТОРЫХ ФЛАВОНОИДОВ В АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ *H. perforatum* ПОД ДЕЙСТВИЕМ МИЛЛИМЕТРОВЫХ ВОЛН

CONTRIBUTION OF SOME FLAVONOIDS TO THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF EXTRACTS OF *H. perforatum* UNDER INFLUENCE OF MILLIMETER WAVES

Тирацунян С.Г.¹, Оганесян А.А., Вардеванян П.О.¹

Российско-Армянский Университет ИБМиФ, Армения, Ереван, О. Эмина 123, E-mail: ashkhen.hovhannisyan@rau.am

¹Ереванский Государственный Университет, факультет биологии, А. Манукян 1, Ереван

Вторичные метаболиты растительного происхождения, в частности, флавоноиды, обладают широким спектром биологической активности и используются в терапии многих заболеваний [1]. Низкоинтенсивные электромагнитные волны (ЭМВ) также применяются в терапевтической практике [2] и биотехнологии [3, 4]. В отличие от химических методов, миллиметровые волны экологически безопасны. В настоящей работе исследовано действие миллиметровых волн 50.3 и 51.8 ГГц на антирадикальную активность экстрактов *H. perforatum*, и некоторых компонентов флавоноидной природы - кверцетина, рутина и морина.

Определение ОСФ осуществляли с использованием AlCl_3 , антирадикальную активность – по бличингу стабильного ДФПГ [5] радикала, измерением IC_{50} [6]. Определяли также индекс восстановления RIt_{50} . Эксперименты проводились с предварительно облученным экстрагентом, а также облучением экстракта.

Согласно полученным результатам как водные, так и этанольные экстракты *H. perforatum* проявляют антирадикальную активность относительно стабильного радикала ДФПГ. Оценивая значения IC_{50} , можно

заметить, что антирадикальная активность этанольных экстрактов выше, чем водных. Принимая во внимание, что содержание флавоноидов в этанольных экстрактах в девять раз выше, чем в водном экстракте, можно предположить, что в этанольных экстрактах АРА обусловлена флавоноидами, а в водном, главным образом, фитоконпонентами нефлавоноидной природы, например, терпеноидами.

При использовании заранее облученного экстрагента наблюдается значительное уменьшение в значении IC_{50} этанольных экстрактов (1,7 и 2,2 раза при облучении 50,3 и 51,8 ГГц, соответственно), в то время как водных – до 1,8 раза. Кинетический параметр этанольного экстракта возрастал в 1,6, а водного – в два раза. АРА кверцетина, полученного в заранее облученном экстрагенте повышается четырехкратно, а RI_{50} – в 1,6 раз. АРА рутин увеличивается в три раза, тогда как кинетический параметр практически не претерпевает изменений. Это говорит в пользу того, что основные изменения касаются С-кольца флавоноидов, где третье положение глюкозилировано в рутине. При облучении раствора морина наблюдаются незначительные изменения обоих параметров. Подобное различие между изменениями АРА и кинетического параметра у морина и кверцетина вероятно, связано с структурными различиями В-кольца.

Исследования непосредственного облучения экстрактов *H. perforatum* ЭВМ как 50,3 ГГц, так и 51,8 ГГц, выявили незначительные изменения антирадикальной активности. RI_{50} экстрактов возрастает. Антирадикальная активность кверцетина при облучении почти не меняется, тогда как значение RI_{50} повышается в 1,5 раза. IC_{50} рутин уменьшается более чем два раза, тогда как RI_{50} не претерпевает заметного изменения. Минимальная антирадикальная активность обнаружена у морина, которая возрастает при облучения (50,3 ГГц) - в 1,6 раза.

На основании полученных результатов, можно заключить, что изменения антирадикальной активности как экстрактов *H. perforatum* так и исследованных флавоноидов во время облучения миллиметровыми волнами, резонансными с водой, скорее всего вызваны изменениями структуры воды как первичной мишени. При этом наблюдается многократное повышение антирадикальной активности флавоноидов, зависящее также от их структуры. Полученные результаты могут иметь практическое значение, так как облучение экстрагента эффективнее отражается на антиоксидантных свойствах как экстрактов, так и их компонентов.

1. VanVliet D, Tachibana Y, Bastow K, et al. J. Med Chem. V. 44, N. 9, P. 1422-1430, (2001).
2. Betskii O, Lebedeva N. Low-intensity millimeter waves in Biology and Medicine. In: "Clinical application of Bioelectromagnetic Medicine", New-York, USA, Macel De-k Ker. Inc (2004).
3. Betskii O, et al. Journal of Science and Engineering. V. 23(4), P. 236-252, (2007).
4. Kalie M. Thesis of Doctor in Biological Sciences, Novgorod, RF, (2011).
5. Koleva I, Van Beek T, Linssen JPH, et al. Phytochem. Anal. V. 13, P. 8-17, (2002). Suja K., Jayalekshmy A., Arumughan C. Food Chem., V. 91, P. 213-219, (2005).
6. Suja K., Jayalekshmy A., Arumughan C. Food Chem., V. 91, P. 213-219, (2005).

ИММОБИЛИЗАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ И СУБСТРАТОВ СВЕЯЩИХСЯ БАКТЕРИЙ: ПОИСК МЕХАНИЗМОВ УВЕЛИЧЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ И ТОЧНОСТИ

IMMOBILIZATION OF ENZYMES AND SUBSTRATES OF LUMINOUS BACTERIA: MECHANISMS FOR INCREASING SENSITIVITY AND ACCURACY

Торгашина И.Г., Есимбекова Е.Н.¹, Климова К.В., Кратасюк В.А.

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», Красноярск, torira@mail.ru

¹ Институт биофизики Сибирского отделения РАН – обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН

В научных и прикладных исследованиях экологического мониторинга широко используются различные биотесты, позволяющие быстро и точно получать качественную оценку исследуемой пробы и оценить суммарный эффект загрязняющих веществ на тест-систему, в которых сенсорным элементом выступают различные ферментные системы, клетки и микроорганизмы. Перспективным является применение биолюминесцентных биосенсоров на основе ферментов фотобактерий. В том числе используются иммобилизованные ферменты светящихся бактерий, так как иммобилизация позволяет стабилизировать их активность при хранении и использовании. Одним из наиболее успешных методов иммобилизации является включение биферментной системы светящихся бактерий NADH:FMN-оксидоредуктаза - люцифераза в крахмальный гель с последующим высушиванием. В этом случае ферменты сохраняют высокую каталитическую активность при длительном времени хранения. В лаборатории фотобиологии Института биофизики СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН разработан реагент «Энзимолум», представляющий собой диски высушенного крахмального геля и включающий: ферменты NADH:FMN-оксидоредуктазу, люциферазу и субстраты NADH, тетрадеканаль. Реагент прост в использовании, так как для одного измерения требуется лишь добавление FMN и анализируемой пробы. Время анализа при использовании реагента «Энзимолум» составляет 2-3 минуты, что позволяет за короткое время анализировать большое количество проб. Однако процесс

иммобилизации приводит к снижению активности и чувствительности ферментов вследствие денатурации, а также к увеличению разброса значений активности ферментов при многократных измерениях. Цель работы состояла в поиске механизмов увеличения чувствительности и точности результатов анализа при совместной иммобилизации ферментов и субстратов светящихся бактерий.

Для увеличения чувствительности реагента «Энзимолюм» варьировали следующие условия иммобилизации: количество люциферазы и NADH в диске, молярность буферного раствора. Чувствительность реагента оценивали по величине концентрации полумаксимального ингибирования активности в присутствии модельного токсиканта сульфата меди. Показано, чувствительность реагента «Энзимолюм» увеличивалась при уменьшении количества люциферазы в диске. Концентрация полумаксимального ингибирования сульфатом меди составила 1,25 мг/л при количестве люциферазы в диске 0,2 мкг. Изменение молярности буфера, как и изменение количества NADH при проведении иммобилизации не привело к изменению чувствительности реагента. Таким образом, увеличение чувствительности реагента «Энзимолюм» возможно путем уменьшения количества люциферазы в диске.

Для увеличения точности результатов анализа при многократных измерениях в процедуре иммобилизации варьировали такие условия, как: способ пипетирования реагента, время перемешивания компонент реагента, режим высушивания. Разброс значений максимальной интенсивности свечения оценивали по коэффициенту вариации, рассчитанному как отношение среднеквадратического отклонения к среднему значению максимальной интенсивности свечения. При стандартных условиях иммобилизации: пипетирование системой Eppendorf epMotion 5075I, перемешивание в течение 50 секунд в вакуумном смесителе, высушивание в холодильной камере при температуре 8⁰С коэффициент вариации максимальной интенсивности свечения реагентов составляет более 25%, что затрудняет интерпретацию результатов анализа при многократных измерениях. Был изменен способ пипетирования геля с включенными ферментами и субстратами. Кроме системы Eppendorf epMotion 5075I была использована электронная пипетка Sartorius. Использование пипетки оказалось предпочтительней, поскольку обеспечило большую интенсивность свечения вследствие меньшего времени, затраченного на пипетирование, однако изменение способа пипетирования, как и увеличение времени перемешивания не привело к уменьшению разброса значений максимальной интенсивности свечения. Изменение температурного режима высушивания реагентов «Энзимолюм» в сторону увеличения температуры высушивания также не привело к увеличению точности результатов анализа. Поиск факторов при совместной иммобилизации ферментов и субстратов, влияющих на разброс значений максимальной интенсивности свечения реагентов «Энзимолюм» остается актуальным.

ПОВРЕЖДЕНИЕ ДНК ОГРАНИЧИВАЕТ ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ ОТВЕТ КЛЕТОК МЮЛЛЕРА НА ДЕЙСТВИЕ АЛКИЛИРУЮЩЕГО АГЕНТА В СЕТЧАТКЕ МЫШЕЙ

DNA DAMAGE RESTRICT THE PROLIFERATIVE RESPONSE OF MULLER CELLS TO ALKYLATING AGENT IN MOUSE RETINA IN VIVO

Тронов В.А., Некрасова Е.И.¹

Институт химической физики им. Н.Н.Семенова РАН, Москва, vtronov@yandex.ru

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

Регенерация сетчатки, наблюдаемая у амфибий, рыб и птиц, рассматривается как один из путей, направленных на терапию заболеваний человека, связанных с дегенерацией сетчатки. Одним из источников регенерации считаются глиальные клетки Мюллера (ГКМ). В ответ на дегенерацию и связанную с ней гибель ретинальных клеток, ГКМ, в норме покоящиеся, подвергаются де-дифференцировке, приобретают качества клеток-предшественников и вступают в клеточный цикл. В процессе деления они дифференцируются в разные типы ретинальных клеток, восстанавливая структуру и функцию сетчатки. Амфибии и рыбы полностью восстанавливают сетчатку, птицы – почти полностью. На способность ГКМ млекопитающих к регенерации существуют две точки зрения: 1 – ГКМ млекопитающих не способны к регенерации в силу их принципиальной неспособности к пролиферации; 2 – поскольку ГКМ способны к неограниченному делению в культуре, существуют какие-то факторы, ограничивающие их пролиферацию *in vivo*. Известно, что ГКМ в культуре способны даже дифференцироваться в нейроны и фоторецепторы. В то же время высокий уровень оксигенации сетчатки и клеточного метаболизма предполагают высокий уровень фоновой поврежденности ДНК в ней. Цель работы – определить повреждение ДНК в клетках Мюллера в связи с возможной причастностью этих повреждений к ограниченной пролиферации ГКМ *in vivo*. В качестве индукторов повреждения сетчатки были апробированы 4 алкилирующих агента, широко используемых в химиотерапии злокачественных опухолей различной природы – нимустин (ACNU), дакарбазин (DTIC), темозоломид (TMZ) и метилнитрозомочевина (МНМ). В результате показали, что они обладают ретинотоксическим действием *in vitro* и *in vivo* и располагаются по убыванию ретинотоксичности в ряд МНМ>TMZ>DTIC>ACNU. Поэтому в исследовании ГКМ использовали только МНМ. В ходе этих исследований решались следующие задачи: (1) разработать метод количественной оценки пролиферации клеток Мюллера в сетчатке у мышей в ответ на действие

метилнитрозомочевины (МНМ); (2) охарактеризовать цитотоксическое действие МНМ, как индуктора дегенерации сетчатки у мышей; (3) оценить пролиферативную активацию клеток Мюллера в сетчатке у мышей в ответ на действие МНМ в разной концентрации; (4) определить повреждение ДНК в клетках Мюллера у мышей; (5) проанализировать связь пролиферации ГКМ в сетчатке мышей с индуцированными повреждениями и репарацией ДНК. Методология. Работа проводилась на мышах, которым однократно вводили внутривентриально индуктор дегенерации сетчатки. Для маркирования ГКМ, оценки их пролиферации и повреждений ДНК через 24 ч вводили бромдезоксифуридин (BrdU) (2 дня по 2 инъекции в день). Из глаз извлекали сетчатку, из которой готовили клеточную суспензию и тканевые микросрезы. Использовались методы иммуногисто- и иммуноцитохимии, TUNEL-детекция апоптоза, метод ДНК-комет. ГКМ, содержащие BrdU, детектировали по флуоресценции моноклональных анти-BrdU антител, ассоциированных с флуорохромом Alexa594. Результаты. МНМ индуцировала в ДНК сетчатки метилирование оснований, которые репарируются с образованием однонитевых разрывов и щелочеллабильных сайтов как временных аддуктов, по которым прослеживали формирование и репарацию повреждений ДНК. Спустя 14 ч индуцированные повреждения ДНК удалялись полностью. С этого момента включение BrdU в ДНК происходило только в клетках ГКМ за счет репликативного синтеза в них. Через 24 ч после инъекции МНМ (доза 70 мг/кг) наблюдалась нарастающая во времени дегенерация сетчатки у мышей в виде апоптоза фоторецепторов. Максимальная скорость гибели приходилась на 72 ч. Все остальные клеточные слои сетчатки не претерпевали деструктивных изменений. В ответ на гибель фоторецепторов возрастало число BrdU-позитивных клеток в сетчатке. Достигало максимума $2\pm 1\%$ от общей клеточности сетчатки на 72 ч и не изменялось до 108 ч., что говорит об ограничении дальнейшей пролиферации ГКМ. К этому времени клетки Мюллера завершали цикл репликации и по результатам метода комет содержали в ДНК большое количество разрывов. Эти разрывы не вызваны прямым действием МНМ на сетчатку. В сетчатке, обработанной МНМ, иммуноцитохимически обнаружено 3-кратное увеличение экспрессии p53, маркера и сенсора разрывов ДНК. Одна из функций этого белка состоит в том, чтобы предотвратить вхождение в цикл клеток с большим количеством повреждений ДНК. Таким образом, наличие разрывов в ДНК, экспрессия p53 являются факторами, ограничивающими пролиферацию клеток Мюллера и, возможно, регенерацию сетчатки у мышей после ретинотоксического стресса.

ИНДУЦИРУЕМЫЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКИМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ ИММУНОГЕННЫЕ ПУТИ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ ПРИ НЕЙРООНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

PHOTODYNAMIC-INDUCED IMMUNOGENIC CELL DEATH IN NEUROLOGICAL DISEASES

Турубанова В.Д.^{1,2}, Ефимова Ю.В.², Мищенко Т.А.¹, Балалаева И.В.¹, Ведунова М.В.¹, Крысько Д.В.^{1,2}.

¹«Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»;

²Лаборатория исследования и терапии гибели клеток (CDIT), факультет анатомии и реабилитации человека, Гентский университет, Гент, Бельгия

Одним из наиболее распространенных типов опухолей головного мозга являются глиомы, которые характеризуются инвазивным ростом и способностью к быстрой пролиферации. Это делает их устойчивыми к современной противораковой терапии. Показана высокая эффективность фотодинамической терапии (ФДТ) при лечении опухолей головного мозга. Следует отметить, что успех лечения, по крайней мере частично, определяется тем, может ли ФДТ вызывать иммуногенную гибель клеток (ICD). ICD характеризуется выбросом молекулярных фрагментов, ассоциированных с повреждением (DAMP), что приводит к индукции сильных противоопухолевых иммунных реакций. Следовательно, при разработке новых стратегий лечения крайне важно выбрать такие терапевтические методы, которые индуцировали бы ICD и, таким образом, позволяли бы активировать противоопухолевый иммунный ответ, приводящий к наиболее полному разрушению опухолевых клеток.

Целью данной работы является анализ того, способны ли широко используемые в клинической практике фотосенсибилизаторы (фотодитазин и фотосенс) индуцировать все характеристики иммуногенной клеточной смерти. Важной задачей является подбор условий фотодинамического воздействия на клетки, которые приводили бы к ICD.

Определены оптимальные концентрации фотосенсибилизаторов с выраженным цитотоксическим действием на клетки глиомы линии GL261, но при этом не оказывающих патологического действия на первичные культуры клеток гиппокампа головного мозга мыши. Гибель клеток была вызвана фотодинамическим воздействием при использовании Фотосенса или Фотодитазина. Для этого клетки GL-261 или MCA-205 сначала инкубировали с 1,2 мкМ PD или 1,4 мкМ PS в бессывороточной среде в течение 4 часов, а затем облучали легкой дозой 20 Дж/см² в среде без фотосенсибилизаторов. Клетки, загруженные фотосенсибилизаторами, обрабатывали либо в темноте, либо при слабом освещении. После ФДТ клетки культивировали в нормальной среде в течение указанного периода времени и гибель клеток анализировали с

помощью МТТ или проточной цитометрии. Контрольные клетки культивировали в тех же условиях, но без фотосенсибилизаторов и ФДТ. Ингибиторным анализом проанализирован тип гибели клеток, вызванный ФДТ, выбраны фотосенсибилизаторы, ведущие к гибели клеток по пути апоптоза и ферроптоза. Нами показано, что умирающие / мертвые клетки GL261 эффективно поглощаются дендритными клетками, происходящими из костного мозга, и вызывают их созревание и активацию. Помимо этого, клетки, гибнущие при фотодинамическом воздействии, вызывают секрецию IL-12p70, что подтверждает иммуногенный характер смерти клеток.

Проведен анализ иммуногенности *in vivo* и показана способность клеток глиомы индуцировать защитный противоопухолевый иммунный ответ. Клетки линии MCA205, индуцированные ФДТ вводились подкожно в один бок мыши в качестве вакцины. В другой бок через 7 дней прививалась опухоль путем введения суспензии живых клеток MCA 205. Оценивалось наличие опухоли на прививаемой стороне и размер опухоли на другой.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 18-15-00279)

ФАЗОВЫЙ ПЕРЕХОД ТИПА ЖИДКОСТЬ-ЖИДКОСТЬ КАК ПРИЧИНА ГЕМОЛИЗА ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ОХЛАЖДЕНИИ

LIQUID-LIQUID PHASE TRANSITION AS A CAUSE OF ERYTHROCYTE HEMOLYSIS DURING COOLING

Ходько А.Т.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков, a.khodko4@mail.ru

Перевод биологической системы в состояние холододового анабиоза принципиально может сопровождаться двумя типами фазовых переходов (ФП) 1-го рода:

1. ФП типа жидкость-жидкость, в результате чего первично однородный раствор распадается на две и большее количество жидких фаз, отличающихся по концентрации компонентов.
2. ФП типа жидкость-кристалл, при котором изменяется фазовое и агрегатное состояние системы [1].

Процесс кристаллизации льда носит вторичный характер, т.е. становится возможным только после появления в первично гомогенном (истинном) растворе, в результате его жидкостного распада, фазы практически чистой воды. Молекула воды – это самая малая трехатомная молекула в природе и как следствие этого в кристаллическую решетку льда практически невозможно внедрить другие молекулы. Иными словами в кристаллическом состоянии вода не образует твердых растворов.

Оба типа этих ФП сопровождаются тепловыми и объемными эффектами, которые могут быть причиной разрушения клеток крови – гемолиза. Добавление в клеточную суспензию криозащитного раствора резко снижает гемолиз при реализации процедуры криоконсервирования. Выяснение механизмов криозащиты биологических объектов является одной из центральных проблем криобиологии. Однако для ответа на эти вопросы необходимо выявить наиболее значимые повреждающие факторы, которые имеют место в биологических системах при охлаждении в отсутствие криозащитных веществ. Фазовые переходы в цитоплазме априори вызывают наибольшие изменения в структуре клетки и целесообразно в первоочередном порядке изучить именно их возможную роль в криоповреждениях [2].

Цель данной работы – идентифицировать, какой тип фазового перехода реализуется в эритроцитах при охлаждении без добавления в систему криопротекторов.

Кристаллическому состоянию присуще явление оптической анизотропии, следствием которой является вращение плоскости поляризации проходящего света. В скрещенном положении поляризаторов свет не проходит через систему, но если между поляризатором и анализатором поместить объект, обладающий свойством вращать плоскость поляризации, то прохождение света через систему возобновится. На этом принципе основан использованный в данной работе метод определения фазового состояния вещества.

Донорская кровь заготовленная на антикоагулянте ЦФД центрифугировалась при 19000g в течении 10 минут, 20-25 мкл эритроконцентрата помещалось на поверхность чашки Петри из силикатного стекла.

Далее капля вводилась в соприкосновение с фильтровальной бумагой, что позволяло практически полностью удалить жидкую дисперсионную среду, уменьшить толщину слоя эритроцитов и тем самым снизить его оптическую плотность. Практически полное удаление дисперсионной среды позволяет минимизировать возможные повреждающие факторы со стороны раствора, в котором взвешены клетки.

Охлаждение системы производилось парами жидкой фазы азота под объективом минералогического поляризационного микроскопа МИН-8 до появления явных признаков фазового перехода.

В процессе охлаждения наблюдалось резкое потемнение клеток – критическая опалесценция, характерная только для ФП типа жидкость-жидкость, протекающего по механизму нуклеации – роста зародышей. При скрещении поляризаторов и при вращении столика Федорова не наблюдалось прохождения света, что указывало на отсутствие в системе кристаллической фазы.

После нагрева до комнатной температуры наблюдалось образование “лаковой крови” указывавшей на полный гемолиз эритроцитов. При повторном охлаждении уже гемолизированной крови кристаллизация также не наблюдалась. ФП типа жидкость-жидкость является процессом обратным по отношению к процессу смешения жидкостей, а последний часто сопровождается контракцией – уменьшением объема раствора по сравнению с суммой объемов исходных компонентов. Следовательно, увеличение объема цитоплазмы вследствие ФП, наиболее вероятно, может стать причиной разрушения клетки.

Таким образом, установлено, что при охлаждении исследуемой в данной работе криобиологической системы – высококонцентрированной взвеси эритроцитов реализовывался ФП типа жидкость-жидкость, протекавший по механизму нуклеации-роста зародышей. После нагрева экспериментального образца наблюдался полный гемолиз эритроцитов.

1. Тагер А.А. Основы учения о растворах неэлектролитов. – Екатеринбург: Издательство Уральского университета, 1993. 311 стр.
2. Khodko A.T. and Lysak Yu.S. Physicochemical processes in embryonic plant tissue during the transition to the state of cold anabiosis and storage at liquid nitrogen temperature // *Lou Temperature Physics*, 2017, v. 43, № 10, p. 1196-1200.

КОМПЬЮТЕРНАЯ ПРОГРАММА «ЛОКАЛЬНЫЙ УНИВЕРСАЛЬНЫЙ МОНИТОРИНГ» (LUM): ВОЗМОЖНОСТИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВОЗДЕЙСТВИЯ ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ НА ЦЕНТРАЛЬНУЮ НЕРВНУЮ СИСТЕМУ ЧЕЛОВЕКА

COMPUTER PROGRAM “LOCAL UNIVERSAL MONITORING” (LUM): OPPORTUNITIES FOR INVESTIGATING THE EXPOSURE OF EXTERNAL ENVIRONMENTAL FACTORS ON THE HUMAN CENTRAL NERVOUS SYSTEM

Хорсева Н.И.^{1,2} Григорьев П.Е.^{3,4}

¹ ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М.Эмануэля РАН Москва, Россия

² ФГБУН Институт космических исследований РАН, Москва, Россия sheridan1957@mail.ru

³ Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Россия.

⁴ Тюменский государственный университет, Тюмень, Россия grigorievpe@cfuv.ru

Неоспоримым преимуществом психофизиологических исследований является их неинвазивность, объективность. В настоящее время существует большой выбор диагностических комплексов и программных продуктов для изучения психофизиологических показателей, однако они не всегда отвечают требованиям надежности полученных результатов [1].

Тем не менее, наши многолетние исследования показали, что психофизиологические показатели хорошо отражают реакции центральной нервной системы на различные факторы внешней среды при наличии надежных диагностических «инструментов». Накопленные данные позволили нам разработать и успешно внедрить в практику нашей работы компьютерную программу «Локальный универсальный мониторинг» (LUM), позволяющую проводить широкий спектр исследований [2, 3]. Программное обеспечение выполнено на двух языках – русском и английском.

Использование данной программы позволило нам оценить воздействие факторов внешней среды.

В пилотном исследовании установлены закономерности изменения параметров простой слухо- и зрительно - моторных реакций в зоне с аномальным градиентом магнитного поля. Установлено, что показатели слухо-моторной реакции более чувствительны к внешним воздействиям, чем зрительно-моторные [4].

Сравнение 24 психофизиологических показателей, в том числе, параметры простой слухо- и зрительно-моторной реакции (ПСМР, ПЗМР); устойчивости произвольного внимания (УПВ), семантической и механической памяти (СП и МП) у иностранных и отечественных студентов-первокурсников статистически значимых различий не выявлено. Однако детальный анализ результатов позволил выявить индивидуально-типологические особенности как отечественных, так и иностранных студентов. Полученные результаты могут быть учтены как при формировании образовательной среды и повышении качества обучения, так и для психолого-педагогического сопровождения обучения иностранных студентов, особенно в период их адаптации к условиям обучения [5].

Особое место в ряду исследований занимает изучение влияния электромагнитного излучения мобильных телефонов на психофизиологические показатели детей и подростков. Лонгитюдные наблюдения позволили установить закономерности изменения параметров (ПСМР, ПЗМР, работоспособности, уровня развития мелкой моторики руки, устойчивости произвольного внимания и семантической памяти) в зависимости и режима пользования мобильным телефоном. Показано, что у детей – пользователей мобильной связью статистически значимо ухудшаются все психофизиологические параметры [6].

1. Хорсева Н.И., Григорьев П.Е. и др. Диагностика психофизиологических показателей. Диагностические комплексы и программные продукты: вопросы надежности результатов. Матер. Всероссийской школы-

- семинара «Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине- 2016» Саратов: Изд-во Саратовский источник, 2016. –227 с
2. Килесса Г.В., и др. «LUM (Локальный универсальный мониторинг)» //Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2012660066 от 8.11.2012
3. Хорсева Н.И., Григорьев П.Е. Возможности компьютерной программы LUM (Локальный универсальный мониторинг) для изучения психофизиологических показателей // Матер. Всерос. конф...«Когнитивные исследования на современном этапе» (КИСЭ-2018) 19-21 ноября 2018 г. Архангельск: САФУ, 2018.- С. 194-197.
4. Хорсева Н.И., Побаченко С.В. и др. Изменение показателей сенсомоторных реакций в условиях воздействия аномального геомагнитного поля (предварительные результаты) //Наука и технологические разработки.2016. Т. 95 №1 с 37-48
5. Григорьев П.Е. и др. Возможность использования компьютерной программы "Локальный универсальный мониторинг" (LUM) для оценки психофизиологической адаптации иностранных студентов к обучению в российских ВУЗах // Крымский ж. экспе. и клинич. мед. 2015, Т. 5, №4 (20), С. 22-25
6. Grigoriev Y.G., Khorseva N. I. A Longitudinal Study of Psychophysiological Indicators in Pupils Users of Mobile Communications in Russia (2006–2017): Children Are in the Group of Risk. Mobile Communications and Public Health (Edited by Marko Markov) 2019 Press is an imprint of Taylor & Francis Group, an Informa business, p. 237-253

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ ЛОНГИТЮДНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ MATHEMATICAL TREATMENT OF THE RESULTS OF LONGITUDE RESEARCHES

Григорьев П.Е.^{1,2}, Хорсева Н.И.^{3,4}

¹ Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Россия.

² Тюменский государственный университет, Тюмень, Россия grigorievpe@cfuv.ru

³ ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М.Эмануэля РАН Москва, Россия

⁴ Институт космических исследований РАН, Москва, Россия sheridan1957@mail.ru

При обработке рядов данных лонгитюдных исследований применяются различные статистические методы анализа для оценки изучаемых эффектов.

В наших исследованиях для выявления эффектов с квазипериодическими изменениями (например, влияние геомагнитной активности на психофизиологические показатели), мы используем метод наложения эпох [1,2]. В анализе результатов мониторинга изменений, в частности, простой слухо-моторной реакции при использовании мобильной связи, – величину тренда изменения данного показателя [3]. Однако в работах, посвященных изучению влияния тех или иных внешних факторов с явно циклическими изменениями (например, учебной нагрузки в течение учебного года), исследователи часто используют оценку корреляционных связей между показателями за весь период наблюдения. Но в этом случае, исходя из нашей практики, есть большая вероятность «потери эффекта». Она заключается в том, что при изучении, например, влияния учебной нагрузки на психофизиологические показатели, несмотря на цикличность изменения воздействующего фактора, которая, как правило, остается величиной постоянной в течение учебного года, анализируется весь ряд наблюдения целиком без учета возможных колебаний показателей психофизиологических от недели к неделе наблюдения.

В наших исследованиях мы опирались на изменения коэффициента корреляции между психофизиологических показателей и учебной нагрузкой за каждую неделю наблюдения. В этом случае мы получили мультивариантность этих изменений. У одних респондентов и величина коэффициента корреляции (КК) и знак не изменялись на протяжении всего наблюдения, у других – знак КК изменялся от отрицательного до положительного, что может указывать на мобилизацию эмоционально-волевых усилий при выполнении учебных заданий. У третьих – эти изменения были прямо противоположные, что может быть оценено как «вработываемость» [4]. Кроме того, такой подход, который заключается в анализе индивидуальных данных участников мониторинга не групповых изменений может дать основу для составления прогноза возможных изменений изучаемых параметров при воздействии различных факторов внешней среды.

Особое место в данном перечне использования статистических методов занимают таблицы сопряженности, которые позволили провести анализ уровня сформированности произвольного внимания и смысловой памяти у детей-пользователей мобильной связью. Хотя сила сопряженности анализируемых показателей была не очень сильная, но статистически значимая для различного уровня их сформированности [5].

Авторы выражают благодарность к.т.н., Леонову В.П. Центр БИОСТАТИСТИКА (E-mail: leo.biostat@gmail.com) за консультации и помощь в обработке результатов лонгитюдных наблюдений за изменением психофизиологических показателей детей пользователей мобильной связью.

1. Хорсева Н.И., Григорьев П.Е. Космическая погода и параметры механической памяти. // Актуальные проблемы транспортной медицины 2016, № 3 (45), с. 76-80

2. Хорсева Н.И., Григорьев П.Е., и др. Вопросы воспроизводимости результатов изучения космофизических факторов на центральную нервную систему человека // Биомедицинская радиоэлектроника 2017 №2 с 66-70
3. Хорсева Н.И. и др. Режим пользования мобильным телефоном и индивидуальные особенности проявления ипсилатеральных и контралатеральных эффектов простой слухо-моторной реакции у детей. мониторинговое исследование // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины 2018.-Т.8.-№1.- С. 93-99
4. Хорсева Н.И. и др. Влияние учебной нагрузки на психофизиологические показатели учащихся. Результаты самомониторинга обучающихся (пилотное исследование). // Проблемы современного педагогического образования.- Сборник научных трудов.- 2018 Ялта: РИО ГПА, 2018.-Вып.61.-Ч.2.- С.219-224
5. Grigoriev Y.G., Khorseva N. I. A Longitudinal Study of Psychophysiological Indicators in Pupils Users of Mobile Communications in Russia (2006–2017): Children Are in the Group of Risk . Mobile Communications and Public Health (Edited by Marko Markov) 2019 Press is an imprint of Taylor & Francis Group, an Informa business, p 237-253

ВЛИЯНИЕ БИС (2-ПИРИДИЛ)-3-(1,2,4-ТРИАЗОЛИЛ)ПРОПАНА НА БОЛЕВУЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ САМЦОВ И САМОК КРЫС

THE EFFECT OF BIS (2-PYRIDYL)-3-(1,2,4-TRIAZOLYL)PROPANE ON THE PAIN SENSIVITY OF MALE AND FEMALE RATS

Черетаев И.В., Раваева М.Ю., Чуян Е.Н., Шульгин В.Ф.

Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, E-mail: cheretaev86@yandex.ru

1,2,4-триазолы являются удобной матрицей для сборки биологически активных координационных соединений различной ядерности и топологии.

Цель работы – провести биоскрининг эффектов различных доз бис(2-пиридил)-3-(1,2,4-триазолил)пропана (БТП) на болевую чувствительность самцов и самок крыс.

Для эксперимента использовали 60 здоровых половозрелых самцов и 60 самок лабораторных крыс массой 180-200 г линии Вистар, содержащихся в стандартных условиях вивария с свободным доступом к воде и полноценному гранулированному корму. Было отобрано по 6 групп самцов и самок (10 особей в группе) со средней двигательной активностью и низкой эмоциональностью. Контрольной группе вводили внутривенно 0,9-% раствор хлорида натрия; пяти экспериментальным – БТП в дозах 5, 50, 100, 150 и 200 мг/кг соответственно. Биоскрининг эффектов БТП на болевую чувствительность крыс проводили через 1 час после инъекций в тестах «tail-flick» (ANALGESY-METER LE 7106, PanLab Harvard Apparatus, Испания), Рэндалла-Селитто (BIO-RPR, Bioseb, Франция) и «hot plate» (BIOCHIP, Bioseb, Франция) [1-5]. Достоверность различий между группами определяли однофакторным дисперсионным анализом (ANOVA) с апостериорным тестом Тьюки и критерием множественных сравнений Данна [1].

В тесте «tail-flick» выявлен анальгетический эффект БТП в дозе 200 мг/кг у самцов, и в дозах 5 и 50 мг у самок, выражавшийся в достоверном увеличении латентного периода отдергивания хвоста относительно контроля на 25.46, 40.7 и 41 % ($p \leq 0.05$) соответственно. Это свидетельствует об участии перцептуального компонента ноцицепции и спинального механизма регуляции болевой чувствительности в эффектах указанных доз БТП.

В тесте «щипцы», предназначенном для определения порогов механической болевой чувствительности, выявлен анальгетический эффект БТП у самцов в дозе 50 мг/кг, а у самок – в дозах 5 и 50 мг/кг. Эффект проявлялся в достоверном увеличении болевого порога в ответ на механическое сжатие хвоста «щипцами» относительно контроля на 26.9 % (самцы 50 мг/кг, $p \leq 0.05$), 39.4 (самки 5 мг/кг, $p \leq 0.05$) и 45.3 % (самки 50 мг/кг, $p \leq 0.001$) соответственно. Максимально выраженный анальгетический эффект проявлялся в дозе 50 мг/кг.

В тесте «hot plate» анальгетический эффект БТП был обнаружен в дозе 50 мг/кг только у самок крыс, у которых латентный период болевой реакции увеличивался на 36,4 % ($p \leq 0.05$). Это свидетельствует об участии супраспинальных механизмов в регуляции болевой чувствительности.

Таким образом, анальгетическое действие БТП проявляется в дозах 5 и 50 мг/кг, а максимальный эффект – в дозе 50 мг/кг. Наблюдаются гендерные различия в проявлении данного эффекта: самки более чувствительны к действию БТП. *Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-13-00024.*

1. Миронов А.Н., Бунатян Н.Д., Васильев А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Москва, Гриф и К, 2012.

2. Чайка А.В., Черетаев И.В., Хусаинов Д.Р. // Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия. 2015. Т. 1 (67). С. 161.

3. Espejo M.J. et al. A Model of Chronic Pain in the Rat: Functional Correlates of Alterations in the Activity of Opioid Systems // The Journal of Neuroscience. 1987. Vol. 7. P. 77.

4. Gulati A. et al. Determination of Adrenergic and Imidazoline Receptor Involvement in Augmentation of Morphine and Oxycodone Analgesia by Clonidine and BMS182874 // Pharmacology. 2011. Vol. 83. P. 45.

5. Randall L.O., Selitto J.J. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue // Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 1957. Vol. 111 (4). P. 409.

6. Woolfe G., Macdonald A.D. The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (Demerol) // J. Pharmacol. Exp. Ther. 1944. Vol. 80. P. 300.

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ ЕСТЕСТВЕННОГО И ИСКУССТВЕННОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА РИТМИКУ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

EFFECT OF ELECTROMAGNETIC FIELD OF NATURAL AND ARTIFICIAL ORIGIN ON RHYTHMICS OF PHYSIOLOGICAL PROCESSES

Чуян Е.Н.

ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», кафедра физиологии человека и животных и биофизики, Республика Крым, Симферополь, E-mail: elena-chuyan@rambler.ru

Исследование посвящено выявлению особенностей влияния электромагнитного поля естественного и искусственного происхождения на ритмику физиологических процессов.

В результате анализа гелиогеофизических параметров солнечной активности и на возмущенности геомагнитного поля и физиологических показателей позвоночных и беспозвоночных животных выявлена связь ритмики физиологических процессов с ритмикой гелиогеофизических индексов в разные фазы солнечной и геомагнитной активности. Установлено, что организм обладает способностью реагировать как на ритмические вариации солнечной активности, так и на возмущения геомагнитного поля. Магнитная буря и солнечная вспышка являются стресс-факторами, в ответ на которые в организме развивается стресс-реакция, проявлением которой является десинхроноз, что выражается в изменении структуры спектров (изменение числа выявляемых периодов и/или изменение их продолжительности), амплитудно-фазовых перестройках.

Обнаружено, что в условиях умеренного ферромагнитного экранирования у моллюсков *Helix aspersa* наблюдаются характерные изменения инфранианной ритмики параметров ноцицепции, что свидетельствует о развитии десинхроноза.

Воздействие переменного магнитного поля сверхнизкой частоты (ПемП СНЧ; частота 8 Гц, индукция 50 нТл) на животных, находящихся в условиях экранирования, препятствует развитию экранированного десинхроноза (спектр инфранианной ритмики параметров ноцицепции беспозвоночных животных становится более близким к таковому, выявленному у интактных моллюсков).

У позвоночных животных, находившихся в условиях хронической стресс-реакции (гипокинетический стресс), выявлено развитие внутреннего десинхроноза на фоне увеличения связи ритмики физиологических процессов организма с вариациями природного электромагнитного фона (внешняя синхронизация), что приводит к неблагоприятным изменениям изученных физиологических показателей под влиянием возрастания геомагнитной и солнечной активностей.

Низкоинтенсивное электромагнитное излучение миллиметрового диапазона (ЭМИ ММ; длина волны – 7,1 мм; частота излучения – 42,3 ГГц; плотность потока мощности – 0,1 мВт/см²) модифицирует и корректирует временную организацию физиологических систем. Действие ЭМИ ММ на позвоночных животных, находившихся в условиях хронической стресс-реакции на ограничение подвижности, способствует синхронизации физиологических процессов, что может быть одним из механизмов его антистрессорного действия.

При воздействии ЭМИ ММ уменьшается связь ритмики физиологических процессов организма с вариациями природного электромагнитного поля, а синхронизация физиологических процессов в инфранианном диапазоне осуществляется в большей степени низкоинтенсивным ЭМИ искусственного происхождения, чем естественного. Вероятно, поэтому реакция как интактного, так и находящегося в условиях стресс-реакции организма на геомагнитные возмущения на фоне облучения ЭМИ ММ становится более благоприятной.

Таким образом, экспериментально установлена взаимосвязь между ритмикой физиологических процессов у позвоночных и беспозвоночных животных и геофизическими факторами внешней среды. Доказано, что с помощью электромагнитного экранирования и низкоинтенсивных электромагнитных излучений (ЭМИ ММ; ПемП СНЧ) возможна коррекция нарушений, происходящих под влиянием гелиогеомагнитных возмущений. Изученные физические факторы не просто изменяют временную организацию физиологических процессов, но и модифицируют влияние гелиогеофизических факторов на характеристики физиологических процессов, т.е. в организмах с различным функциональным состоянием наблюдаются разнонаправленные сдвиги физиологических процессов при воздействии ЭМП с одинаковыми параметрами.

Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках инициативной части государственного задания № 6.5452.2017/8.9 Минобрнауки России в сфере научной деятельности темы «Временная организация физиологических систем человека и животных: феноменология и механизмы генерации и регуляции микро- и мезоритмов».

ДЕЙСТВИЕ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ПОКАЗАТЕЛИ ВЫЛУПЛЕНИЯ ЦИСТ АРТЕМИИ EFFECT OF LASER RADIATION ON ARTEMIA CYSTS HATCHING

Руднева И.И., Шайда В.Г.

Институт морских исследований им. А.О.Ковалевского РАН, Севастополь, e-mail: svg-41@mail.ru

В настоящее время физические поля находят все большее применение в разных областях деятельности человека, что создает необходимость тщательного изучения их биологических эффектов [1]. В то же время эти эффекты во многом зависят от физических характеристик полей, времени воздействия и биологических особенностей исследуемых организмов, а также «конечных точек», которые характеризуют ответные реакции объектов на тестируемые воздействия. Биологические эффекты лазеров, широко используемых в медицине для лечебных и диагностических целей, сельском хозяйстве для стимуляции проращивания семян и роста растений с целью повышения их урожайности, способны вызывать в организме фотохимические и фотофизические реакции, возникающие в тканях и клетках. Проявление биологических эффектов зависит от длины волны лазера (видимая область заключена в пределах 380-780 нм, ближняя ИК-область в пределах 780-1400 нм и дальняя ИК-область - более 1400 нм) и интенсивности излучения. На живой организм лазерное излучение оказывает тепловые, энергетические, фотохимические, механические эффекты и оно способно генерировать электромагнитное поле внутри клетки [2]. Совокупность этих воздействий способствует усилению метаболической активности клеток и тканей за счет активации клеточных мембран и возрастанию тока ионов через них, открытия белковых каналов и повышения скорости транспорта ионов. Получены данные о протекторном действии лазера на растения, произрастающие на загрязненных территориях. Это выразилось в увеличении их продолжительности жизни, их ткани были в меньшей степени подвержены некрозу, что говорит о положительном действии гелий-неонового лазерного излучения на растения [3].

Целью настоящей работы явилось исследование влияния лазерного излучения на процесс вылупления науплиев из цист артемии *Artemia sp.*, собранных в сентябре 2017 г. на берегу соленого озера Сасык-Сиваш (Крым). Отмытые и подсушенные цисты рачка помещали в металлический цилиндр и облучали с помощью гелий-неонового лазерного модуля размером 6 x 18 мм мощностью 5 мВт и длиной волны 650 нм. Расстояние до яиц артемии составило 10 см. После облучения яйца рачка помещали в стаканы, заполненные стерилизованной морской водой соленостью 18‰, и инкубировали в течение 24 и 48 час при температуре 25°C и перемешивании. Рассчитывали процент вылупления науплиев как отношение числа личинок к общему количеству яиц в инкубируемом образце [4]. Каждое определение проводили в трех повторностях, результаты обрабатывали статистически общепринятыми методами.

Результаты исследований позволили установить, что в контрольном варианте через 24 часа инкубации процент выклева науплиев составил $16.2 \pm 1.9\%$, а через 48 час - $51.0 \pm 3.7\%$. При облучении яиц рачка лазером в течение 1 мин через 24 час инкубации процент выклева уменьшался в 2 раза по сравнению с контролем и составил $7.5 \pm 0.3\%$, но через 48 час этот показатель достоверно не отличался от интактных цист ($48.4 \pm 5.3\%$). При облучении цист артемии в течение 5 мин через 24 час вылупления личинок не происходило, а через 48 часов в среде были обнаружены единичные науплии.

Таким образом, установленные эффекты действия лазерного излучения на процесс вылупления цист артемии зависели от времени воздействия излучения. При более длительной экспозиции наблюдали выраженный ингибирующий эффект, когда не происходило выклева личинок, либо их число было значительно снижено. В то же время облучение яиц рачка в течение 1 мин в период вылупления в течение 24 час также проявилось ингибирующее действие, но через 48 час процент вылупления был восстановлен до контрольных значений. Результаты исследований свидетельствуют о модифицирующем влиянии лазерного излучения на процесс эмбрионального развития артемии, что может быть использовано для целей аквакультуры и рыбоводства.

1. Goldman L. Applications of the Laser. Pub. location Boca Raton. Imprint CRC Press.2018. 332pp.
2. Politaeva N., Smyatskaya Y., Slugin V., Toumi A., Bouabdelli M. Effect of laser radiation on the cultivation rate of the microalgae *Chlorella sorokiniana* as a source of biofuel. // IOP Conf. Series:Earth and Environment5 Science. 2018. 115. 012001.
3. Каплан М.А // Радиобиология и радиоэкология. 1999. Т. 39, № 6. С. 683-691.
4. Van Stappen G. FAO Fisheries Technical Paper N 36. Use of cysts. 1996. P. 102-123.

ВЛИЯНИЕ ГИПОГРАВИТАЦИИ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ И ДВИГАТЕЛЬНЫХ НЕРВНЫХ ВОЛОКОН СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА МЫШЕЙ
HYPOGRAVITATION EFFECT ON MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF SENSORY AND MOTOR NEURONS OF SCIATIC NERVE IN MICE

Шаймарданова Г. Ф.^{1,2} Сальников В. В.¹ Гайсин И. А.² Васильева А. Р.²

¹Казанский институт биохимии и биофизики - обособленное структурное подразделение ФГБУН "Федеральный исследовательский центр "Казанский научный центр Российской академии наук" E-mail: gulnara-f-kzn@mail.ru

² Казанский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения РФ г. Казань

Одним из проявлений воздействия невесомости на человека является развитие гипогравитационного двигательного синдрома (ГДС), который характеризуется нарушениями во всех звеньях двигательной системы. Но если мышечный аспект ГДС исследован всесторонне и подробно, то изменения в центральной (ЦНС) и периферической нервных системах изучены недостаточно. Лишь относительно недавно получены существенные свидетельства того, что ЦНС играет ключевую роль в запуске и развитии ГДС. Имеющиеся данные показывают, что нарушения движений, силы и точности мышечных сокращений тесно связаны с нарушениями «мышечного чувства» - ощущения положения частей собственного тела относительно друг друга и в пространстве, что указывает на вовлеченность в ГДС сенсорных нейронов. В этой связи представляет интерес изучение морфологических характеристик и экспрессии функционально важных белков в двигательных и сенсорных волокнах периферических нервов.

Методом электронно-микроскопической иммуногистохимии получены данные о сдвигах в состоянии миелинизированных волокон проводящих путей седалищного нерва мышцы после 30-суточного антиортостатического вывешивания в сравнении с контрольной группой, находившейся в обычных условиях вивария. Охарактеризована реакция чувствительной и смешанной ветвей нерва на условия опыта. Во-первых, эти изменения затрагивают оба типа нервов и носят качественно сходный характер, заключающийся в относительном уменьшении числа волокон с тонким миелином и появлении волокон с избыточной миелинизацией. Во-вторых, в количественном отношении, реакция чувствительной ветви значительно более выражена по сравнению со смешанной. Более интенсивные изменения в чувствительной ветви могут быть, в свою очередь, следствием более ранней реакции чувствительных нейронов на гипогравитацию. Результаты количественной иммуногистохимии свидетельствуют также об изменениях в экспрессии агрина и аннексина V – белков, вовлеченных в регуляцию мембранных процессов. В сенсорной и смешанной ветвях изменения средней величины экспрессии обоих белков носят разнонаправленный характер: в смешанной ветви экспрессия увеличивается, а в сенсорной уменьшается.

В сравнении с результатами, полученными ранее при исследовании группы животных после 30-суточного космического полета [1], наблюдается сходство в изменении характера миелинизации аксонов седалищного нерва – избыточный рост толщины миелина при относительно постоянном аксональном диаметре, что выводит миелиновый индекс за пределы оптимальных значений. Подобные изменения могут иметь адаптационную направленность.

Таким образом, результаты настоящего исследования подтверждают вовлеченность в гипогравитационный синдром сенсорных нейронов и дают основания предполагать их опережающее реагирование по сравнению с двигательными.

Работа поддержана грантом РФФИ №17-04-01404

1. Резвяков П.Н., Шаймарданова Г.Ф., Лисюков А.Н., Кузнецов М.С., Исламов Р.Р., Никольский Е.Н. Морфологическое исследование миелиновых волокон седалищного нерва мышей после космического полета и последующей реадaptации к условиям гравитации на земле // Доклады Академии Наук 2018, Т 482, № 4, С. 475.

ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА СЕМЕННОЕ ПОТОМСТВО РАСТЕНИЙ, ВЫРОСШИХ В УСЛОВИЯХ РАЗНЫХ МОЩНОСТЕЙ ПОВЫШЕННОГО ЕСТЕСТВЕННОГО РАДИАЦИОННОГО ФОНА

EFFECT OF A PERMANENT MAGNETIC FIELD ON A SEED OF PLANTS GROWN IN THE CONDITIONS OF DIFFERENT POWER OF THE INCREASED NATURAL RADIATION BACKGROUND

Шашурин М.М.¹, Слепцов И.В.¹, Журавская А.Н.¹

Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения РАН, Якутск, inwertaza@mail.ru

Проведен эксперимент по выявлению воздействия постоянного магнитного поля на семена иван-чая узколистного, материнские растения которого произрастали в условиях разных мощностей повышенного естественного радиационного фона (МЭД ПЕРФ) - 50, 100, 300, 500 и 800 мкР/ч. Контролем служили семена растений, выросшие в условиях МЭД 20 мкР/ч. Эксперимент проводили в трех вариантах: 1) сухие семена родительских форм, выросших в условиях разных МЭД ПЕРФ; 2) предпосевная обработка магнитным полем с индукцией 120 мкТл сухих семян иван-чая узколистного с экспозицией в 24 часа; 3) обработка магнитным

полем с индукцией 120 мкТл, замоченных в воде в течение 3-х суток семян иван-чая узколистного с экспозицией в 24 часа.

Установлено, что энергия прорастания и всхожесть семян иван-чая узколистного, выросшего в условиях разных МЭД ПЕРФ и не прошедших предпосевную магнитную обработку, по мере увеличения МЭД произрастания родительских растений, повышается на 33÷88% (первый вариант). Предпосевная магнитная обработка семян (второй и третий варианты) также повысила всхожесть и появление настоящего листа у проростков, относительно контроля.

Следует отметить, что обработка магнитным полем с индукцией 120 мкТл, замоченных в воде в течение 3-х суток семян иван-чая узколистного с экспозицией в 24 часа, привела к снижению на 20-30% числа выживших проростков относительно взошедших семян

Показано, что обработка сухих семян иван-чая постоянным магнитным полем с индукцией 120 мкТл стимулирует в 2,1 – 2,9 раза накопление низкомолекулярных антиоксидантов и в 1,2 – 2,6 раза - малонового диальдегида в тканях проростков. Проростки семян иван-чая, выросшие из семян, замоченных в воде и обработанных магнитным полем (третий вариант), содержали на 10-40 % меньше НМАО, чем в контроле, а накопление МДА было выше контрольного значения на 10-50%.

Таким образом, предпосевная обработка семян иван-чая узколистного магнитным полем с индукцией 120 мкТл, влияет на синтез низкомолекулярных антиоксидантов в клетках проростков. Стимуляция или ингибирование процессов синтеза низко молекулярных антиоксидантов в проростках иван-чая зависит от состояния метаболизма семян на момент обработки их магнитным полем. Накопление малонового диальдегида (МДА) в проростках иван-чая, вероятно, не зависит от состояния метаболизма семян в момент обработки их магнитным полем. Отличия значений накопления МДА в проростках относительно контроля может быть обусловлено влиянием магнитного поля на биохимические процессы нами пока неисследованные.

Работа выполнена в рамках НИР VI.62.1. «Разработка биопрепаратов из тканей растений и животных Якутии на основе изучения особенностей их биохимического состава и механизмов адаптации к условиям Севера» (№ госрегистрации - АААА-А17-117020110055-3).

СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В РАЗЛИЧНЫХ СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА У ОБЛУЧЕННЫХ КРЫС И ВОЗМОЖНОСТЬ ИХ КОРРЕКЦИИ ЭКСТРАКТОМ ШАФРАНА

FREE RADICAL PROCESSES IN VARIOUS STRUCTURES OF THE BRAIN AT THE IRRADIATED RATS AND THE POSSIBILITY OF THEIR CORRECTION BY SAFFRON EXTRACT

Шукюрова П.А., Бабаев Х.Ф.

Институт Физиологии имени академика Абдуллы Караева, НАН Азербайджана, shukurovaparvana@gmail.com

Влияние ионизирующего и неионизирующего облучений на организм на клеточном и субклеточном уровнях, на весь организм в целом является одной из наиболее обсуждаемых областей современной радиобиологии. Биологическое действие ионизирующих излучений является совокупностью первоначальных процессов возбуждения и ионизации атомов или молекул с последующим образованием высокоактивных радикалов и перекисей, которые оказывают повреждающее влияние на клеточные структуры [1,2]. В современной радиобиологии утвердилось представление о существовании двух критических структур-мишеней - ДНК и биомембран, ответственных за лучевую гибель клетки. В процессе поглощения энергии ионизирующего излучения происходит резкая активация перекисного окисления липидов биомембран, приводящая к изменению активности мембрансвязанных ферментов, а также нарушению метаболизма циклических нуклеотидов, под контролем которых находятся биологические процессы гомеостаза и с помощью которых реализуется регуляторная функция гормональной системы организма [2].

В этой связи целью настоящей работы явилось изучение состояния свободнорадикального окисления (СРО) в различных структурах мозга облученных животных и способов антиоксидантной коррекции патологических нарушений при малых дозах радиационного воздействия (2 Гр), когда есть основания надеяться на ускорение реабилитационных процессов.

Эксперименты были проведены на крысах-самцах, которые были разделены на следующие группы: I группа — интактный контроль, II группа — рентгеновское облучение, III группа — экстракт шафрана+рентгеновское облучение. Животные III группы в течение 21 дня до облучения получали экстракт шафрана *per os* в дозе 120 мг/кг. Рентгеновское облучение проводили на аппарате «РУМ-17» при следующих условиях: напряжение 180 кВ, сила тока 15 мА, дозы облучения 2 Гр.

В работе исследовалась содержание гидроперекисей (ГП) и малонового диальдегида (МДА) в различных структурах головного мозга (продолговатый мозг, мозжечок, зрительная и сенсомоторная кора) в первый час, на 3 и 6 дни после облучения.

Проведенные исследования показали, что после облучения в дозе 2 Гр содержание продуктов ПОЛ повышается с первых часов облучения, причем интенсивность нарастает на 3 сутки наблюдения (в 2 раза), в

сравнении с величинами, полученными в группе интактного контроля. Однако, на 6-ой день наблюдения эти показатели превышают контрольные данные всего лишь в 1,5 раза. Предполагается, что в зависимости от продолжительности действия наблюдаемый процесс является результатом репродукции эндогенных антиоксидантных систем организма. Причем, если в подкорковых структурах фиксируются незначительные изменения, то в корковых структурах наблюдаются статистически достоверные различия.

Анализ экспериментальных данных показал, что введение шафрана в течение 21 дня животным 3-ей группы вызывает подавление интенсивности ПОЛ. Хотя, эти показатели ниже контрольных значений (на 2 %), однако, превышают значения, полученных для облученных животных (на 2,5%). К концу облучения (на 6-й день) наблюдается тенденция к снижению содержания ГП и МДА почти до уровня контроля, но в сравнении с группой облученных животных этот показатель выше на 2%.

Таким образом, в исследованных структурах мозга вследствие действия малых доз радиационного воздействия (2 Гр) содержание ГП и МДА изменяется и зависит от сроков воздействия. Профилактическое введение животным экстракта шафрана, повышая устойчивость к рентгеновскому облучению, приводит к снижению содержания продуктов ПОЛ и способствует коррекции некоторых биохимических нарушений, происходящих на фоне радиационных повреждений.

1. Кудряшов Ю.Б. Радиационная биофизика. - М.: Физматлит, 2004, 448с.
2. Новиков К.Н., Котелевцев С.В., Козлов Ю.П. Свободно-радикальные процессы в биологических системах при воздействии факторов окружающей среды: монография. – М.: РУДН, 2011, 199с

НАРУШЕНИЯ ФОРМИРОВАНИЯ МЕМБРАННЫХ КАНАЛОВ, ТРАНСПОРТИРУЮЩИХ ЙОДИДЫ, ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ НИЗКИХ ДОЗ ДДТ

IMPAIRED FORMATION OF MEMBRANE CHANNELS MEDIATING IODIDE TRANSPORT, BY LOW-DOSE EXPOSURE TO DDT

Яглова Н.В., Обернихин С.С., Назимова С.В., Яглов В.В.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека», Москва, e-mail: yaglova@mail.ru

Дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ) является самым распространенным на планете стойким органическим загрязнителем, опасность низкодозового воздействия которого связана с наличием у него свойств эндокринного дисраптора [1]. Показана его способность нарушать функционирование половых, надпочечных и щитовидной желез [2, 3]. Целью работы было изучить дисрапторное влияние низких доз ДДТ на формирование клетками щитовидной железы крыс мембранных каналов, транспортирующих йодиды.

Длительное воздействие низких доз ДДТ вызывало снижение продукции тиреоидных гормонов у крыс. Было установлено, что это связано с нарушением экспрессии в клетках натрий-йодного симпортера (НЙС), осуществляющего транспорт йодидов в тироциты, что вызывало реактивное усиление органификации йодидов в клетках. Восстановление продукции НЙС достигалось за счет активации пролиферативных процессов в железе, то есть увеличения клеток-продуцентов. Это указывает на невозможность клеток активировать экспрессию НЙС при продолжающемся воздействии ДДТ.

Было проведено дополнительное исследование, при котором аналогичному по срокам и дозам воздействию дисраптора подвергались крысы с первого дня постнатального развития до достижения пубертатного возраста и после наступления половой зрелости.

У самцов крыс контрольной группы в пубертатном периоде экспрессия фолликулярными тироцитами НЙС была стабильно высокой, особенно в периферических зонах долей щитовидной железы.

У самцов крыс, подвергавшихся воздействию низких доз ДДТ с первого дня постнатального развития, отмечалось снижение функциональной активности щитовидной железы. По сравнению с контрольной группой отмечалось статистически значимое снижение процента клеток с высокой экспрессией НЙС в периферических зонах долей. В центральной зоне долей, наоборот, отмечалось усиление экспрессии НЙС, но оно не достигало статистической значимости. Уменьшение синтеза НЙС в большей части паренхимы подтверждало и снижение его концентрации в сыворотке крови.

После достижения половой зрелости в фолликулярных тироцитах периферической зоны долей щитовидной железы крыс контрольной группы экспрессия НЙС не изменялась по сравнению с предыдущим сроком исследования. В центральной зоне долей экспрессия НЙС была менее выраженной по сравнению с периферической зоной.

После достижения половой зрелости у крыс опытной группы в периферических зонах долей не выявлено существенных изменений экспрессии НЙС, но отмечалось появление участков массивной гибели эпителия и деструкции фолликулов. По сравнению со значениями контрольной группы аналогичного возраста выявлено статистически значимое уменьшение высоко экспрессирующих НЙС фолликулярных тироцитов. Также отмечалось и снижение концентрации НЙС в системном кровотоке. Показатели тиреоидного статуса указывали на наличие у животных гипотиреоза.

Сравнение морфофункциональных изменений, происходящих в щитовидной железе крыс, подвергавшихся воздействию эндокринного дисраптора в половозрелом возрасте и с первых суток постнатального развития, показало, что у последних нормализации формирования мембранных каналов также не происходит, но пролиферативные процессы не активируются, то есть йод-аккумулирующая функция железы не восстанавливается, а, наоборот, значительно снижается, так как к нарушениям экспрессии НИС присоединяется гибель тироцитов. Это свидетельствует, что ДДТ нарушает формирование регуляторных механизмов в железе и делает ее неспособной на активацию пролиферативного ответа, наблюдавшегося у животных, подвергавшихся воздействию дисраптора в половозрелом возрасте.

Таким образом, дисрапторное действие ДДТ на щитовидную железу заключается в необратимом подавлении экспрессии тироцитами гликопротеина НИС, формирующего мембранные каналы для транспортировки йодидов, в начале в периферических, а затем и в центральных зонах долей щитовидной железы и нарушении развития компенсаторно-приспособительных реакций, направленных на восстановление железой йод-аккумулирующей функции.

1. Diamanti-Kandarakis E. et al. Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement // *Endocr. Rev.* 2009. Vol. 30. P. 293–342.
2. Gore A. C. et al. The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals // *Endocr. Rev.* 2015. Vol. 36. E1–E150.
3. Яглова Н.В. и др. // *Биомедицинская химия.* 2017. Т.63, вып.4. С.306-311.

СТРУКТУРА И ФАЗОВЫЕ ПЕРЕХОДЫ ВОДЫ ПО ДАННЫМ ОПТИЧЕСКОЙ МИКРОСКОПИИ

STRUCTURE AND PHASE TRANSITIONS OF WATER ACCORDING TO OPTICAL MICROSCOPY

Яхно Т.А.^{1,2}, Яхно В.Г.^{1,2}

¹Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород

²Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, yakhta13@gmail.com

Под структурой воды обычно подразумевают молекулярные сети и нанометровые молекулярные конструкции (кластеры), постоянно перестраивающиеся в пикосекундном масштабе времени. Эта информация основана на результатах молекулярного моделирования и малоуглового рентгеновского рассеяния. Начиная с конца прошлого века в литературе стали появляться свидетельства структурной неоднородности воды и на более высоком уровне иерархии – от единиц до сотен микрон. Эта неоднородность подтверждалась разными методами – лазерной интерферометрией, малоугловым светорассеянием, диэлектрометрией и резонансным методом, акустическим зондированием. Был высказан ряд гипотез о происхождении «гигантских водных кластеров», но ни одна из них не имела убедительных доказательств.

Мы провели исследование морфологии воды и водных растворов под оптическим микроскопом в тонком слое (~ 8 мкм), а также исследовали осадок после ее естественного испарения. Результаты подробно изложены в работах [1,2] и заключаются в следующем.

Неотъемлемым свойством воды (от сверхчистой до водопроводной) и водных растворов является их структуризация на микроуровне. Вода и водные растворы при комнатных условиях представляют собой дисперсные системы. Дисперсная фаза представлена кластерами жидкокристаллических сфер (ЖКС, средний диаметр 10-15 мкм), каждая из которых сформирована вокруг заправочной частицы – микрокристалла хлорида натрия. Толстый слой гидратной воды предохраняет соль от растворения. Такие структуры образуются в атмосфере и, наряду с прочими микропримесями, присутствуют в помещениях в виде пыли. Попадая в воду, ЖКС образуют ассоциаты разных размеров. При превышении определенного порога ионной силы раствора (например, в процессе испарения порции воды), ЖК вода гидратных оболочек начинает «таять», переходя в свободную воду, а соль – растворяться, обеспечивая повторный рост более крупных кристаллов в виде осадка на подложке. Сосуществование жидкокристаллической и свободной фаз воды в динамическом равновесии объясняет механизм сверхмедленных (околочасовых) колебательных процессов в жидких средах. При этом осмотическое давление, изменяющееся в результате данных фазовых переходов, выступает в роли «водителя ритма» и координатора процессов в объеме раствора [3]. Синфазно с ростом и разрушением водных микроструктур колеблется поверхностное натяжение исследуемого раствора на границе «жидкость – воздух» и механические свойства осадка испаряющейся жидкости. Жидкокристаллические водные сферы (ЖКС) проявляют свойства вязкой жидкости и испаряются при температуре выше 200°C. Повышение ионной силы раствора сопровождается коацервацией дисперсной фазы.

Известно, что различные энергетические (безреагентные) воздействия на воду приводят к одностороннему обратимому изменению ее физико-химических свойств: повышению pH, снижению поверхностного натяжения, повышению скорости ультразвука. Все эти изменения могут быть связаны с разрушением агрегатов ЖКС (возрастание дисперсности и межфазной поверхности, адсорбирующей протоны) и медленному возвращению к исходному состоянию после прекращения действия источника энергии, в соответствии с вектором уменьшения свободной энергии системы.

Показано, что бесструктурная на рассматриваемом уровне вода (дисперсионная среда) и микродисперсная фаза при замораживании (- 20° С) и последующем оттаивании (+ 25° С) ведут себя по-разному. Признаков оледенения дисперсной фазы в тонком слое замороженной воды не наблюдается, тогда как дисперсионная среда проявляет свойства обычного льда. В процессе оттаивания микродисперсная фаза образует рыхлые хлопья, «отмешиваясь» от жидкой фазы. Потеря талой водой значительного объема растворенных газов и микродисперсной фазы обуславливает изменение ее физико-химических свойств.

Проведенное исследование подтверждает сложившееся мнение о воде как об открытой неравновесной системе, которую следует рассматривать в контексте единства с окружающей средой. Микропримеси, которых невозможно избежать в реальной жизни, придают воде особые свойства и особую динамику, о которых необходимо знать, имея дело с этой удивительной субстанцией.

Работа выполнена при поддержке Министерства Образования и Науки РФ (грант № 14.Y26.31.0022).

1. Yakhno, T.; Yakhno, V. A study of structural organization of water and aqueous solutions by means of optical microscopy. // Crystals, 2019, 9(1), 52. DOI:10.3390/cryst9010052. <http://www.mdpi.com/2073-4352/9/1/52>
2. Yakhno, T.; Drozdov, M.; Yakhno, V. Giant Water Clusters: Where Are They From? // Int. J. Mol. Sci. 2019, 20, 1582; doi:10.3390/ijms20071582. <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/7/1582>
3. Tatiana A. Yakhno and Vladimir G. Yakhno. Water-induced self-oscillatory processes in colloidal systems by the example of instant coffee. // Journal of Basic and Applied Research International, 20(2): 70-83, 2017.

ОЦЕНКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МИНДАЛЯ В СОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ

EVALUATION OF PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL TRAITS OF ALMOND IN SALINE CONDITIONS

Saghfi S.^{1,4}, Akbarzadeh A.^{1,3}, Rahimova M.⁹, Mammadova L.^{1,2}, Eivazi A.^{1,5}, Kavetskiy T.^{1,7,8}, Khalilov R.^{1,2,6}

¹Joint Ukraine-Azerbaijan International Research and Education Center of Nanobiotechnology and Functional Nanosystems, Drohobych, Ukraine & Baku, Azerbaijan

²Department of Biophysics and Molecular Biology, Faculty of Biology, Baku State University, Baku, Azerbaijan

³Biotechnology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

⁴Department of Plant Physiology, Faculty of Biology, Baku State University, Z. Khalilov 23, Baku, Azerbaijan, e-mail: s.saghfi@yahoo.com

⁵Seed and Plant Improvement Research Department, West Azerbaijan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Urmia, Iran

⁶Institute of Radiation Problems, National Academy of Sciences of Azerbaijan, Baku, Azerbaijan

⁷The John Paul II Catholic University of Lublin, Lublin, Poland

⁸Drohobych Ivan Franko State Pedagogical University, Drohobych, Ukraine

⁹Department of Microbiology, Faculty of Biology, Baku State University, Baku, Azerbaijan

For evaluation of salinity stress effects on some physiological and biochemical responses of almond (*Prunus dulcis* Mill.) and also accessibility to promising tolerant genotypes, was carried out a statistical experiment based on *Completely Randomized Design* (CRD) with three replications and five treatments including: (0, 25, 50, 75 and 100 mmol.l⁻¹ NaCl) at *Sahand Horticultural Station* (Tabriz-Iran). In this research, experimental genotypes were collected among native almond population of South of Azerbaijan grown normally in natural salt affected regions and selected primarily based on morphological uniformity in nursery. Results showed that the leaf scorch threshold in almond genotypes was in relation with an accumulation of Na⁺ between 9-11 mg.g⁻¹ dry weights. Chlorophyll index and relative water content of leaf were decreased by the increase in salt level linearly (p≤0.01) but leaf temperature was not affected significantly at the same conditions. Also, leaf analysis results indicated that Na⁺ and Cl⁻ ions were increased in parallel with salinity whereas Mg²⁺ and Ca²⁺ ions had a non-significant decreasing trend and K⁺ was influenced irregularly. The mean of net CO₂ assimilation rate was 11.81 in control that reach down to 3.49 μmol.m⁻².s⁻¹ in plants treated with 75 mM NaCl. The stomatal conductance was limited highly by 25 mM salinity but was stabled in high concentrations of salt, conformity with stomata functional status observations. Also, an adverse trend of that was obtained for internal CO₂ concentration. Furthermore, was observed an enhancement trend for biosynthesis of free proline and anti-oxidant enzymes (catalase, peroxidase and ascorbat-peroxidase) activities. However, peroxidase activity had perfect conformity with salt accumulation rate in almond. According to the all results, it seems that the almond genotypes are not able to tolerate salt concentrations over 50 mM in soil even for duration of one growth season, however we succeeded to screen three genotypes (G₃₃, G₁₄ and G₇) as relative tolerant against salinity.

**Секция 12. Фотобиология.
Биофотоника.**

ВЛИЯНИЕ ПОЛЯРНОСТИ РАСТВОРИТЕЛЯ НА СПЕКТРАЛЬНО-ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ СВОЙСТВА ЦЕЛЕНТЕРАМИДА – ФЛУОРОФОРА ЦЕЛЕНТЕРАМИД-СОДЕРЖАЩИХ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ БЕЛКОВ

EFFECT OF SOLVENT POLARITY ON THE SPECTRAL AND LUMINESCENT PROPERTIES OF COELENTERAMIDE - FLUOROPHORE OF COELENTERAMIDE-CONTAINING FLUORESCENT PROTEINS

Алиева Р.Р., Герасимова М.А.¹, Кудряшева Н.С.

Институт биофизики СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, alieva_rosa@mail.ru

¹Сибирский федеральный университет, Красноярск

Целентерамид-содержащие белки являются продуктом биолюминесцентных реакций кишечнорастворимых, которые используются в качестве высокочувствительных репортеров в молекулярной диагностике – иммуноферментном и гибридационном анализе. Известно, что эти белки способны изменять цвет флуоресценции под действием различных факторов благодаря их фотохимической активности и способности образовывать несколько флуоресцентных эмиттеров. Для выявления физико-химических механизмов, лежащих в основе изменения цвета этих белков необходимо изучение флуоресцентных характеристик их флуорофора – целентерамида. Из литературных данных известны поглощение, флуоресценция, квантовый выход флуоресценции целентерамида в некоторых растворителях, но отсутствуют данные о времени жизни флуоресценции и влиянии полярности растворителя на спектральные свойства. Точное знание закона затухания флуоресценции может дать детальную информацию о взаимодействии флуорофора (целентерамида) с его окружением. В данной работе изучено влияние полярности растворителя на спектральные свойства целентерамида - флуорофора целентерамид-содержащих флуоресцентных белков.

В данной работе используются апротонные растворители, т.е. растворители которые не содержат гидроксильных или других групп, способных образовывать водородные связи. Был выбран ряд апротонных растворителей с уменьшающейся диэлектрической проницаемостью: ДМСО (47,16), ДМФА (38,34), ацетонитрил (36,02), ацетон (20,81), дихлорметан (8,91), этилацетат (6,19) и толуол (2,57). Были рассчитаны квантовые выходы флуоресценции, среднее время жизни флуоресценции, определены дипольные моменты основного и возбужденного состояния целентерамида с использованием методов сольватохромного сдвига (уравнения Липперта, Бахшиева, Чамма-Вайллета).

Установлено, что с уменьшением диэлектрической постоянной растворителя максимум флуоресценции целентерамида сдвигается в коротковолновую область на ~ 15 нм, а максимум поглощения сдвигается незначительно на ~ 4 нм. Наблюдаемые сдвиги в спектрах флуоресценции и поглощения говорят о том, что полярность растворителей меньше влияет на энергию основного состояния, чем на возбужденное. Это означает, что молекула целентерамида более стабильна в возбужденном состоянии, чем в основном и, следовательно, значение для основного состояния дипольного момента меньше по сравнению с возбужденным состоянием. Анализ данных показал, что имеет место специфическое взаимодействие целентерамид – апротонный растворитель.

Таким образом, обнаружено, что полярность растворителя влияет на спектрально-люминесцентные свойства целентерамида, и следовательно целентерамид может выступать в качестве индикатора полярности. Работа поддержана грантами РФФИ и правительством Красноярского края №18-44-242002 p_мк

ФОТОИНДУЦИРОВАННОЕ ВЫДЕЛЕНИЕ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА В МЕМБРАНАХ ПУРПУРНЫХ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ

PHOTOINDUCED SINGLET OXYGEN GENERATION IN MEMBRANES OF PURPLE PHOTOSYNTHETIC BACTERIA

Ашихмин А.А., Махнева З.К., Большаков М.А., Журавлева З.А., Москаленко А.А.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН, Московская область, Пушкино, AshikhminAA@gmail.com

Химические и физические свойства синглетного кислорода являются предметом повышенного интереса ученых в разных областях, в том числе и в фотобиологии. Помимо очевидного свойства этой молекулы к окислению пигментов фотосинтетического аппарата в настоящее время стало известно, что синглетный кислород может выполнять роль сигнальной молекулы, которая способна запустить синтез новых белков в клетке и быть инициатором апоптоза [1-3].

Цель данной работы – изучение возможности фотоиндуцированного выделения синглетного кислорода в мембранах пурпурных фотосинтезирующих бактерий. Объектами исследования явились мембраны ряда серных (*Alc. vinosum* шт. МГУ) и несерных (*Rba. sphaeroides* шт. 2R, *Rba. sphaeroides* шт. G1C, *Rba. blasticus* шт. K-1,

Rps. faecalis) бактерий, которые накапливают каротиноиды с различным количеством сопряженных двойных связей (СДС). С помощью ВЭЖХ было установлено качественное содержание основных каротиноидов в отобранных культурах: *Alc. vinosum* шт. МГУ, родопин (11 СДС) – 66%, спириллоксантин (13 СДС) – 16% и 3,4-дидегидрородопин (11 СДС) – 13%; *Rba. sphaeroides* шт. 2R, сфероиден (10 СДС) – 96%; *Rba. sphaeroides* шт. G1C, нейроспорин (9 СДС) – 99%; *Rba. blasticus* шт. К-1, сфероиден (10 СДС) – 81%; *Rps. faecalis*, 3,4-дидегидрородопин (11 СДС) – 41%, ликопин (11 СДС) – 36% и родопин (11 СДС) – 23%.

Облучение мембран проводили светом разного спектрального состава: красным (поглощение бактериохлорофилла, БХл) и белым (поглощение БХл и каротиноидов). Для оценки выделения синглетного кислорода была использована флуоресцентная ловушка Singlet Oxygen Sensor Green (SOSG), которая в обычном состоянии не флуоресцирует, а после избирательного взаимодействия с синглетным кислородом переходит во флуоресцирующую форму. Было установлено, что на красном свете выделения синглетного кислорода во всех использованных мембранах не происходит. Образование продукта окисления БХл (3-ацетил-хлорофилл) также не зафиксировано. Это указывает на то, что БХл в данном процессе не участвует. Наиболее существенные изменения наблюдались в спектре поглощения мембран *Alc. vinosum* шт. МГУ при их облучении белым светом: уменьшалась интенсивность полос Qu переходов БХл850 и БХл880, Qx перехода БХл590, полосы Core БХл и каротиноидов. Одновременно появился максимум поглощения продукта окисления БХл при 699 нм. Его появление ранее было обнаружено нами при химическом окислении БХл850 у *Alc. vinosum* шт. МГУ [4]. Изменения в спектре поглощения мембран *Rba. sphaeroides* шт. G1C под действием белого света менее выражены. В этом образце немного выцветали полосы поглощения БХл870, БХл800 и нейроспорина (максимумы при 427, 460 и 490 нм). В мембранах *Rba. sphaeroides*, *Rba. blasticus* шт. К-1 и *Rps. faecalis* незначительно выцветали полосы БХл в ближней ИК области. На основании полученных результатов предполагается, что на белом свете выделение синглетного кислорода может происходить за счет пигментов, поглощающих в сине-зелёной области спектра, т.е. каротиноидов с количеством СДС 8-11 (нейроспорин, сфероиден, ликопин и родопин).

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (проекты 18-04-00684_a; 17-04-00929_a; 18-34-00416_мол_a).

1. Berghoff, B.A. et al. Anoxygenic photosynthesis and photooxidative stress: a particular challenge for Roseobacter // *Environmental Microbiology*. 2011. Vol. 13. P. 775–791.
2. Kim, S. et al. Photochemistry of Singlet Oxygen Sensor Green // *The Journal of Physical Chemistry B*. 2013. Vol. 117. № 45. P. 13985–13992.
3. Vargas F. et al. Photoinduced Apoptosis by Photosensitizer Drugs. In: *Frontiers in Cell Apoptosis Research*. Edit. by Erlich S.R. 2007. Nova Sci. Publ., Inc., P. 173–185.
4. Махнева З.К. и соавт. Образование 3-ацетил-хлорофилла в светособирающих комплексах пурпурных бактерий при химическом окислении // *Биохимия*. 2016. Т. 81. № 2. С. 282–294.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ПРОЦЕССОВ В ТИЛАКОИДНЫХ МЕМБРАНАХ SYNECHOCYSTIS SP. PCC 6803 IN VIVO И ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ПО ДАННЫМ О НАРАСТАНИИ И СПАДЕ ИНДУКЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ

QUANTIFYING THE THYLAKOID MEMBRANE SYSTEM OF SYNECHOCYSTIS SP. PCC 6803 BASED ON THE FAST AND THE SLOW PHASES OF FLUORESCENCE INDUCTION IN VIVO AND AFTER EXPOSURE TO IONIZING RADIATION

Беляева Н.Е., Клементьев К.Е., Бульчев А.А., Пащенко В.З., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, каф. биофизики, Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, natalmurav@yandex.ru

В тилакоидных мембранах (ТМ) цианобактерий [1-4] индуцируемый светом перенос электронов и протонов происходит аналогично процессам в электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) ТМ хлоропластов листьев [5] и водорослей. Однако, цианобактериальные ТМ (ЦБ-ТМ), разделяющие люмен и цитоплазму, включают компоненты как ЭТЦ, так и дыхательной цепи [1-4,6,7]. Фотосинтетический, и респираторный электронный транспорт взаимосвязаны в потоках зарядов системы ЦБ-ТМ и участвуют в процессах притока и оттока электронов в пул пластохинонов / хинолов (PQ/PQH₂) [6]. Свето-индуцируемые процессы переноса электронов и протонов определяют характер кинетических сигналов при наблюдении световой индукции образцов с различной организацией ТМ. Известно, что кинетические особенности индукции флуоресценции (ИФ) у цианобактерий отличаются от характеристик ИФ листьев и водорослей [1]. Кривые ИФ клеток *Synechocystis sp.* PCC 6803 (*Synechocystis*) *in vivo* и после облучения (α -частицы, 27 МэВ, 30 кГр) измерены нами в интервалах: от микросекунд до 10 минут для актиничного света 3000 мкмоль квантов·м⁻²·с⁻¹ ($\lambda=630$ нм) и до 2-х секунд - 1000 мкмоль квантов·м⁻²·с⁻¹ ($\lambda=455$ нм). Кинетические данные воспроизведены в расчетах путем параметризации модели тилакоидной мембраны (модель «Тилакоид») [5], отлаженной с целью описания процессов ЦБ-ТМ.

Респираторный электронный транспорт активен в темноте, поэтому содержание восстановленного PQH_2 у цианобактерий *Synechocystis* PCC 6803 в темновом состоянии значительно выше, чем у зеленых растений. Соответственно, модель «Тилакоид» показала, что быстрая ОЖ фаза нарастания ИФ после 10 минутной темновой адаптации обусловлена сравнительно высокой (20–40%) степенью восстановления PQ/PQH_2 пула *Synechocystis*. Низкие значения F_m / F_0 (< 1.5), наблюдаемые для кривых ИФ, воспроизведены в расчетах при определении для фотосистемы II (ФС II) *Synechocystis* параметров переноса электронов в закрытых (первичный хинон Q_A^- восстановлен) реакционных центрах (РЦ). Вклад невариабельной ФЛ, в т.ч., от Хл *a* фотосистемы I (ФС I) в F_0 уровень фикобилисом (ФБС) –содержащих ЦБ-ТМ увеличен до ~40% по сравнению с ~10% листьев гороха [5]. Расчеты при стехиометрии PS I:PS II:ферредоксин = 1.5:1:1.25 обеспечили модельный ход редокс превращений P700 РЦ ФС I в соответствии с измерениями поглощения ΔA_{810} для P700 *Synechocystis in vivo* [4].

Динамика индукционных ОЛPSMT изменений флуоресценции *Synechocystis*, наблюдаемых на свету средней и высокой интенсивностей, различна, что приводит к отличиям в описании адаптации к свету системы ЦБ-ТМ. Эффекты «State transitions» в переходах 1→2 и 2→1 [1-3,7] включены в модель «Тилакоид» в предположении, что ФБС антенн мобильны при освещении. Спад флуоресценции на стадиях PSMT при высокой интенсивности потока квантов света фитировали путем моделирования эффекта qT тушения [3] как «State transitions» 1→2 при росте доли ФБС -антенн у комплексов ФС I за счет доли у ФС II. Обратный перенос антенн «State transitions» 2→1 моделировали как фактор нарастания PSMT фазы на временах порядка минут для средней освещенности [7]. В расчетах хода ИФ облученных (30 кГр) клеток *Synechocystis* со сниженным показателем F_m / F_0 выявлено уменьшение сечения поглощения ФБС – антенн. Изменения в состоянии облученных клеток *Synechocystis* по сравнению с *in vivo*, вероятно, проявляются в резком снижении их адаптации к сильному свету и сохранении функциональной активности при слабом освещении.

1. Papageorgiou GC, Tsimilli-Michael M, Stamatakis K (2007) The fast and slow kinetics of chlorophyll *a* fluorescence induction in plants, algae and cyanobacteria: a viewpoint. *Photosynth Res* 94:275–290
2. Peschek GA, Obinger Ch, Renger G (eds.), *Bioenergetic processes of cyanobacteria*, 2011, Springer, Dordrecht.
3. Demmig-Adams B, Garab G, Adams W, Govindjee (eds) *Non-photochemical quenching and energy dissipation in plants, algae and cyanobacteria*. 2014, Springer, Dordrecht
4. Bulychev A, Cherkashin A, Muronets E, Elanskaya I (2018) Photoinduction of electron transport on the acceptor side of PSI in *Synechocystis* PCC 6803 mutant deficient in flavodiiron proteins Flv1 and Flv3 *BBA* 1859:1086
5. Belyaeva N, Bulychev A, Riznichenko G, Rubin A (2019) Analyzing both the fast and the slow phases of chlorophyll *a* fluorescence and P700 absorbance changes in dark-adapted and preilluminated pea leaves using a Thylakoid Membrane model. *Photosynthesis Research* 140 pp. 1-19.
6. Mullineaux, C.W., 2014. Co-existence of photosynthetic and respiratory activities in cyanobacterial thylakoid membranes. *BBA* 1837, 503–511.
7. Bernát G, Steinbach G, Kaňa R, Govindjee, Misra A, Prašil O (2018) On the origin of the slow M–T chlorophyll *a* fluorescence decline in cyanobacteria: interplay of short-term light-responses *Photosynth Res* 136:183

СВЕТСОБИРАЮЩИЕ КОМПЛЕКСЫ LH2 ИЗ СЕРНОЙ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩЕЙ БАКТЕРИИ THIORHODOSPIRA SIBIRICA KIR-3 С РАЗНЫМ УРОВНЕМ СОДЕРЖАНИЯ КАРОТИНОИДОВ И ИХ СВОЙСТВА

CAROTENOIDLESS LIGHT-HARVESTING COMPLEXES LH2 FROM SULFUR PHOTOSYNTHESISING BACTERIUM THIORHODOSPIRA SIBIRICA KIR-3 AND THEIR PROPERTIES

Большаков М.А., Ашихмин А.А., Махнева З.К., Журавлева З.А., Москаленко А.А.
Институт фундаментальных проблем биологии РАН ФИЦ ПНЦБИ РАН, lfbv22@gmail.com

Фотосинтез — это процесс, с помощью которого растения и бактерии способны преобразовывать солнечную энергию в энергию химических соединений (АТФ). Первый этап этого процесса начинается с поглощения квантов света и протекает в специализированных светособирающих пигмент-белковых комплексах (LH1-RC и LH2). От указанных комплексов зависит эффективная работа всех метаболических процессов в клетке. Основным пигментом в данных светособирающих комплексах является бактериохлорофилл (БХл), который осуществляет основную функцию фотосинтеза – эффективное улавливание солнечного света. Каротиноиды выполняют роль вспомогательных пигментов. Они присутствуют в мембранах всех фотосинтезирующих организмов и, в процессе фотосинтеза, выполняют ряд функций: расширение диапазона поглощаемой энергии света, стабилизация структуры светособирающих комплексов, а также защита БХл от фотоокисления. В структуре светособирающих комплексов молекулы каротиноидов располагаются в пространстве между α - и β -полипептидами, в так называемом “гидрофобном кармане” и формируют множество межмолекулярных взаимодействий с полипептидами и БХл. Для изучения различных аспектов

функционирования каротиноидов в бактериальных светособирающих комплексах необходимо сравнивать свойства этих комплексов с каротиноидами и без них.

Поиск пурпурных серных бактерий, у которых можно полностью ингибировать биосинтез каротиноидов, является важной задачей, поскольку это позволит лучше понять механизм сборки этих комплексов *in vivo*, а также, только подавив биосинтез каротиноидов, можно провести сравнительный анализ и установить свойства и механизмы функционирования каротиноидов в светособирающих комплексах. Для пурпурных серных бактерий эффективным способом получения бескаротиноидных клеток является метод ингибирования биосинтеза каротиноидов, например, с помощью дифениламина (ДФА). Преимущество этого метода заключается в подавлении биосинтеза каротиноидов при сохранении в клетках полного набора антенных комплексов LH1-RC и LH2 с нативными спектральными характеристиками. Однако этот метод имеет ограничения и успешно применяется только для некоторых пурпурных серных бактерий: *Alc. vinosum* штамм МГУ (старое название *Allochromatium minutissimum*) и *Ectothiorhodospira (Ect.) haloalkaliphila*.

Объектами исследования явились пигмент-белковые комплексы LH2 пурпурной серной бактерии *Thiorhodospira (T.) sibirica* Kir-3. Особенностью этой бактерии является то, что в ее мембранах содержатся комплексы LH2 типа В800-830 и В800-850, которые собираются без изменений вне зависимости от условий культивирования. Поэтому целью данного исследования было получение комплексов LH2 (В800-830 и В800-850) из *T. sibirica*, которые содержали бы минимально возможное количество каротиноидов и изучение их свойств.

Было показано, что у *T. sibirica* штамм Kir-3 можно подавить биосинтез каротиноидов на ~ 90%. Таким образом, эта бактерия может рассматриваться как объект для изучения роли и функций каротиноидов в светособирающих комплексах LH2 типа В800-830 и В800-850. Также были получены фотосинтетические мембраны и комплексы с разным качественным и количественным содержанием каротиноидов (10-100%) и изучен их пигментный состав. В выделенных комплексах проведена оценка эффективности переноса энергии с каротиноидов на БХл. Зарегистрированы спектры поглощения и кругового дихроизма (КД). Установлено, что изменения в качественном и количественном составе каротиноидов не влияют на сборку комплексов В800-830 и В800-850. Предполагается, что в популяции ДФА-комплексов LH2 из *T. sibirica* могут собираться как бескаротиноидные комплексы, так и комплексы, содержащие одну-две молекулы каротиноидов. Эти результаты указывают на то, что каротиноиды не являются обязательным компонентом для сборки комплексов В800-850 и В800-830. Кроме того, результаты данной работы подтверждают наше предположение о том, что *in vivo* могут существовать разные места сборки светособирающих комплексов, которые обслуживаются ферментными ансамблями биосинтеза каротиноидов.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (проекты 18-34-00416_мол_а; 18-04-00684_а; 17-04-00929_а). Авторы выражают благодарность Мельнику Б.С. (Институт белка РАН) за измерение спектров КД.

ВЛИЯНИЕ КОГЕРЕНТНОСТИ СВЕТА НА ФОТОИНДУЦИРОВАННУЮ РЕАКЦИЮ КЛЕТОК EFFECT OF COHERENCE OF LIGHT ON PHOTOINDUCTION REACTION CELLS

Будаговский А.В.^{1,2}, Будаговская О.Н.^{1,2}, Будаговский И.А.³, Маслова М.В.¹, Грошева Е.В.¹

¹ФГБОУ ВО "Мичуринский государственный аграрный университет", г. Мичуринск, budagovsky@mail.ru

²ФГБНУ "Федеральный научный центр имени И.В. Мичурина", г. Мичуринск

³ФГБНУ "Физический институт имени П.Н. Лебедева РАН", г. Москва

Принято полагать, что статистические (когерентные) свойства света не влияют на фотоиндуцированную реакцию клеток. Такая точка зрения опирается на результаты экспериментов, в которых сравнивали действие так называемого когерентного и некогерентного излучения [1, 2]. Источником когерентного света служили лазеры, некогерентного - тепловые или газоразрядные лампы, из спектра которых вырезали узкую линию с максимумом на длине волны генерации лазера. В обоих случаях были получены близкие по величине стимуляционные эффекты, однако считать это доказательством нечувствительности клеток к когерентности света нельзя. После пространственно-временной фильтрации излучения теплового источника в полученном квазимонохроматическом пучке статистическая упорядоченность волнового поля может оказаться достаточно высокой для получения сопоставимого с вариантом лазера фотоиндуцированного ответа. Аналогичная ситуация имела место при сравнении светодиодного излучения, которое считали некогерентным, и лазерного [3]. Что бы разрешить возникшее противоречие необходимо перейти от качественных оценок "когерентный - некогерентный" к количественному анализу когерентных параметров и введения некоего биологически обусловленного порога дискриминации статистических свойств света.

Эксперименты, проведенные нами на бактериях, грибах и растениях показали, что наиболее выраженную реакцию можно наблюдать, если клетки полностью помещаются в объеме когерентности поля светового пучка с определенными энергетическими параметрами (длина волны, плотность мощности, длительность облучения). Установлено, что стимуляционный эффект зависит как от временной, так и

пространственной когерентности [4], а условие его надёжного проявления описывается соотношением $L_{coh}, r_{cor} \geq D$, где L_{coh} - длина когерентности, r_{cor} - радиус корреляции, D - эффективный размер клетки. Используя данную закономерность, становится возможным управлять взаимодействием различающихся по размеру клеток. Например, при сокультивировании в чашках Петри колоний бактерии рода *Pseudomonas* и гриба *Fusarium microcera* кратковременное (2...4 мин) воздействие низкокогерентного света ($L_{coh}, r_{cor} \leq 5$ мкм) вызвало селективное ускорение роста более мелких клеток бактерий на фоне торможения развития колоний гриба. Такое же по энергетическим параметрам, но более когерентное излучение с $L_{coh}, r_{cor} \geq 20$ мкм привело к обратному результату: активизации *F. microcera* и, как следствие, ограничению роста колоний бактерий. Таким же образом, с помощью изменяемой пространственно-временной когерентности светового пучка, удавалось влиять на ценоотические отношения патогенных грибов и растений, клетки которых различались по размеру.

Зависимость реакции клеток от когерентных свойств излучения предполагает наличие фазового детектора, т.е. системы способной различать корреляцию фаз фотонного коллектива. На такую роль могут претендовать белок-мембранные комплексы фоторегуляторного механизма клеток. Учитывая, что во всех экспериментах использовали красный свет в спектральной области фотоконверсии фитохрома-В можно предположить участие этого хромопротеина не только в трансдукции светового сигнала, но и оценке его когерентности. Подтверждением вывода может служить недавно обнаруженное явление квантовой когерентности при переносе электронно-возбуждённых состояний в фотосинтетическом процессе [5, 6].

1. Karu T Ī, Kalendo G S, Letokhov V S and Lobko V V. Biological action of low-intensity visible light on HeLa cells as a function of the coherence, dose, wavelength, and irradiation regime // Soviet Journal of Quantum Electronics. 1983. V. 13. N 9. P. 1169.
2. Lobko V.V., Karu T.I., Letokhov V.S. Is the coherence of laser light of low intensity essential on exposure of biological specimens. // Biophysics. 1985. V. 30. N 2. P. 400-407.
3. Klebanov G.I., Shuraeva N.Yu., Osipov A.N., Vladimirov Yu.A., Chichuk T.V. A comparative study of the effects of laser and led radiation on lipid peroxidation in rat wound fluid // Biophysics. 2006. V. 51. N 2. P. 285-291.
4. Budagovsky A.V., Solovykh N.V., Yankovskaya M.B., Maslova M.V., Budagovskaya O.N., Budagovsky I.A. Effect of spatial coherence of light on the photoregulation processes in cells // Phys. Rev. E. 2016. V. 94 (1), P. 012411.
5. Romero E, Augulis R, Novoderezhkin VI, Ferretti M. Quantum coherence in photosynthesis for efficient solar-energy conversion // Nature Physics. 2014. Advanced online publication. DOI:10.1038/nphys 3017.
6. Lambert N., Yueh-Nan Chen, Che-Ming Li, Guang-Yin Chen, Nori. F. Quantum biology // Nature Physics. 2013. V. 9. P. 10-18.

РАДИОЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЛАЗЕРНЫХ ИЗЛУЧЕНИЙ С ДЛИНАМИ ВОЛН 633 И 532 НМ НА КЛЕТКИ ФИБРОБЛАСТОВ МЫШЕЙ

RADIOPROTECTIVE EFFECT OF LASER RADIATION WITH WAVELENGTHS OF 633 AND 532 NM ON MURINE FIBROBLAST CELLS

Восканян К.Ш., Рзянина А.В., Мицын Г.В., Гаевский В.Н.

Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна, Россия, voskan@jinr.ru

Проведенные ранее нами исследования показали, что как предварительное и последующее, так и одновременное с лазерным излучением (с длиной волны 633 нм) облучение фибробластов мышей приводит к увеличению выживаемости клеток, подвергшихся воздействию γ - излучения или протонов. Максимальный радиозащитный эффект наблюдался при плотности энергии лазерного облучения ~ 1 мДж/см².

Также были получены результаты показывающие возможность передачи радиозащитного действие лазерного излучения по механизму “bystander” эффекта.

С целью выяснения механизма радиозащитного действия лазерного излучения, представляет интерес проверка предположения о том, что при радиозащитном действии малых доз лазерного излучения с длиной волны 633 нм первичным фоторецептором является цитохром-с-оксидаза. Цитохром-с-оксидаза является компонентом дыхательной цепи и локализована в клеточных митохондриях.

Для этого нами было создано устройство на основе лазерного модуля с длиной волны 532 нм, поскольку эта длина волны также попадает в спектр поглощения цитохром-с-оксидазы.

В экспериментах использовались клетки фибробластов мышей С3Н10Т1/2 прошедшие не более 18 пассажей из коллекции Института Цитологии РАН (Санкт-Петербург).

Облучение клеток проводилось в Медико-техническом комплексе Лаборатории ядерных проблем Объединенного института ядерных исследований, предназначенном для проведения терапии онкологических заболеваний.

Для облучения клеток γ - лучами использовали гамма-терапевтический аппарат “Рокус - М” фирмы “Равенство” с источником Co^{60} , мощность дозы $\sim 0,67$ Гр/мин. Поглощенную дозу измеряли с помощью клинического дозиметра CD 27012 (Германия). Ошибка в определении поглощенной дозы не превышала 5 %.

Для облучения клеток лазерным излучением использовали созданное нами лазерное устройство на основе лазерного модуля с длиной волны 532 нм, который работает в непрерывном режиме. Мощность лазера, измеренная с помощью устройства LFSEER POWER METER LP1 (SANVA ELECTRONIC INSTRUMENT CO LTD, JAPAN) была равна 0,3 мВт, размер облучаемой поверхности монослоя клеток - 5,3 см².

При проведении экспериментов по определению дозового интервала, а также значения плотности энергии лазерного облучения, оказывающего максимально эффективный радиозащитный эффект, использовали клеточную суспензию в питательной среде. Клетки сначала подвергались воздействию γ - лучей, затем в течение 20 минут воздействию лазерного излучения.

В результате проведенных экспериментов было установлено что радиозащитное воздействие лазерного излучения наблюдается в дозовом интервале плотности энергии облучения от 0,4 до 0,85 мДж/см², с максимальной эффективностью при плотности энергии лазерного облучения $\sim 0,56$ мДж/см².

Определение выживаемости клеток с помощью автоматического счетчика СТ20 после воздействия, ионизирующего и комбинированных облучений показали, что радиозащитное действие лазерного излучения с длиной волны 533 нм так же, как и излучения с длиной волны 633 нм передается по механизму “bystander” эффекта. Кроме этого, выяснилось, что радиозащитный эффект лазерного облучения наблюдается по критерию количества выживших одиночных клеток, по сравнению с клетками, подвергшимися облучению γ - лучами.

Анализ кривых выживания клеток фибробластов, облученных γ - лучами, а также комбинированно облученных γ - лучами и лазером (0,56 мДж/см²) показал, что лазерное облучение оказывает эффективное радиозащитное действие по критерию выросших клеточных колоний. При этом значение фактора изменения дозы (ФИД), рассчитанное по ЛД₅₀ равно 1,4.

Полученные результаты свидетельствуют в пользу предположения о том, что при радиозащитном действии малых доз лазерных излучений с длинами волн 633 нм и 532 нм первичным фоторецептором является цитохром-с-оксидаза.

КАЛЬЦИЙ-РЕГУЛИРУЕМЫЕ ФОТОПРОТЕИНЫ МОРСКИХ СВЕТЯЩИХСЯ ОРГАНИЗМОВ: КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ АМИНОКИСЛОТНЫХ ОСТАТКОВ В БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ РЕАКЦИИ

CALCIUM-REGULATED PHOTOPROTEINES OF MARINE GLOWING ORGANISMS: CRYSTALLINE STRUCTURE AND FUNCTIONAL ROLE OF AMINO ACID RESIDUES IN BIOLUMINESCENT REACTION

Высоцкий Е.С., Маркова С.В., Еремеева Е.В., Наташин П.В., Буракова Л.П., Маликова Н.П.

Лаборатория фотобиологии, Институт биофизики СО РАН,
Федеральный исследовательский центр КНЦ СО РАН, Красноярск

Биолюминесценция – явление, широко представленное в природе. Светящиеся организмы встречаются среди бактерий, грибов, простейших, кишечнорастворимых, червей, моллюсков, насекомых и рыб. В настоящее время насчитывается несколько тысяч биолюминесцентных видов среди представителей более чем 700 родов. Исследования биолюминесцентных систем различных организмов показали, что, несмотря на одинаковый конечный результат – излучение кванта света в видимом диапазоне спектра, механизмы, лежащие в основе этого процесса, значительно различаются у представителей различных таксонов. Разнятся не только субстраты и кофакторы, вовлеченные в реакции биолюминесценции, но и катализирующие их ферменты. Поэтому термины «люцифераза» и «люциферин» – понятия скорее собирательные и функциональные, чем структурно-химические. Хотя изучение биолюминесцентных белков различных организмов имеет фундаментальное значение, основной движущей силой, определяющей интерес к исследованию биолюминесценции, является возможность ее использования в качестве аналитического инструмента. В наши дни не найдется области биологии, медицины и фармакологии, где биолюминесцентные методы или уже широко не применялись бы, или не были бы опробованы, показав их пригодность.

Среди нескольких субстратов светоизлучающих реакций, идентифицированных в морских светящихся организмах, наиболее часто в качестве люциферина используются целентеразин и его производные [1]. Целентеразин-зависимые биолюминесцентные системы можно разделить на два типа. К первому относятся системы, в которых люцифераза – типичный фермент, катализирует окислительное декарбоксилирование целентеразина с образованием продукта, целентерамида, в возбужденном состоянии. К другому типу относятся Ca^{2+} -регулируемые фотопротеины, ответственные за свечение морских гидромедуз и ктенофор. Фотопротеины – уникальный класс биолюминесцентных белков. По сути, Ca^{2+} -регулируемый фотопротеин представляет собой стабильный фермент-субстратный комплекс, состоящий из апобелка и прочно, но нековалентно связанного с ним активированного кислородом целентеразина – 2-гидропероксидцелентеразина [2]. Связывание ионов

кальция с белком инициирует заключительную стадию биолюминесцентной реакции – декарбоксилирование 2-гидропероксипроизводного целентеразина, приводящее к образованию связанного с белком целентерамида в возбужденном состоянии, переход которого в основное состояние сопровождается излучением света с λ_{\max} при 460-495 нм [3]. Интерес к Ca^{2+} -регулируемым фотопротеинам обусловлен не только желанием понять механизм функционирования этих уникальных белков. Главным фактором все-таки является их аналитический потенциал. В настоящее время фотопротеины широко используются в качестве индикаторов внутриклеточного кальция, позволяющих отслеживать динамику этого универсального мессенджера как в цитоплазме клеток, так и в их отдельных органеллах.

За последние 20 лет клонированы кДНК генов, кодирующих фотопротеины из нескольких светящихся организмов, и определены пространственные структуры фотопротеинов и их мутантов в различных лиганд-зависимых конформационных состояниях [4-6]. Все фотопротеины оказались односубъединичными глобулярными белками, содержащими три Ca^{2+} -связывающих сайта «EF-hand»-типа. В этой работе на основе данных по структурам белков и исследованию биолюминесцентных и биохимических свойств различных мутантов фотопротеинов гидромедуз и ктенофор обсуждается функциональная роль аминокислотных остатков активного центра в каталитическом окислении субстрата и в формировании эмиттера.

Исследования поддержаны грантами РФФИ № 19-54-53004 и № 17-04-00764.

1. Маркова С.В., Высоцкий Е.С. Целентеразин-зависимые люциферазы // Биохимия. 2015. Т. 80. С. 845.
2. Shimomura O. Bioluminescence: Chemical Principles and Methods. World Scientific Publishing, 2006.
3. Vysotski E.S., Lee J. Ca^{2+} -regulated photoproteins: Structural insight into the bioluminescence mechanism // Acc Chem Res. 2004. Vol. 37. P. 405.
4. Liu Z.J., Stepanyuk G.A., Vysotski E.S., Lee J., Markova S.V., Malikova N.P., Wang B.C. Crystal structure of obelin after Ca^{2+} -triggered bioluminescence suggests neutral coelenteramide as the primary excited state // Proc Natl Acad Sci U S A. 2006. Vol. 103. P. 2570.
5. Natashin P.V., Markova S.V., Lee J., Vysotski E.S., Liu Z.J. Crystal structures of the F88Y obelin mutant before and after bioluminescence provide molecular insight into spectral tuning among hydromedusan photoproteins // FEBS J. 2014. Vol. 281. P. 1432.
6. Natashin P.V., Ding W., Ereemeeva E.V., Markova S.V., Lee J., Vysotski E.S., Liu Z.J. Structures of the Ca^{2+} -regulated photoprotein obelin Y138F mutant before and after bioluminescence support the catalytic function of a water molecule in the reaction // Acta Crystallogr D Biol Crystallogr. 2014. Vol. 70. P. 720.

ЗАЩИТА КЛЕТОЧНОЙ ДНК ОТ ДЛИННОВОЛНОВОГО УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ПРИ ФОТОБИОМОДУЛЯЦИИ КРАСНЫМ И БЛИЖНИМ ИНФРАКРАСНЫМ СВЕТОМ

PROTECTION OF CELLULAR DNA FROM LONG-WAVE ULTRAVIOLET RADIATION AT PHOTOBIO-MODULATION WITH RED AND NEAR INFRARED LIGHT

Гапеев А.Б., Антонова О.Ю.¹, Кочеткова О.Ю.¹, Симонова М.А.¹, Храмов Р.Н.¹

Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, Московская обл., a_b_g@mail.ru;

¹ Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Московская обл., khramov30@mail.ru

Предпосылкой для разработки стратегии "Полезное солнце" для человека и животных послужили исследования по фотобиомодуляции, в которых было установлено, что искусственное излучение в красном и ближнем инфракрасном (КБИК) диапазонах в окне прозрачности для биологических тканей (600-1000 нм) оказывает лечебно-профилактическое действие, снижает интенсивность воспалительных реакций, повышает тканевую регенерацию, местную сопротивляемость, противоинфекционную защиту и вызывает ряд других позитивных изменений в живых системах. Целью работы являлась оценка защитных эффектов на ДНК лейкоцитов крови мыши при фотобиомодуляции КБИК светом с последующим облучением клеток длинноволновым ультрафиолетовым (УФ) излучением.

Эксперименты выполнены с использованием общей фракции лейкоцитов периферической крови мышей самцов линии Kv:SHK (масса 20-25 г), полученных из вивария Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН. Образцы периферической крови забирали из хвостовой вены мышей в пробирки, содержащие фосфатный буфер с добавлением 1 мМ ЭДТА в качестве антикоагулянта. Для приготовления препаратов использовали цельную кровь, разведенную в 10 раз. Воздействие излучений осуществляли на клетки, иммобилизованные в легкоплавкую 0.5% агарозу в составе микроскопных слайдов, которые помещали в чашки Петри с 15 мл физиологического раствора при комнатной температуре. В качестве контроля использовали инкубацию клеток в физиологическом растворе в течение 20 мин при комнатной температуре. В качестве отрицательного контроля использовали широкополосное красное излучение от ксеноновой лампы XBO 150W1 (OSRAM, Германия) с фильтрами T720Q (интерференционный, вырезает часть УФ и дальнюю ИК область

спектра) и КС10 (стеклянный, вырезает всю УФ и часть видимой области спектра). Исследовали действие КБИК излучения от светодиодных матриц со спектральными максимумами в диапазоне длин волн 640, 660 и 730 нм при двух интенсивностях 0.36 и 0.1 мВт/см², что при длительности экспозиции 20 мин соответствовало энергетическим экспозициям 0.43 и 0.12 Дж/см². После облучения КБИК светом проводили нагрузочный тест с помощью УФ-излучения со спектральным максимумом в диапазоне 370 нм и интенсивностью около 50 мВт/см² в течение 15 мин, соответствующая энергетическая экспозиция 44 Дж/см². Уровень повреждений ДНК оценивали методом "комета-тест" (метод ДНК-комет или электрофорез нуклеоидов индивидуальных клеток в геле агарозы) с использованием уникального аппаратно-программного комплекса "Комет Эксперт" (ООО "Ген Эксперт", Пушкино). Метод основан на анализе картины электрофореза индивидуальных клеток, ДНК которых окрашена флуоресцентным красителем. В качестве индикатора величины поврежденности ДНК использовали процентное содержание ДНК в "хвосте кометы".

В результате проведенных экспериментов было показано, что облучение лейкоцитов крови мыши КБИК излучением с определенными длинами волн приводит к снижению уровня повреждений клеточной ДНК. При действии широкополосного света от ксеноновой лампы процентное содержание ДНК в "хвосте кометы" после нагрузочного теста составило около $17.1 \pm 0.6\%$, что достоверно не отличалось от условий инкубации клеток в физиологическом растворе ($16.9 \pm 0.5\%$). При предварительном облучении красным светом со спектральным максимумом в диапазоне 640 нм и ближним ИК светом со спектральным максимумом в диапазоне 730 нм при энергетической экспозиции 0.43 Дж/см² процентное содержание ДНК в "хвосте кометы" после нагрузочного теста достоверно снижалось до $13.6 \pm 1.1\%$ и $13.5 \pm 0.9\%$ ($p < 0.01$), соответственно. Аналогичный результат был получен и при энергетической экспозиции 0.12 Дж/см²: процентное содержание ДНК в "хвосте кометы" после нагрузочного теста достоверно снижалось до $12.6 \pm 0.4\%$ и $13.6 \pm 0.7\%$ ($p < 0.01$) для длин волн 640 и 730 нм, соответственно. Красный свет со спектральным максимумом в диапазоне 660 нм при обеих использованных интенсивностях не оказывал защитного действия на ДНК лейкоцитов.

Реакция лейкоцитов крови на КБИК излучение с определенными длинами волн и отсутствие влияния широкополосного излучения могут указывать на возможность управления функциональным состоянием клеток при действии светового излучения. Предполагается, что снижение уровня повреждений ДНК в лейкоцитах крови при предварительном облучении КБИК излучением с определенными длинами волн может быть связано со стимуляцией репарации ДНК и/или активацией систем антиоксидантной защиты.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (проект № 18-29-17073).

ФЕМТОСЕКУНДНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ МОЛЕКУЛ NADH В РАСТВОРАХ РАЗЛИЧНОЙ ВЯЗКОСТИ И ПОЛЯРНОСТИ

ULTRAFAST SPECTROSCOPY OF NADH IN SOLUTIONS OF DIFFERENT VISCOSITY AND POLARITY

Горбунова И.А.¹, Безверхний Н.О.¹, Сасин М.Э.¹, Бельтюков Я.М.¹, Васютинский О.С.¹

¹ ФТИ им А.Ф. Иоффе, Санкт-Петербург, Россия

Никотинамид-аденин-динуклеотид NAD в окисленной (NAD⁺) и восстановленной (NADH) формах является внутриклеточным коферментом, участвующим во многих процессах, происходящих в живой клетке. Как известно, NAD выступает в качестве носителя электронов и протонов в реакциях клеточного метаболизма [1]. В восстановленной форме кофермент обладает широкой полосой поглощения с максимумами в районе 260 нм и 340 нм, которые определяют поглощение аденина и никотинамида соответственно, и широкой полосой излучения с центром около 460 нм. Окисленная форма не поглощает в диапазоне 340 нм и не флуоресцирует. За счет своих спектральных характеристик, в настоящее время NADH широко используется в качестве индикатора состояния клеточного метаболизма [1,2]. Несмотря на многочисленные экспериментальные и теоретические исследования, влияние различных факторов микроокружения на флуоресцентные свойства NADH в растворах и клетках до сих пор изучено недостаточно.

Было показано, что анализ затухания поляризованной флуоресценции молекул NADH с высоким временным разрешением позволяет одновременно получать информацию о динамике возбужденного состояния и вращательной подвижности при взаимодействии с микроокружением [2]. В настоящее время флуоресцентная спектроскопия NADH с высоким временным разрешением демонстрирует высокий потенциал в качестве метода клеточной диагностики [3]. Как известно, затухание поляризованной флуоресценции молекул NADH в растворах можно представить в виде суммы трех экспонент с характерными временами затухания τ_1 и τ_2 и временем вращательной диффузии τ_{rot} , значения которых зависят от вязкости и полярности растворителя [2,3]. При этом природа этого мультиэкспоненциального затухания до сих пор была изучена недостаточно. В данной работе изучено влияние вязкости и полярности растворителя на параметры затухания поляризованной флуоресценции NADH в водных растворах метанола при двухфотонном возбуждении фемтосекундными импульсами лазера. На основе сигналов поляризованной флуоресценции были определены времена затухания τ_1

и τ_2 , время диффузии вращения τ_{rot} , анизотропия флуоресценции Γ_0 и отношение предэкспоненциальных множителей a_2/a_1 .

Было получено, что времена затухания τ_1 и τ_2 монотонно увеличивались при увеличении концентрации метанола в растворе. При это наблюдалась нелинейная зависимость времени вращательной диффузии τ_{rot} от концентрации метанола с максимумом в районе 39 %. Так же наблюдалось изменение предэкспоненциальных a_2/a_1 множителей при увеличении концентрации метанола в растворе. Величина параметра анизотропии флуоресценции Γ_0 сохранялась во всем исследуемом диапазоне концентраций раствора. Разработанная нами теоретическая модель показала, что на параметры флуоресценции влияют как вязкость, так и полярность раствора. Увеличение времен жизни флуоресценции в основном связано с уменьшением полярности растворителя и изменением условий сольватации, тогда как изменение вращательной диффузии в основном связано с изменением вязкости раствора при увеличении концентрации метанола. При этом, на параметры затухания также могут влиять конформационные изменения молекул NADH. Известно, что NADH может существовать с свернутой и развернутой конформациях, которые отличаются расстоянием между хромофорами [4]. Согласно ранним исследованиям [4,5], в воде преобладает свернутая конформация, тогда как в метаноле преобладает развернутая конформация молекул NADH. Мы полагаем, что при изменении концентрации метанола в растворе относительные концентрации конформеров изменялись, что приводило к изменениям наблюдаемых нами параметров. Полученные нами результаты могут быть использованы для описания процессов денатурации молекул NADH в растворах и в живых клетках.

1. Schaefer P., Kalinina S., Rueck A., von Arnim C.A.F., von Einem B. NADH Autofluorescence A Marker on its Way to Boost Bioenergetic Research // Cytometry A. 2016. Vol. 95. Pp. 34-46.
2. Vishwasrao, H.D., Heikal, A.A., Kasischke, K.A., Webb, W.W. Conformational Dependence of Intracellular NADH on Metabolic State Revealed by Associated Fluorescence Anisotropy // J. Biol. Chem. 2005. Vol. 280, No. 26, Pp. 25119–25126.
3. Vasyutinskii O.S., Smolin A.G., Oswald C., Gericke K.H. Polarized Fluorescence in NADH under Two-Photon Excitation with Femtosecond Laser Pulses // Opt. and Spec. 2017. Vol. 122 No. 4 Pp. 622-626.
4. Hull R.V., Conger P.S., Hoobler R.J. Conformation of NADH studied by fluorescence excitation transfer spectroscopy// Biophys. Chem. 2001. Vol. 90 No. 9.
5. Visser A. J. W. G., van Hoek A. The fluorescence decay of reduced nicotinamides in aqueous solution after excitation with a UV-mode locked Ar ion laser // Photochemistry and Photobiology 1981. Vol. 33 Pp. 35-40.

МЕХАНИЗМЫ ТУШЕНИЯ ТРИПЛЕТНЫХ СОСТОЯНИЙ ХЛОРОФИЛЛОВ ПРИ ФОТОСИНТЕЗЕ CHLOROPHYLL TRIPLET STATE QUENCHING MECHANISMS IN PHOTOSYNTHESIS

Грязнов А.А., Кленина И.Б., Фуфина Т.Ю., Васильева Л.Г., Проскураков И.И.

ФИЦ ПНЦБИ Институт фундаментальных проблем биологии РАН,
142290, Пущино, ул. Институтская, 2, E-mail: gryaznoff.ant@yandex.ru

В фототрофных организмах синглетная форма кислорода является крайне нежелательным результатом взаимодействия триплетных состояний основных пигментов фотосинтеза (хлорофиллы и бактериохлорофиллы) с триплетным кислородом. Для предотвращения генерации $^1\text{O}_2$ и тушения триплетного состояния пигмента в фотосистемах используется механизм быстрого Т-Т переноса энергии на молекулы каротиноидов. Однако, по ряду причин такой механизм не всегда реализуется. Тем не менее, и в отсутствие переноса энергии на каротиноиды, триплеты хлорофиллов некоторых типов реакционных центров оказываются короткоживущими. С помощью метода импульсного фотолиза в магнитных полях мы исследовали реакционные центры кислород-выделяющей фотосистемы 2 растений и реакционные центры пурпурной несерной фототрофной бактерии *Rhodobacter sphaeroides*. В таких реакционных центрах наблюдается резкое уменьшение времени жизни триплетов при условии однократного восстановления первичного акцептора электронов. Мы предполагаем, что в данных условиях протекает тушение триплетов пигментов путем образования радикал - триплетных пар (РТП) и снятия спинового запрета на триплет-синглетный переход. Для подтверждения данного предположения, нами исследованы реакционные центры, из которых, путем внесения точечных мутаций, были удалены молекулы каротиноидов (мутант G(M71)L), первичный акцептор (мутант A(M260)W), а также на поверхности белковой глобулы проведены замены некоторых аминокислот на молекулы цистеина (L138, L163, M191, L246), нумерация аминокислот дана в соответствии со структурой PDB ID 3V3Y. Указанные цистеины играют роль мишени для ковалентного связывания спиновой метки MTSL, представляющей из себя свободный радикал. Исследована зависимость времени жизни триплетного состояния возбужденного пигмента от расстояния между молекулами бактериохлорофилла и спиновой меткой, ожидаемая в рамках механизма РТП. Обсуждаемый механизм тушения триплетных состояний может играть существенную роль в защите биологических систем от генерации синглетной формы кислорода.

Авторы выражают благодарность фонду РФФИ (грант 14-14-00535) за финансовую поддержку работы.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПЕРЕХОДНЫХ ПРОЦЕССОВ В КЛЕТКАХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ПРИ АДАПТАЦИИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА К УСЛОВИЯМ АЗОТНОГО ГОЛОДАНИЯ

GRADUAL ADAPTATION OF THE PHOTOSYNTHETIC APPARATUS IN MICROALGAE CELLS TO THE CONDITIONS OF NITROGEN STARVATION

Дегтерева Н.С., Плюснина Т.Ю., Хрущев С.С., Конохов И.В.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический ф-т, каф. Биофизики, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, МГУ, телефон (495)9390289 E-mail: degterevas@mail.ru

При росте водорослей в условиях недостатка азота происходят структурно-функциональные перестройки в фотосинтетическом аппарате, приводящие к нарушению электронного транспорта. В ответ на возникновение стрессовых условий включаются различные адаптационные механизмы, поддерживающие жизнедеятельность клеток водорослей, такие как активация альтернативных путей переноса электронов, накопление липидов и каротиноидов.

Для исследования переходных процессов, происходящих в фотосинтетическом аппарате водорослей по мере истощения азота в среде, был проведен анализ кривых индукции флуоресценции (ОЛР-кривые), полученных в процессе роста термофильной культуры *Chlorella* в биореакторе. Индукционные кривые измерялись с периодичностью в 1 час в течение 2,5 суток. Проведение эксперимента в биореакторе с автоматическим измерением индукционных кривых позволяет получить большое количество индукционных кривых, измеренных через короткие промежутки времени, и проследить поэтапное включение механизмов адаптации в клетках водорослей в условиях развития азотного голодания.

Полученные индукционные кривые были проанализированы с помощью ЛР-теста, спектрального мультиэкспоненциального анализа (СМЭА), метода разности индукционных кривых и математической модели на основе системы дифференциальных уравнений, описывающей переход между состояниями фотосистемы 2. Сопоставление результатов анализа различными методами позволило проследить изменения, возникающие на донорной и акцепторной сторонах фотосистемы 2 в ответ на постепенное истощение азота в среде.

В результате анализа методом СМЭА на индукционных кривых была обнаружена дополнительная фаза с характерным временем около 300 мкс, амплитуда которой росла по мере истощения азота в среде. Появление и рост этой фазы указывает на нарушение электронного транспорта на донорной стороне ФС2 и возможную инактивацию кислород-выделяющего комплекса. Изменение параметров ЛР-теста и модели показало рост эффективной площади сечения антенны светособирающего комплекса. Наблюдалось увеличение количества Q_b не восстанавливающих центров, не способных к реокислению первичного хинона Q_a , что указывает на нарушение электронного транспорта на акцепторной стороне ФС2. Показано постепенное увеличение количества перевосстановленных реакционных центров фотосистемы 2, в которых в восстановленном состоянии находятся и феофетин и первичный хинон Q_a , что может быть вызвано включением альтернативных путей переноса электрона, таких как хлоропластное дыхание. Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ, проект №17-04-00676.

ЧИСЛЕННОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ДИНОФЛАГЕЛЛЯТЫ NOCTILUCA SCINTILLANS MACCARTNEY

NUMERICAL MODELLING OF BIOLUMINESCENCE OF DINOFLAGELLATE NOCTILUCA SCINTILLANS MACCARTNEY

Евстигнеев В.П.^{1,2}, Васильева В.В.¹, Сахонь Е.Г.²

¹ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», Севастополь, E-mail: vald_e@rambler.ru

²Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН, Севастополь

Биолюминесценция относится к широко распространенному феномену, имеющему место в морской среде от поверхностных вод до батипелагиали, от тропиков и до обоих полюсов [1]. Источником ее являются многочисленные организмы фито- и зоопланктона, испускающие видимый свет при внешнем возбуждении, а в некоторых случаях спонтанно. Рассмотрение светящихся видов в качестве тестовой группы и измерение их биолюминесцентного сигнала, дает возможность изучения вертикальной структуры фитопланктона на фоне изменчивости гидрофизических параметров. В научной литературе известен ряд работ с результатами биофизического мониторинга морских вод, в частности, Черного моря. В [2] показана высокая корреляция интенсивности биолюминесценции и количественных показателей светящихся динофлагеллят, к которым относят «традиционный» тест-объект для биомониторинга морских вод – светоизлучающий организм *Noctiluca scintillans* (ночесветка).

Экспериментальной регистрации фитопланктона в лабораторных условиях и *in situ* исследованиям ее фотоэмиссии в естественных условиях посвящено достаточно много работ в научной литературе. Куда сложнее обстоит дело с теоретическими изысканиями механизмов и закономерностей излучения. Разработка теоретических моделей биолюминесценции сопряжено с тем, что это сложное нелинейное явление, изучение

которого может проводиться с позиций молекулярной биофизики и биологии, биофизики возбудимых сред. Однако результаты таких теоретических изысканий могут быть использованы для оценки физико-химических параметров процесса биолюминесценции, а также кинетических характеристик вспышки (ее энергетические и временные параметры). В большинстве работ по исследованию биолюминесценции изменчивость таких кинетических параметров используются в качестве индикаторов внутренних регуляционных процессов, отражающих физиологическое состояние излучающего организма. Отдельной задачей, на решение которой направлены подобные теоретические исследования, является перспектива таксономической идентификации морских организмов на основании специфических особенностей их свечения.

В настоящей работе представлены результаты численного моделирования одиночной биолюминесцентной вспышки *Noctiluca scintillans*, разработанной с учетом биоэлектрического триггера световой эмиссии и биохимической основы ее формирования. В основе модели лежит простая схема взаимодействия люминесцирующего белка люциферина и фермента люциферазы, а также математическое описание процесса активизации ключевых компонент при распространении потенциала действия в тонком и квазисферическом периферическом слое цитоплазмы клетки. Модель содержит семь параметров, однако аппроксимация экспоненциального фронта спада интенсивности биолюминесценции позволяет наложить дополнительную эмпирическую связь между параметрами модели и снизить их независимое число до шести.

Валидация модели выполнена по данным регистрации световых вспышек ночесветки в пробах фитопланктона, отобранных в весенне-летний период 2011 и 2018 гг. в прибрежной зоне Севастопольского региона. Поиск численного решения и определения параметров свечения проводился в два этапа. На первом этапе осуществлялась аппроксимация экспоненциального участка фронта спада интенсивности биолюминесценции; на втором – проводилась аппроксимация полной системы уравнений модели при разных временных точках инициации световой эмиссии для определения начального момента формирования вспышки. Численная модель представляет собой систему нелинейных дифференциальных уравнений, для которой функция невязки является многопараметрической, а ее гиперповерхность в пространстве параметров содержит множество локальных минимумов. По этим причинам вместо традиционных градиентных методов и симплекс-метода Нелдера-Мида для минимизации невязки использовался один из стохастических алгоритмов – метод дифференциальной эволюции.

Работа выполнена в рамках гранта Президента РФ для государственной поддержки ведущих научных школ № НШ-5889.2018.3.

1. Haddock S.H. et al. Bioluminescence in the sea // *Ann.Rev.Mar.Sci.* 2010. V.2. P.443-493.
2. Серикова И.М. и др. Особенности сезонной динамики структуры поля биолюминесценции и её сопряжённость с параметрами динофлагеллят // *Морской экологический журнал.* 2013. Вып.12 (4). С.87-95.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО И СВЕТОКИСЛОРОДНОГО ЭФФЕКТОВ НА КЛЕТКИ КРОВИ

STUDY OF THE IMPACT OF PHOTODYNAMIC AND LIGHT OXYGEN EFFECTS ON BLOOD CELLS

Алексеев Ю.В.¹; Буравков С.В.²; Иванов А.В.^{1,3}; Миславский О.В.^{1,4}; Давыдов Е.В.^{5,6}; Дуванский В.А.¹

¹ ФГБУ «ГНЦ ЛМ им. О.К. Скобелкина ФМБА России», Москва, ural377@mail.ru

² МГУ им. М.В. Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Москва, sergey@wolf.ru

³ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, ivavi@yandex.ru

⁴ ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии ФМБА России», Москва, o.mislavsky@rambler.ru

⁵ ФГБОУ ВПО МГУПП, Москва, dr.davydov@yandex.ru

⁶ Ветеринарный центр «РосВет», Москва

Как известно, фотодинамический эффект (ФДЭ) возникает при переносе энергии от возбужденных молекул фотосенсибилизатора (ФС) на молекулы кислорода с переводом их в высокореактивное синглетное состояние. В дальнейшем в клетках развивается цепь более или менее однотипных реакций, связанных с активными формами кислорода. В конце 80-х годов прошлого века российскими учеными была высказана гипотеза о возможности генерации синглетного кислорода светом в биосистемах и без сенсибилизации [1,2]. Для этого необходимо узкополосное (квазимонохроматическое) излучение в определенных спектральных интервалах видимого и ближнего ИК диапазона, соответствующих полосам поглощения растворенного в водной среде молекулярного кислорода. В цикле систематических исследований [3] были сняты «спектры действия», которые были идентифицированы как полосы поглощения кислорода с максимумами при 587, 639, 762, 1264 нм, причём наиболее эффективным является излучение в полосе 1264-1270 нм. Последующие измерения спектров действия в экспериментально-клинических исследованиях *in vivo* подтвердили правильность полученных *in vitro* результатов.

Акцептором фотонов, запускающим наблюдаемые биологические эффекты во всех исследованных спектральных участках видимого и ближнего ИК диапазона, является молекула кислорода. Присутствуя во всех

живых биосистемах, кислород является неспецифическим первичным фотоакцептором, чем можно объяснить удивительную широту терапевтических эффектов низкоэнергетического лазерного излучения. Явление, названное светокислородным эффектом (СКЭ), представляет собой один из основных однозначно установленных механизмов низкоэнергетической лазерной терапии [4]. СКЭ – управляемое воздействие на биологические структуры за счёт прямой фотогенерации синглетного кислорода при действии излучения внутри полос поглощения эндогенного молекулярного кислорода.

Большой интерес представляет выявление морфологических различий на клеточном и субклеточном уровнях при СКЭ и при ФДЭ. Как модель для экспериментов были выбраны клетки крови. Забор донорской крови производился из локтевой вены в количестве 8 мл в пробирки с раствором гепарина. Из забранной крови по стандартной методике выделяли лимфо-лейкоцитарную массу с использованием фикола с помощью центрифугирования. Эпиквоты крови и лимфо-лейкоцитарной массы по 0,5 мл подвергали облучению в кварцевой кювете излучением лазера 1264 нм плотностью мощности 0,25 Вт/см² с экспозиционной дозой от 15 до 90 Дж/см². Для исключения возможного термического эффекта проводился контроль температуры (при базовой температуре 22⁰С изменения не более +1,5⁰С). Вторую серию образцов облучали излучением лазера 405 нм с плотностью мощности 0,3 Вт/см² в присутствии ФС хлорина Е6 с концентрацией 0,3 мкг/мл и такой же экспозиционной дозой от 15 до 90 Дж/см².

Суспензию клеток крови проводили по стандартной методике для электронной микроскопии. Полутонкие и ультратонкие срезы готовили на ультратоме LKB (Швеция) и просматривали в световом микроскопе DLMB с цифровой камерой и анализатором изображения фирмы Leica и на электронном микроскопе Libra 120 (Karl Zeiss) (ТЭМ).

При лазерном воздействии 1264 нм, 90 Дж/см² препараты ПТС выявили наиболее заметные дозозависимые изменения в гранулоцитах. При электронномикроскопическом исследовании в различных клеточных популяциях лейкоцитов наблюдаются изменения, свидетельствующие о разных изменениях ядерно-цитоплазматических взаимоотношений при различных параметрах облучения. При лазерном воздействии 405 нм, 90 Дж/см² с ФС препараты ПТС выявили изменения, характерные для предыдущего эксперимента, но также имеющие и другие параметры изменений метаболических функций клеток, в основном гранулоцитов. При всех экспозициях наблюдается тенденция гипертрофированности митохондрий, что может свидетельствовать об энергетической активизации в лейкоцитах при лазерном воздействии, связанной с модификацией мембраны митохондрий синглетным кислородом, генерированным адсорбированными на мембране молекулами ФС. Сравнение действия СКЭ и ФДЭ на эритроциты показало однотипные изменения, однако при СКЭ воздействии наблюдается заметное дозозависимое появление в суспензии стоматоцитов, отсутствующих при ФДЭ воздействии.

Таким образом, показано, что СКЭ и ФДЭ оказывают специфическое воздействие на клетки крови. Приведенные результаты позволяют сделать вывод о существовании единого молекулярно-мембранного механизма стимулирующего и деструктивного действия оптического излучения посредством генерации в биологических системах молекулярного синглетного кислорода.

1. Амбарцумян Р.В., Елисеев П.Г., Еремеев Б.В. и др. // Биологическое действие лазерного излучения на эритроциты в инфракрасной полосе поглощения молекулярного кислорода. Краткие сообщения по физике. 1987. № 10. С.35-37.
2. Данилов В.П., Захаров С.Д., Иванов А.В. и др.. Спектрально-селективный фотодинамический эффект без экзогенных фотосенсибилизаторов и его возможные применения для фототерапии рака и биостимуляции.// Известия АН СССР, Серия Физика, 1990, № 8, с. 1610-1620.
3. Захаров С.Д., Иванов А.В. Светокислородный эффект в клетках и перспективы его применения в терапии опухолей. // Квантовая электроника, т. 29, №3, 1999, с. 192-214.
4. Захаров С.Д., Иванов А.В., Корочкин И.М., Данилов В.П. Прямое возбуждение фотонами эндогенного молекулярного кислорода – фотофизический акт терапевтического действия лазерного излучения.// Лазерная медицина, 2006, т. 10, вып. 1, с. 4- 9.

РОЛЬ БЕЛКА ТЕПЛООВОГО ШОКА 90 В УСИЛЕНИИ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ЛЮЦИФЕРАЗЫ СВЕТЛЯКОВ

THE ROLE OF HEAT SHOCK PROTEIN 90 IN ENHANCING LUMINESCENCE OF FIREFLY LUCIFERASE

Кириллова М.А.¹, Ранджан Р.¹, Есимбекова Е.Н.^{1,2}, Кратасюк В.А.^{1,2}

¹Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, kirillva@mail.ru

²Институт биофизики СО РАН, г. Красноярск

Белки теплового шока необходимы для выживания клеток во время стресса. Hsp90, белок теплового шока с молекулярной массой 90 кДа, является высоко консервативным шапероном, необходимым для поддержания клеточного гомеостаза. Hsp90 поддерживает функцию основных клеточных белков, включая такие как гормональные рецепторы, протеинкиназы и белки, контролируемые клеточный цикл и апоптоз [1]. При этом

Hsp90 не только сохраняет фолдинг недавно транслированных белков, но и способствует деградации неправильно свернутых белков [2]. Сверхэкспрессия Hsp90 наблюдается при стрессовых условиях, например при реакции теплового шока, онкологии, нейродегенеративной болезни и вирусных инфекциях [3-5]. Анализы рефолдинга, основанные на количественном определении Hsp90, могут указывать на уровень стресса у человека и могут рассматриваться как потенциальный инструмент для прогнозирования заболеваний.

В настоящей работе исследовали влияние Hsp90 на люциферазу светляков (FLuc). Была проанализирована активность Hsp90 в зависимости от температуры и времени инкубации. Было показано, что АТРазная активность Hsp90 (Hsp90a человека, выделенного из рекомбинантных клеток *E. coli*, Merck KGaA, Германия) приводила к снижению люминесценции до 46%, при этом максимальная активность наблюдалась после совместного инкубирования Hsp90 и АТРа при 50°C в течение 15 минут. Снижение люминесценции являлось признаком деградации АТРа. Однако снижение люминесценции контроля может говорить о низкой стабильности АТРа при высокой температуре.

Также было проанализировано влияние Hsp90 на FLuc в присутствии и в отсутствие АТРа. Было обнаружено, что при инкубировании FLuc совместно с Hsp90 и АТРа интенсивность люминесценции выше, чем при инкубировании FLuc и Hsp90, FLuc и АТРа или только FLuc, что подчеркивает роль АТРа в активации Hsp90 для поддержания активности FLuc. Более того, при использовании бычьего сывороточного альбумина (БСА) в качестве стабилизатора FLuc после термической обработки при 50°C в течение 15 минут интенсивность свечения оказалась в два раза ниже, чем при использовании смеси FLuc, Hsp90 и АТРа, что свидетельствует о потере БСА стабилизирующей FLuc функции при высокой температуре.

Однако, несмотря на то, что Hsp90 не может восстановить активность полностью денатурированной FLuc, усиление люминесценции в присутствии Hsp90 и FLuc по сравнению с контролем указывает на роль Hsp90 в поддержании стабильности FLuc во время биолюминесцентного анализа.

1. Schopf F.H., Biebl M.M., Buchner J. The HSP90 chaperone machinery // *Molecular cell biology*. 2017. V.18. P. 345.
2. Pick E., et al. High HSP90 expression is associated with decreased survival in breast cancer // *Cancer Research*. 2007. V. 67. P. 2932–2937.
3. Wang H.Y., et al. Hyperthermia stress activates heat shock protein expression via propyl isomerase 1 regulation with heat shock factor 1 // *Mol. Cell. Biol*. 2013. V. 33. P. 4889–4899.
4. Osada T. et al. In vivo detection of HSP90 identifies breast cancers with aggressive behavior // *Clin. Cancer Res*. 2017. V. 23. 7531–7542.
5. Siegelin M.D. Inhibition of the mitochondrial Hsp90 chaperone network: a novel, efficient treatment strategy for cancer? *Cancer Lett*. 2013. V. 333. P. 133–146.

ИССЛЕДОВАНИЕ КОНФОРМАЦИОННЫХ ПЕРЕСТРОЕК ОРАНЖЕВОГО КАРОТИНОИДНОГО БЕЛКА С ПОМОЩЬЮ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ МЕТОК

CONFORMATIONAL REARRANGEMENTS ORANGE CAROTENOID PROTEINS BY FLUORESCENT LABELS

Клементьев К.Е., Гвоздев Д.А., Цораев Г.В., Пащенко В.З., Рубин А.Б.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, кафедра биофизики, Москва, klementyevke@gmail.com

Оранжевый каротиноидный белок (Orange Carotenoid Protein - OCP) - фотоактивный белок, защищающий фотосинтетический аппарат цианобактерий от избытка солнечного света с помощью механизма нефотохимического тушения и способный дезактивировать активные формы кислорода АФК [1]. Для осуществления тушения белок OCP под действием синего света переходит из оранжевой формы (OCPO) в красную (OCPR). OCP содержит 2 структурных домена (N- и С-) между которыми расположена молекула каротиноида, представляющая собой 3'-гидроксиэхиненон (hECN). При переходе из оранжевого состояния в красное домены расходятся и каротиноид перемещается в N-домен. При этом становится возможным взаимодействие между фикобилисомой (ФБС) и OCP, между ними сокращается расстояние, что обеспечивает миграцию энергии с ФБС на OCP с последующей диссипацией в тепло. В апоформе белка OCP (APO-OCP) отсутствует молекула каротиноида. Фотоцикл OCP изучен недостаточно по сравнению с другими фотоактивными белками, в особенности конформационная динамика и структурные свойства красной формы.

В данной работе мы исследовали конформационные перестройки белка при фотоактивации с помощью гидрофобных флуоресцентных меток нильский красный (Nile Red, NR) и 8-анилинонафталин-1-сульфокислота (8-anilino-naphthalene-1-sulfonic acid, ANS), используя спектральные методы для молекулы каротиноида и белкового матрикса OCP [3]. OCP был получен с помощью генетически модифицированных штаммов культуры клеток *E.Coli*. Были измерены спектры поглощения OCP в оранжевой и красной формах. С помощью флуориметрии высоковременного разрешения (метод счета фотонов, TCSPC, Becker&Nickl, Германия) были оценены времена жизни флуоресценции меток. В качестве источника возбуждения были использованы

пикосекундные лазеры 405 нм и 515 нм (InTop, Россия) для ANS и NR, соответственно. Для оценки радиуса Ферстера (R_0) между флуоресцентной меткой и молекулой каротиноида были использованы спектры поглощения ОСР в оранжевой и красной формах и спектры флуоресценции меток конъюгированных в АРО-ОСР при 5°C. Оценку проводили с помощью программы Photochemcad 3.

Было установлено, что интенсивность флуоресценции меток в АРО-ОСР выше, чем в ОСР. Это может объясняться миграцией энергии от флуоресцентной метки на молекулу каротиноида. Спектральные характеристики флуоресцентных меток оказались чувствительны к переходам ОСР из оранжевой формы в красную при фотоактивации.

1. Konstantin E. Klementiev, Eugene G. Maksimov, Danil A. Gvozdev, Georgy V. Tsoraev, Fedor F. Protopopov, Irina V. Elanskaya, Sergey M. Abramov, Mikhail Yu Dyakov, Vyacheslav K. Ilyin, Nadezhda A. Nikolaeva, Mikhail M. Moisenovich, Anastasia M. Moisenovich, Yury B. Slonimskiy, Nikolai N. Sluchanko, Victor M. Lebedev, Andrew V. Spassky, Friedrich Thomas, Georgy V. Maksimov, Vladimir Z. Paschenko, and Andrew B. Rubin. Radioprotective role of cyanobacterial phycobilisomes. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, 1860(2):121–128, 2019

2. Eugene G. Maksimov, Evgeny A. Shirshin, Nikolai N. Sluchanko, Dmitry V. Zlenko, Evgenia Y. Parshina, Georgy V. Tsoraev, Konstantin E. Klementiev, Gleb S. Budylin, Schmitt Franz-Josef, Friedrich Thomas, Victor V. Fadeev, Vladimir Z. Paschenko, and Andrew B. Rubin. The signaling state of orange carotenoid protein. *Biophysical Journal*, 109(3):595–607, 2015.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОГЕНЕРАЦИИ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА МЕДНЫМИ КОМПЛЕКСАМИ ПРОИЗВОДНЫХ ХЛОРОФИЛЛА А

INVESTIGATION OF PHOTOGENERATION OF SINGLET OXYGEN BY COPPER COMPLEXES OF CHLOROPHYLL A DERIVATIVES

Белых Д.В.¹, Козлов А.С.^{@2}, Пылина Я.И.³, Худяева И.С.¹, Бендиткис А.С.², Красновский А.А.²

¹Институт химии Коми научного центра Уральского отделения РАН, г. Сыктывкар,

²Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, г. Москва,

³Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, г. Сыктывкар.

E-mail: anton4ikk_06@mail.ru

Известно, что безметалльные производные хлорофилла *a* (феофитин и феофорбид *a*, хлорины *e₆* и *p₆*, а также продукты их химической модификации) наряду с их комплексами с некоторыми металлами являются эффективными фотосенсибилизаторами, генерирующими синглетный кислород при световом возбуждении. Некоторые из таких соединений находят применение в фотодинамической терапии (ФДТ) рака и инфекционных заболеваний, где ключевую роль играют окислительные процессы в клетках с участием синглетного кислорода. Для фотосенсибилизаторов, используемых в медицине, важной характеристикой является не только способность генерировать синглетный кислород при поглощении света (что количественно характеризуется квантовым выходом генерации синглетного кислорода), но и как можно более низкая темновая токсичность. Ранее было установлено, что медные комплексы хлоринов, являющихся производными хлорофилла *a*, обладают более низкой токсичностью в темноте, чем безметалльные хлорины. Однако медные комплексы мало исследованы на предмет их фотосенсибилизирующей активности, поскольку считалось, что низкое время жизни их триплетных состояний не позволяет им эффективно генерировать синглетный кислород. В нашей работе проведено сравнительное экспериментальное исследование способности к генерации синглетного кислорода и спектральных свойств медных комплексов различных синтетических производных феофорбида *a* и хлорина *e₆*, а также их безметалльных аналогов в растворах, а также фототоксичность этих соединений на клеточной культуре. Для решения первой задачи использовался метод химических ловушек синглетного кислорода и измерение фотосенсибилизированной ИК фосфоресценции кислорода в кинетическом режиме. В результате проведенной работы было установлено, что медные комплексы производных хлорофилла *a* генерируют синглетный кислород, хотя и сильно уступают в этом безметалльным соединениям (квантовые выходы генерации синглетного кислорода для медных комплексов составляют 0,055-0,17, в то время как у безметалльных аналогов они равны 0,65-0,74). Опыты на клетках HeLa, показали, что медные комплексы имеют заметно более низкую темновую токсичность, при этом их фотосенсибилизирующая активность достаточна для уничтожения клеток при облучении. Результаты работы показывают, что медные комплексы производных хлорофилла *a* могут быть перспективны для применения в ФДТ. Подробности см. в публикации [1].

Работа выполнена в соответствии с госзаданиями Института химии Коми научного центра Уральского отделения РАН (Сыктывкар) и ФИЦ Биотехнологии РАН (Москва) при частичной поддержке РФФИ, проект № 19-04-00331.

1) Belykh D.V., Kozlov A.S., Pylina Y.I., Khudyaeva I.S., Benditkis A.S., Krasnovsky A.A. Copper complexes of chlorin derivatives of chlorophyll *a* as potential photosensitizers for medical purposes // *Macroheterocycles*. 2019.V.12. N1. P. 68.

УЧАСТИЕ ФИЛЛОХИНОНА ФОТОСИСТЕМЫ I В ФОТОВОССТАНОВЛЕНИИ КИСЛОРОДА INVOLVEMENT OF PHYLLOQUINONE OF PHOTOSYSTEM I IN OXYGEN PHOTOREDUCTION

Козулева М.А., Петрова А.¹, Семенов А.Ю.¹, Якоби И.², Иванов Б.Н.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, kozuleva@gmail.com

¹НИИ Физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского МГУ, Москва

²Университет Тель-Авива, Тель-Авив

Фотовосстановление кислорода в фотосинтетической электрон-транспортной цепи является одним из защитных механизмов, предотвращающих фотоингибирование в стрессовых условиях и продуцирующих сигнальные молекулы, в частности - пероксид водорода. Фотосистема I (ФСI) осуществляет одноэлектронное восстановление кислорода до супероксидного радикала (реакция Мелера). В литературе представлены величины константы скорости реакции фотовосстановления кислорода в ФСI, которые различаются на 4 порядка. Было показано, что при высокой интенсивности постоянного света в комплексах ФСI из цианобактерии *Synechocystis* в фотовосстановлении кислорода участвуют не только терминальные кофакторы переноса электрона, но и молекулы филлосемихинона в хинон-связывающих сайтах ФСI [1]. Это позволило предположить, что кажущаяся константа скорости реакции фотовосстановления кислорода в ФСI должна зависеть от интенсивности света.

Целью работы было исследовать влияние интенсивности света на величину кажущейся константы скорости фотовосстановления кислорода в комплексах ФСI. В качестве доноров электронов к окисленному P₇₀₀ использовали пластоцианин и аскорбат натрия, а в ряде случаев - *N,N,N',N'*-tetramethylethylenediamine (TMPD). Скорость фотовосстановления кислорода не возрастала при увеличении концентрации пластоцианина от 1 до 10 мкМ, что показывает, что именно перенос электрона от кофакторов ФСI к молекуле кислорода является лимитирующим этапом всего электронного транспорта, но не донирование электронов к окисленному P₇₀₀. Кажущуюся константу скорости реакции измеряли по скорости поглощения кислорода на свету в суспензии, содержащей ФСI и доноры электронов и кислород в концентрации 5 - 40 мкМ. Помимо нативных комплексов ФСI исследовали влияние интенсивности света на кажущуюся константу скорости в комплексах ФСI, лишенных терминальных кофакторов переноса электрона F_A/F_B (F_X-core), и комплексах, лишенных всех железо-серных кофакторов (A₁-core). Удаление кофакторов проводили путем инкубации комплексов ФСI с мочевиной в высокой концентрации.

С увеличением интенсивности света кажущаяся константа в нативных комплексах ФСI возрастала, проявляя тенденцию к достижению плато при интенсивностях выше 2000 мкЕ. Добавка метилвиологена (МВ) в насыщающей концентрации приводила к тому, что выход на плато наблюдался уже при 200 мкЕ. МВ - эффективный медиатор переноса электронов от терминальных кофакторов ФСI, F_A/F_B, к кислороду, и характер зависимости кажущейся константы в присутствии МВ от интенсивности света отражает достижение максимальной квазистационарной концентрации F_A/F_B в восстановленном состоянии при интенсивностях, выше 200 мкЕ. Это означает, что в отсутствие МВ максимальная квазистационарная концентрация F_A/F_B в восстановленном состоянии также достигается при освещении светом до 200 мкЕ, и рост кажущейся константы в диапазоне интенсивностей свыше 200 мкЕ не является следствием увеличивающегося вклада терминальных кофакторов ФСI в восстановление кислорода. Этот рост может быть объяснен увеличением квазистационарной концентрации другого кофактора переноса электрона в восстановленном состоянии и, соответственно, увеличением вклада этого компонента в фотовосстановление кислорода.

Описанный выше характер зависимости кажущейся константы от интенсивности света в F_X-core практически не отличался. Однако в комплексах A₁-core абсолютные величины кажущихся констант при тех же самых интенсивностях света были значительно выше. Поскольку в таких комплексах именно филлохинон - терминальный кофактор переноса электронов и только радикалы семихинона могут восстановить молекулу кислорода, этот результат свидетельствует, что именно филлосемихинон ответственен за фотовосстановление кислорода в нативных комплексах ФСI.

Работа поддержана грантом РФФ 17-14-01371

1. Kozuleva et al. O₂ reduction by photosystem I involves phylloquinone under steady-state illumination. // FEBS Lett. 2014. Vol. 588. P. 4364.

ФОТОКАТАЛИЗАТОРЫ НА ОСНОВЕ TiO₂, ФУНКЦИОНИРУЮЩИЕ ПРИ ОСВЕЩЕНИИ В ВИДИМОМ ДИАПАЗОНЕ СВЕТА**TiO₂ BASED PHOTOCATALYSTS, WORKING UNDER VISIBLE LIGHT ILLUMINATION**

Константинова Е.А.^{1,2}, Кытин В.Г.¹, Марикуца А.В.³, Трусов Г.В.⁴

¹Физический Факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, 119991 Россия

²НИЦ «Курчатовский Институт», Москва, 123182 Россия, liza35@mail.ru

³Химический Факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, 119991 Россия

⁴Национальный исследовательский технологический университет "МИСиС"

Изучению наноструктурированных оксидов металлов, а также состоящих из них гетеропереходов, мезо- и микрокристаллов посвящено значительное количество работ [напр., 1–3]. Установлено, что переход от объемных фаз монокристаллов к нанокристаллам приводит к огромному росту удельной поверхности, что в свою очередь оказывает существенное влияние на электронные свойства данных объектов. В частности, природа и концентрация радикалов, их зарядовое состояние, времена релаксации спиновых моментов, процессы генерации радикалов в полупроводниковых наноматериалах оказываются весьма чувствительными к составу адсорбционного покрытия и молекулярному окружению их поверхности [1,2]. Поскольку радикалы определяют фотоэлектронные свойства наноматериалов, их исследованию методом ЭПР-спектроскопии посвящено значительное количество публикаций [1,2].

Данная работа посвящена разработке энергосберегающих функциональных материалов на основе диоксида титана, на поверхности которых происходит деградация токсичных примесей, вирусов и бактерий под действием освещения в видимом диапазоне света, продолжающаяся и после прекращения светового воздействия. В предлагаемых структурах устранены имеющиеся на сегодняшний день недостатки фотокатализаторов на основе оксидов металлов, связанные в первую очередь с необходимостью либо непрерывного освещения в видимом диапазоне и низкой скоростью фотокатализа, либо требующие фотовоздействия в УФ диапазоне. Также в большинстве случаев фотокатализаторы характеризуются деградацией каталитических свойств в процессе хранения. Разрабатываемые наносистемы предназначены, в первую очередь, для применения их в сферах экологии (очистка окружающей среды) и биомедицины (самостерилизация различных поверхностей).

Спектры ЭПР регистрировали с помощью ЭПР-спектрометра BRUKER ELEXSYS 500 (X-диапазон) при 300 К в тонкостенных кварцевых ампулах. Освещение образцов осуществляли с помощью ртутной лампы BRUKER ELEXSYS ER 202 UV. В работе были использованы собственные оригинальные методы исследования полученных структур, которые позволяют определить положение уровней радикалов в запрещенной зоне полупроводников; исследовать «in situ» процесс фотокатализа в резонаторе ЭПР-спектрометра и получить уникальную информацию, о конкретных радикалах непосредственно определяющих высокую фотокаталитическую активность образцов; зафиксировать эффекты разделения и накопления заряда. Для определения фотокаталитической (окислительной) способности фотокатализаторов была использована реакция фотодеструкции красителя Родамин 6Ж. За изменением поверхностной концентрации красителя следили по величине диффузного отражения на длине волны, соответствующей максимуму поглощения адсорбированного красителя, которая затем пересчитывалась в величину, пропорциональную поверхностной концентрации, по формуле Кубелки-Мунка. Для изучения фотобиоцидных свойств чашка Петри с образцом заполнялась раствором, содержащем бактерии *E.coli*. Проводился подсчет колоний бактерий при освещении и в темновых условиях.

Изучены структурные, электронные и фотокаталитические свойства синтезированных золь-гель методом наногетероструктур на основе TiO₂ (TiO₂/MoO₃, TiO₂/WO₃, TiO₂/V₂O₅, TiO₂/MoO₃/V₂O₅, TiO₂/MoO₃/WO₃), а также синтезированных методом пиролиза аэрозолей микросфер (TiO₂/MoO₃, TiO₂/WO₃, TiO₂/V₂O₅, TiO₂/MoO₃/V₂O₅, TiO₂/MoO₃/WO₃, TiO₂/MoO₃/V₂O₅/WO₃). Установлено, что основным типом радикалов в исследуемых образцах являются Ti³⁺/кислородные вакансии, N• радикалы, Mo⁵⁺ и V⁴⁺ центры. Наилучшей окислительной активностью и выраженными патофизиологическими свойствами обладали структуры, состоящие из трех и четырех оксидов металлов. Так, например, количество колоний бактерий, выросших на поверхности предварительно освещенного фотокатализатора TiO₂/MoO₃/V₂O₅/WO₃, было на полтора порядка величины меньше, чем для неосвещенной поверхности. Таким образом, в образцах формируется система центров захвата фотоэлектронов, которые характеризуются различными временами жизни в контакте с молекулярным кислородом, что делает возможным генерацию пероксидных соединений с высокой эффективностью в течение длительного промежутка времени после освещения.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-29-23051.

1. Chen X., Mao S.S. Titanium Dioxide Nanomaterials: Synthesis, Properties, Modifications, and Applications// Chem. Rev. 2007. Vol. 107. P. 2891.
2. Tarasov A. et al. Facile preparation of nitrogen-doped nanostructured titania microspheres by a new method of Thermally Assisted Reactions in Aqueous Sprays// J. Mater. Chem. A. 2014. Vol. 2. P. 3102.
3. Damodaran V.B. et. al. Titania nanostructures: a biomedical perspective// RSC Adv. 2015. Vol.5. P.37149.

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ МЕТОДОВ В ИЗУЧЕНИИ ВЛИЯНИЯ
ПОЛИАРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ**
**FLUORESCENT METHODS IN STUDYING OF POLYAROMATIC HYDROCARBONS
EFFECTS ON THE PHOTOSYNTHETIC APPARATUS**

Ланкин А.В.

Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения Российской академии наук, г. Пушкино
lankin_a@sibmail.com

Фотосинтетический аппарат растений является, пожалуй, наиболее чувствительным к действию стрессовых факторов компонентом растительного организма. В то же время фотосинтез растений можно назвать ключевым в смысле планетарной экологии. Среди прочего, стрессовое воздействие на фотосинтетический аппарат вызывается факторами химической природы. Полиароматические углеводороды попадают в растение из воздуха в виде аэрозолей или паров, также могут попадать непосредственно в составе различных углеводородных смесей (например, при разливе нефтепродуктов), из почвы или в виде водного раствора. В фотосинтетическом аппарате растений наиболее уязвима фотосистема 2 (ФС 2), она же, отвечая за фотосинтетическое разложение воды и производство молекулярного кислорода, является и его наиболее важным компонентом.

Для изучения влияния полиароматических углеводородов на фотосинтетический аппарат хорошо подходят флуоресцентные методы. Одним из подходов для оценки фотохимической активности ФС 2 являются методы быстрой флуоресценции и замедленной флуоресценции хлорофилла *a*. На основе кинетик индукционных кривых флуоресценции рассчитывают ряд параметров, например максимальную квантовую эффективность фотохимии ФС 2, эффективность переноса электрона на разных участках электрон-транспортной цепи, величину светоиндуцируемого образования трансмембранного градиента протонов в тилакоидных мембранах и скорость переноса электрона на акцепторной стороне ФС 2.

Нами показано, что такие параметры, как поток электронов, перенесенных с Q_A на Q_B в расчёте на один реакционный центр ФС 2; максимальные квантовые выходы электронного транспорта на участке $Q_A - Q_B$ и от Q_A до электронных акцепторов ФС 1; а также эффективность, с которой захват экситона компонентами реакционного центра ФС 2 приводит к переносу электрона с Q_A на Q_B снижались после инкубации листьев в растворе Наф в течение 24 ч и при увеличении его концентрации. Наиболее чувствительной величиной оказалась величина квантового выхода. Эти данные позволяют предположить, что Наф может ингибировать активность не только акцепторной, но частично и донорной стороны ФС 2.

В настоящее время недостаточно исследованным вопросом в литературе до сих пор остается механизм ингибирования ФА при проникновении ПАУ из атмосферы в листья. ПАУ, существующие в воздухе в виде аэрозольных частиц с диапазоном размеров от 0,03 до 44 мкм, проникают в устьица, а также оседают на восковом слое листьев. Далее они могут диффундировать внутрь зелёных клеток. Эффективным методом исследования проникновения Наф с поверхности листьев в хлорофилл-белковых комплексах (ХБК) может быть выявление его максимумов при 325 нм и 335 нм в спектре флуоресценции поверхности листьев, либо гексановых экстрактов тилакоидов при возбуждении на длине волны 266 нм с помощью спектрофлуориметра.

С помощью спектрофлуориметрического метода нами было выявлено, что нафталин проникает из паров, содержащихся в воздухе, в восковой слой поверхности листьев; что он проникает внутрь листьев; его удалось обнаружить также и в ХБК, выделенных из листьев растений гороха, выдержанных в атмосфере нафталина. На основе полученных данных можно предположить следующий механизм деградации хлорофилла через нафталин: молекула Наф под действием УФ переходит в возбуждённое состояние, при этом происходит образование продуктов фотодеградации нафталина в присутствии кислорода и образование активных форм кислорода. Вероятно, нафталин связывается с ХБК ФС2, путём образования слабых связей. Судя по всему, связь с нафталином усиливает индуцируемую ультрафиолетом деградацию хлорофилл-белковых комплексов.

Работа была поддержана грантом РФФИ № 18-34-00613 мол_а.

1. Peter G.F., Thornberg J.P., Biochemical composition and organization of higher plant photosystem II light-harvesting pigment-proteins // J. Biol. Chem. 1991. P. 16745-54

2. Kreslavski V.D, Brestic M, Zharmukhamedov S.K, Lyubimov V.Y, Lankin A.V, Jajoo A, Allakhverdiev S.I. Mechanisms of the inhibitory effects of polycyclic aromatic hydrocarbons in the photosynthetic primary processes in pea leaves and thylakoid preparations. // Plant Biology, (Stuttg) 2017, V. 19, Iss. 5, P. 683-688.

3. Ланкин А.В., Креславский В.Д., Худякова А.Ю., Жармухамедов С.К., Аллаhverдиев С.И. Влияние нафталина на фотохимическую активность фотосистемы 2. // Биохимия. 2014, Т. 79, вып. 11, с. 1493 – 1504.

ФОТОИНДУЦИРОВАННЫЕ ПРОЦЕССЫ В ГЕМОГЛОБИНЕ И МИОГЛОБИНЕ С УЧАСТИЕМ МОЛЕКУЛЯРНОГО КИСЛОРОДА**PHOTOINDUCED PROCESSES IN HEMOGLOBIN AND MYOGLOBIN WITH MOLECULAR OXYGEN PARTICIPATION***Лепешкевич С.В., Джагаров Б.М.*

Институт физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси, Минск, e-mail: s.lepeshkevich@ifanbel.bas-net.by

Фундаментальная проблема, стоящая перед биофизикой и биохимией, заключается в установлении связей между структурой, функцией и динамикой белков. На протяжении длительного времени основными моделями для понимания этих связей служат такие транспортные белки как гемоглобин и миоглобин. Известно, что молекула гемоглобина, состоящая из двух пар неэквивалентных α и β субъединиц, обладает уникальным свойством связывать четыре молекулы O_2 для их транспорта из легких в ткани, а молекула мономерного белка - миоглобина запасает и переносит O_2 внутри клеток. В работе представлены результаты исследований процесса связывания молекулярного кислорода миоглобином [1] и оксигемоглобином [2-7]. Методом наносекундной абсорбционной спектроскопии проведены исследования бимолекулярной рекомбинации молекулярного кислорода с гемоглобином человека при возбуждении в видимом спектральном диапазоне. Используя данную технику, нами были впервые измерены как константы скорости бимолекулярной ассоциации, так и квантовые выходы диссоциации O_2 для α и β субъединиц в составе тетрамера оксигемоглобина, находящегося в водной среде [2] и инкапсулированного в нанопоры прозрачной золь-гель матрицы [5]. Предложен и реализован метод измерения сродства O_2 к α и β субъединицам как в изолированном состоянии, так и в составе тетрамера гемоглобина [3]. Исследовано влияние природных аллостерических эффекторов на бимолекулярную оксигенацию α и β субъединиц в составе оксигемоглобина [4]. Применение трех экспериментальных установок лазерной кинетической абсорбционной спектроскопии в видимом диапазоне с пико-, нано- и микросекундным временным разрешением, позволило нам дать кинетическое описание связывания O_2 из внутренних областей гемоглобина [2]. Впервые были определены параметры, описывающие геминальную оксигенацию α и β субъединиц в составе оксигемоглобина [2]. Обнаружено и надежно измерено различие в кинетических характеристиках α и β субъединиц гемоглобина, тем самым, опровергнуто общепринятое мнение об идентичности субъединиц с точки зрения связывания O_2 . Кроме того, методом молекулярной динамики нами были выполнены расчеты процесса миграции молекулы O_2 в изолированной α субъединице гемоглобина в первые 25 нс после диссоциации [6]. Установлено, что после разрыва связи гемовое железо – кислород молекула лиганда посещает шесть, так называемых, ксеноновых сайтов ($Xe1 - Xe6$). Обнаружены два основных канала выхода кислорода из α субъединицы: традиционный канал – через гистидиновую His(E7) калитку и альтернативные каналы – через ксеноновые сайты белка. Далее, методом лазерной кинетической наносекундной абсорбционной спектроскопии в условиях высокого давления инертного газа ксенона экспериментально подтверждено существование указанных каналов выхода кислорода из α субъединицы гемоглобина [7]. В отличие от α субъединицы в β субъединицах молекула O_2 мигрирует по ксеноновым сайтам, не покидая матрицу белка. Выход O_2 из β субъединицы осуществляется исключительно через гистидиновую His(E7) калитку. На основании анализа всей совокупности полученных данных предложена кинетическая модель, описывающая миграцию O_2 внутри тетрамера гемоглобина и его изолированных цепей по двум альтернативным каналам с последующим повторным связыванием.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (№ Ф19МС-009).

1. Lepeshkevich S.V., Dzharagorov B.M. Effect of zinc and cadmium ions on structure and function of myoglobin // Biochim Biophys Acta 2009. Vol.1794. P.103-109.
2. Lepeshkevich S.V. et al. A kinetic description of dioxygen motion within alpha- and beta-subunits of human hemoglobin in the R-state: geminate and bimolecular stages of the oxygenation reaction // Biochemistry. 2004. Vol.43, № 6. P.1675-1684.
3. Dzharagorov B.M., Lepeshkevich S.V. Kinetic studies of differences between alpha- and beta-chains of human hemoglobin: an approach for determination of the chain affinity to oxygen // Chem Phys Lett 2004. Vol.390, № 1-3. P.59.
4. Lepeshkevich S.V., Dzharagorov B.M. Mutual effects of proton and sodium chloride on oxygenation of liganded human hemoglobin: oxygen affinities of the α and β subunits // FEBS J. 2005. Vol.272, № 23. P.6109-6119.
5. Lepeshkevich S.V. et al. Molecular oxygen binding with α and β subunits within the R quaternary state of human hemoglobin in solutions and porous sol-gel matrices // Biochim Biophys Acta 2009. Vol.1794, № 12. P.1823-1830.
6. Lepeshkevich S.V. et al. The kinetics of molecular oxygen migration in the isolated α chains of human hemoglobin as revealed by molecular dynamics simulations and laser kinetic spectroscopy // Biochim Biophys Acta 2011. Vol.1814, № 10. P.1279-1288.
7. Lepeshkevich S.V. et al. Molecular oxygen migration through the xenon docking sites of human hemoglobin in the R-state // Biochim Biophys Acta 2016. Vol.1864, № 9. P.1110-1121.

НОВЫЕ ЦИАНО-АРИЛ ПОРФИРАЗИНЫ ДЛЯ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ: ЭФФЕКТИВНЫЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРЫ И ОПТИЧЕСКИЕ СЕНСОРЫ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ВЯЗКОСТИ

NEW CYANO-ARYL PORPHYRAZINES FOR PERSONALIZED MEDICINE: EFFICIENT PHOTSENSITIZERS AND OPTICAL SENSORS OF INTRACELLULAR VISCOSITY

Лермонтова С.А.¹, Клапшина Л.Г.¹, Балалаева И.В.², Плеханов В.И.³

¹ Институт металлоорганической химии РАН, Нижний Новгород, *lermontovasa@rambler.ru*

² Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского (ННГУ), Нижний Новгород

³ Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород

В настоящее время среди ученых и практикующих клиницистов, связанных с изучением и лечением онкологических заболеваний, общепризнано что императивом развития химии лекарственных веществ, направленных на борьбу с раком, является создание препаратов, основанных на принципах «тераностики», т.е. способных одновременно выполнять как терапевтические, так и диагностические функции. Кроме того, в некоторых случаях агенты тераностики позволяет осуществлять мониторинг индивидуального терапевтического отклика на процедуру лечения в режиме реального времени.

Недавно мы сообщили о получении и исследовании фотофизических свойств новых флуоресцентных порфиразиновых пигментов, показавшие себя в качестве отличной платформы для разработки препаратов с уникальной комбинацией различных биомедицинских функций: бимодальных (флуоресцентных/МРТ) диагностических агентов, чувствительных оптических сенсоров внутриклеточной вязкости и высокоэффективные фотосенсибилизаторы в фотодинамической терапии (ФДТ) [1-2].

Нами была получена серия новых порфиразиновых макроциклов, содержащих *n*-донорные атомы (азот или кислород), атомы фтора и конденсированные ароматические группы в периферийном обрамлении макроцикла. Показано, что варьируя структуру арильных групп в обрамлении макроцикла можно добиться значительного усиления фотодинамических свойств, а, следовательно, увеличения потенциала применения пигментов в качестве фотосенсибилизаторов. Химический дизайн макроцикла варьированием периферийных арильных заместителей показал благоприятное влияние конденсированных и последовательно связанных ароматических групп, в особенности содержащих гетероатомы (O, N, S).

Кроме того, было обнаружено, что полученные циано-арил порфиразины относятся к классу флуоресцентных молекулярных роторов с характерной для них высокой чувствительностью параметров флуоресценции к локальной вязкости среды. Это открывает перспективу использования полученных порфиразиновых красителей в качестве сенсоров локальной вязкости в том числе, и в биологических системах для которых вязкость является важнейшим параметром, определяющих функциональное состояние живых клеток. Неинвазивный оптический контроль внутриклеточной вязкости дает возможность осуществлять мониторинг фотодинамического воздействия в режиме реального времени [3].

Нами впервые предложена полуэмпирическую модель, описывающая механизм возникновения свойств флуоресцентных молекулярных роторов в замкнутой макроциклической системе, содержащей π -донорные и акцепторные группы, включенные в общую систему сопряжения порфиразинового макроцикла. Модель показала хорошее соответствие с экспериментальными данными, полученными с помощью экспоненциального анализа кривых затухания флуоресценции циано-арил порфиразинов в модельных средах с различной вязкостью.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 18-73-00194).

1. Yuzhakova; S.A Lermontova, I.S Grigoryev, M.S Muravieva; A.I. Gavrina; M.V. Shirmanova, I.V. Balalaeva, L.G Klapshina, E.V Zagaynova. // *Cation. BBA - General Subjects*. 2017. Vol. 1861. I. 12. P. 3120-3130.
2. M.A. Izquierdo, A. Vysniauskas, S.A. Lermontova, I.S. Grigoryev, N.Y. Shilyagina, I. V. Balalaeva, L.G. Klapshina, M.K. Kuimova. // *J. Mater. Chem. B*. 2015. Vol. 3. I. 6. P. 1089-1096.
3. Балалаева И.В., Шилягина Н.Ю., Воденеев В.А., Уткина А.В., Воловецкий А.Б., Лермонтова С.А., Клапшина Л.Г., Григорьев И.С., Гамаюнов С.В., Турчин И.В., Плеханов В.И. Способ фотодинамической терапии с контролем эффективности в режиме реального времени. Патент РФ №2672806 Приоритет от 07.12.2017.

pH И ТЕМПЕРАТУРНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА В МЕМБРАННЫХ ПРЕПАРАТАХ ФОТОСИСТЕМЫ 2**pH AND TEMPERATURE STABILITY OF ELECTRON TRANSPORT IN THE MEMBRANE PREPARATIONS OF PHOTOSYSTEM II***Ловягина Е.Р., Сёмин Б.К.*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,
биологический факультет, кафедра биофизики, Москва, E-mail: Elena.Lovyagina@gmail.com

Фотосистема 2 (ФС2) является одним из наиболее чувствительных компонентов фотосинтетического аппарата высших растений к стрессовым воздействиям, таким, например, как высокая температура. Известно, что ингибирование выделения кислорода кислород-выделяющим комплексом (КВК) ФС2 происходит в области $\sim 40^\circ\text{C}$ в результате диссоциации внешних белков и последующего разрушения Mn_4CaO_5 -кластера. На чувствительность донорной стороны ФС2 к тепловой обработке значительное воздействие может оказывать pH среды, поскольку этот фактор влияет на протонирование/депротонирование аминокислотных остатков и молекул воды, связанных с каталитическим центром окисления воды – марганцевым кластером. В этой связи, исследование обратимых и необратимых изменений в КВК, происходящих в результате модуляции pH среды, могут способствовать пониманию механизма процесса функциональной инактивации ФС2.

В работе исследованы обратимые и необратимые pH-зависимые изменения реакции выделения кислорода и восстановления экзогенного акцептора электронов 2,6-дихлорфенолиндофенола (ДХФИФ) мембранными препаратами ФС2 шпината. Препараты ФС2 инкубировали в буфере с исследуемым значением pH, после чего переводили в буфер с оптимальным pH 6,5 и измеряли светоиндуцированное выделение O_2 и восстановление ДХФИФ. Максимальная функциональная активность при комнатной температуре наблюдалась в области pH 6,5. Незначительное снижение скорости восстановления ДХФИФ ($\sim 10\%$) отмечалось после инкубации препаратов при pH 4,5 и 7,5. Скорость выделения O_2 подавлялась значительно сильнее при кислых pH (остаточная активность 40%), в то время как после инкубации при щелочных pH сохранялась на уровне 80% от контроля. Поскольку после инкубации в буфере с исследуемым pH активность измерялась в буфере с оптимальным для функционирования ФС2 pH 6,5, наблюдаемое подавление активности отражает только необратимые изменения в мембранах под воздействием pH. При стандартном же измерении O_2 -выделяющей активности (в буфере с исследуемым pH) изменения активности вызваны сочетанием как необратимых, так и обратимых воздействий pH на мембраны. При стандартном измерении pH-зависимость имеет классическую колоколообразную форму в пределах pH 4,5 – 8,0 с максимумом в области pH 6,5. Сравнение pH-зависимостей, полученных этими двумя способами, показало, что ингибирование восстановления ДХФИФ в области кислых и щелочных pH в пределах pH 4,5 – 8,0 практически обратимо, тогда как ингибирование выделения O_2 в области кислых pH 4,5 – 5,5 в значительной степени необратимо, но существенно обратимо в области щелочных pH. Ингибирование реакции выделения O_2 в области кислых pH частично определяется диссоциацией периферических белков PsbP и PsbQ и/или экстракцией катиона Ca^{2+} из КВК, а в области щелочных pH в значительной степени обусловлено экстракцией анионов хлора. Высокоаффинный Mn-связывающий участок в мембранных препаратах ФС2 без марганцевого кластера ингибируется в пределах pH 4,0 - 8,0, но обратимо.

Нами также исследовано влияние pH на термоинактивацию кислород-выделяющего комплекса в препаратах ФС2 без кальция. Функциональная активность КВК определялась по скорости восстановления ДХФИФ электронами, поступающими с донорной стороны ФС2 без кальция при освещении препарата. Обнаружено, что устойчивость КВК к действию температуры в таких препаратах существенно зависит от pH: устойчивость минимальна при pH 6,5, увеличивается при снижении pH до 5,7 и остается практически постоянной при дальнейшем уменьшении pH до 4,0. Поскольку в экспериментах использовались частицы ФС2 без кальция, процесс светоиндуцируемого восстановления ДХФИФ обусловлен только реакцией неполного окисления воды (не до молекулярного кислорода, а до перекиси водорода), катализируемой марганцевым кластером. Поэтому снижение скорости восстановления ДХФИФ при pH 6,5 по сравнению с pH 5,7 после прогрева препаратов максимально при 50°C свидетельствует об увеличении скорости терморазрушения марганцевого кластера при pH 6,5. То есть, можно предполагать, что при pH 5,7 марганцевый кластер более устойчив к действию температуры. Эти результаты хорошо соотносятся с полученными нами ранее данными [1, 2], демонстрирующими тот факт, что при pH 5,7 имеет место структурный переход в КВК, сопровождающийся увеличением устойчивости катионов марганца в кластере к действию таких восстановителей как гидрохинон и Fe(II).

1. Semin B.K. et al. Correlation between pH dependence of O_2 evolution and sensitivity of Mn cations in the oxygen-evolving complex to exogenous reductants // Photosynth. Res. 2015. Vol. 125. P. 95.
2. Semin B.K. et al. Creation of a 3Mn/1Fe cluster in the oxygen-evolving complex of photosystem II and investigation of its functional activity // J. Photochem. Photobiol. B. 2018. Vol. 178. P. 192.

ВЛИЯНИЕ АССОЦИАЦИИ ПРОИЗВОДНЫХ АДЕНИНА НА ФОТОПРОДУКЦИЮ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ ПРИ 77 К**EFFECT OF ADENIN DERIVATIVES ASSOCIATION ON PHOTO PRODUCTION OF HYDROGEN PEROXIDE IN AQUEOUS SOLUTIONS AT 77 K***Лозина Т.А., Лобанов А.В.¹, Ландер А.В.², Бржевская О.Н.*

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, taloz@mail.ru

¹Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва²Институт теории прогноза землетрясений и математической геофизики РАН, Москва

В серии наших работ приведены результаты сопоставления оценок общего количества парамагнитных продуктов в облученных ближним УФ при 77 К водных растворах производных аденина (АХ) – аденина (А), аденозина (Адо) и аденозин-5'-дифосфата (ADP), полученных методом ЭПР, с содержанием пероксида водорода (H₂O₂), определяемым в этих образцах после их размораживания ([1, 2] и ссылки в этих работах).

Выполнены исследования влияния условий облучения (концентрация АХ, полоса и интенсивность облучения, содержание неорганических солей – NaCl, CaCl₂, ZnCl₂, NaH₂PO₄) на интегральную интенсивность (Int) и состав сигналов ЭПР (определяемый путем их компьютерного моделирования) и выход H₂O₂ в облученных растворах. При относительно высоком содержании АХ (1 × 10⁻³ М) в растворах АХ + 0.1 М NaCl и, соответственно, высоких Int показана корреляция между выходом H₂O₂ и содержанием радикалов HO₂[•] (а также произведением [HO₂[•]] × [O₂^{-•}]), свидетельствующая о возможности образования H₂O₂ при взаимодействии пероксильных радикалов – путь I.

При некотором ограничении интенсивности облучения эффективность образования H₂O₂, оцениваемая по отношению [H₂O₂] к Int сигналов ЭПР, наблюдаемых в облученных образцах, α, увеличивается при освещении образцов в диапазоне длин волн λ = 290–460 нм (захватывающем лишь малую область поглощения АХ), и приводящему к слабым сигналам ЭПР (низкие величины Int) по сравнению с этой величиной, получаемой при облучении в диапазоне λ = 260–400 нм, включающем основную полосу поглощения АХ (светофильтры ФС-6 и УФС-5, соответственно). В ряде случаев существенное образование H₂O₂ наблюдается вообще в отсутствие измеримых сигналов ЭПР.

Для [Адо] = 2 × 10⁻⁴ М выход H₂O₂ (время освещения = 16 мин, светофильтр УФС-5), умеренная интенсивность освещения, равен ≈ 65 мкМ. Выход H₂O₂ снижается в последовательности Адо > ADP > А: 1 / 0.6 / 0.3 и 1.3 / 0.8 / 0.4 (при освещении с светофильтром ФС-6). В присутствии 0.1 М NaCl выход H₂O₂ (и, в значительно большей степени, Int сигналов ЭПР) для всех соединений возрастает: 1.7 / 0.7 / 0.4 (для светофильтра УФС-5) и 1 / 0.7 / 0.5 (для ФС-6). Данная последовательность в целом совпадает с последовательностью изменения констант самоассоциации АХ (K_{sa}^{АХ}) в жидких водных растворах по литературным данным: K_{sa}^{Адо} > K_{sa}^{ADP} и K_{sa}^{Адо} > K_{sa}^А. Соответствующее падение α в образцах, содержащих NaCl, по-видимому, связано с дезагрегирующим действием соли NaCl [3].

Наблюдаемое в ряде случаев увеличение выхода H₂O₂ при облучении с светофильтром ФС-6 может быть обусловлено увеличением оптического поглощения при λ > 300 нм в ассоциатах АХ [4]. Таким образом, можно предполагать существование, по-видимому, весьма эффективного канала образования H₂O₂, связанного с агрегацией АХ в замороженных водных растворах, при реализации которого происходит минимальный выброс свободных радикалов в раствор, вплоть до отсутствия измеримых сигналов ЭПР (путь II).

Введение в растворы АХ + NaCl добавок солей, влияющих на ассоциацию АХ (CaCl₂, ZnCl₂, NaH₂PO₄), в концентрациях ≤ 5 × 10⁻⁴ М всегда приводит к падению Int в случаях увеличения выхода H₂O₂ и к возрастанию Int в случаях падения выхода H₂O₂ (УФС-5). Максимальное возрастание выхода H₂O₂ наблюдалось для А – в присутствии Zn²⁺ (~ 20-кратное), в присутствии неорганического фосфата (~ в 10 раз). Выход H₂O₂ иногда превышает растворимость O₂ в водных растворах. Таким образом, возникает требующий разрешения вопрос о возможном участии H₂O в наблюдаемых процессах.

Уникальность АХ по сравнению с производными других нуклеиновых оснований в отношении фотопродукции H₂O₂ под действием ближнего УФ облучения (ссылки в [1, 2]), в частности – способность к эффективной фотопродукции H₂O₂ при облучении с λ ≥ 290 нм (граница солнечного излучения, достигающего земной поверхности), могла бы предопределять их роль в процессах эволюционной биохимии.

1. Лозина Т.А., Лобанов А.В., Ландер А.В. Влияние условий облучения на выход пероксида водорода в замороженных водных растворах производных аденина // Журн. физ. химии. 2018. Т. 92. № 10. С. 1653–1662.
2. Лозина Т.А., Лобанов А.В., Ландер А.В. Влияние ионов Zn²⁺ и Ca²⁺ на фотопродукцию пероксида водорода в замороженных водных растворах производных аденина // Журн. физ. химии. 2019. Т.93. №5. В печати.
3. Kleinwächter V. Influence of matrix composition on the low temperature emission spectra of purine and pyrimidine derivatives // Collection Czechoslov. Chern. Cornrnun. 1972. V. 37. P. 1622–1636.
4. Banyasz A., Vaya I., Changenet-Barret P. et al. Base Pairing Enhances Fluorescence and Favors Cyclobutane Dimer Formation Induced upon Absorption of UVA Radiation by DNA // J. Am.Chem. Soc. 2011. V. 133. P. 5163.

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ И ТЕМПЕРАТУРЫ НА ПЕРЕНОС ЭНЕРГИИ ОТ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК К ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИМ РЕАКЦИОННЫМ ЦЕНТРАМ RB. SPHAEROIDES

ELECTROSTATIC INTERACTIONS AND TEMPERATURE EFFECTS ON THE ENERGY TRANSFER FROM QUANTUM DOTS TO PHOTOSYNTHETIC REACTION CENTERS RB. SPHAEROIDES

Лукашев Е.П., Красильников П.М., Сейфуллина Н.Х., Нокс П.П.

МГУ им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, 119234 Москва, E-mail: lukashev@biophys.msu.ru

В настоящее время интенсивно исследуются возможности создания фотопреобразующих устройств с использованием фоточувствительных белков, в частности, фотосинтетических реакционных центров (РЦ), и флуоресцентных полупроводниковых нанокристаллов (квантовых точек, КТ). Соответственно возникают вопросы исследования эффективности переноса энергии от КТ к РЦ в зависимости от различных условий (расстояния и взаимная ориентация компонентов, состав среды, температура, гидратация и т.д.).

В работе использовались РЦ, выделяемые из клеток бактерий *Rhodobacter sphaeroides* при помощи детергента ЛДАО. В качестве КТ использовали нанокристаллы CdSe/CdS/ZnS, функционализированные гидрофильным полимерным покрытием с терминальными отрицательно заряженными $-\text{COO}^-$ группами (РТ-тип,) либо с положительно заряженными $-\text{NH}_3^+$ группами (Т-APS-тип, Rusnanotech, Dubna). Первые имели максимум люминесценции при 580 нм, вторые – при 600 нм. Флуоресцентные измерения проводили на приборе Fluorolog-3 (HORIBA Jobin Yvon Inc. Франция). Время жизни флуоресценции τ регистрировали с помощью приставки TCSPC (Time Correlated Single Photon Counting) при возбуждении импульсным светодиодом NanoLED (HORIBA Scientific), $\lambda_{\text{излуч.}} = 390$ нм, полуширина импульса 0,8 нс. Кинетику флуоресценции анализировали с помощью программы DAS-6 (Fluorescence Decay Analysis Software).

Исследования переноса энергии от КТ обоих типов к РЦ в водных растворах свидетельствуют о том, что этот процесс идет по механизму FRET с образованием электростатически связанного комплекса КТ-РЦ. При этом положительно заряженные КТ локализуются преимущественно на периплазматической поверхности РЦ, которая согласно проведенным расчетам электростатического поля вокруг белка, имеет большую плотность отрицательных зарядов. Отрицательно заряженные КТ локализуются преимущественно на цитоплазматической стороне РЦ с большей плотностью положительных зарядов. Поскольку акцепторы энергии – порфирины РЦ – находятся в структуре РЦ вблизи периплазматической стороны, то эффективность переноса энергии от положительно заряженных КТ выше, чем от отрицательно заряженных. При увеличении концентрации соли (NaCl: 0,1 М и 1,0 М) в среде, т.е. при увеличении ионной силы раствора, заряды на поверхности РЦ частично экранируются ионами соли. Соответственно, различия в распределении КТ с разными зарядами на поверхности РЦ уменьшаются и исчезают наблюдаемые различия в эффективности переноса энергии к РЦ от разных КТ.

Исследовали также эффект ковалентной сшивки между КТ и РЦ на перенос энергии между ними, для чего использовали карбодимидный метод образования амидной связи. Используемые с этой целью КТ РТ-типа, имеют гидрофильное покрытие с $-\text{COO}^-$ концевыми группами. Эти группы потенциально могут образовывать амидную связь со свободными аминогруппами лизина на поверхности белка РЦ. Такая реакция с очень низким выходом способна идти в растворе, без реализации специальных условий. Вместе с тем, возможно существенно повысить скорость реакции, добавив в реакционный объем катализатор - 1-этил-3,3-диметиламинопорил-карбодимид (EDC), активирующий COOH -группы на поверхности КТ. Результаты показали, однако, что ковалентное связывание отрицательно заряженных КТ с РЦ не увеличило эффективность переноса энергии к РЦ. Это свидетельствует, вероятно, что электростатическое связывание КТ с РЦ само по себе обеспечивает достаточно тесный контакт для эффективного переноса энергии к РЦ.

О влиянии внутримолекулярной подвижности белкового компонента на эффективность миграции энергии в системе КТ-РЦ свидетельствует изучение эффективности этой миграции в широком диапазоне температур. При изучении взаимодействия между КТ и РЦ в зависимости от температуры исследовали водно-глицериновую (70%) суспензию КТ и воздушно-сухие пленки. Результаты, полученные для препаратов в водно-глицериновой суспензии и в виде сухой пленки, были сходны. Температурная зависимость эффективности миграции энергии от КТ с терминальными отрицательно заряженными $-\text{COO}^-$ группами практически постоянна в диапазоне от 100 до ~ 230 -240 К, но затем снижается в 2,5-3 раза при дальнейшем росте температуры до 310 К. Теоретический анализ данной зависимости на основе теории Фёрстера показал, что основные изменения эффективности переноса энергии связаны с температурным изменением величины квантового выхода флуоресценции КТ, а также с активацией в соответствующем температурном диапазоне внутримолекулярной подвижности в структуре РЦ.

УРОВЕНЬ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И ПОКАЗАТЕЛИ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КЛЕТОК АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА В УСЛОВИЯХ ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ**THE LEVEL OF REACTIVE OXYGEN SPECIES AND EHRLICH ASCITES CARCINOMA CELLS VIABILITY IN PHOTODYNAMIC ACTION***Лысенко Ю.А., Данилов Н.Е., Слиман Я.А., Литвинов Н. В., Артюхов В.Г.*

ФГБОУ ВО «ВГУ», Воронеж, lysenko@bio.vsu.ru

В настоящее время в связи с развитием метода фотодинамической терапии заболеваний опухолевого генеза являются актуальными исследования механизмов воздействия видимого света в присутствии сенсibilизатора на структурно-функциональные характеристики малигнизированных клеток. Для оценки уровня фотодинамического воздействия на клетку и определения степени модификации ее компонентов, а также выявления типов последующей клеточной гибели и поиска путей ее регуляции представляется необходимым исследовать изменения ряда внутриклеточных показателей, характеризующих ответную реакцию системы на действие рассматриваемого экзогенного фактора и определяющих направления дальнейшего функционирования клетки. Известно, что основными индукторами клеточной гибели в результате фотодинамического воздействия являются генерируемые при облучении активные формы кислорода (АФК), а одной из ключевых структур клетки, принимающих участие в реализации клеточной смерти — митохондрии [1—3]. В связи с этим целью настоящей работы явилось исследование изменений уровня АФК в клетках асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ) и выявление корреляций между величиной этого показателя и степенью модификации параметров, определяющих жизнеспособность неоплазмы (мембранного потенциала митохондрий ($\Delta\phi_m$), концентрации свободного цитоплазматического кальция ($[Ca^{2+}]$) внутриклеточной концентрации АТФ ($[ATP]$), в условиях облучения красным светом (665 нм) и темновой инкубации в присутствии фотосенсibilизатора — метиленового голубого (МГ). В качестве объекта исследования использовали суспензию клеток АКЭ, пролиферирующей в перитонеальной полости мышей NMRI. Изменения уровней $\Delta\phi_m$, АФК, Ca^{2+} регистрировали методами спектрофлуориметрии и проточной цитофлуориметрии с использованием флуоресцентных зондов TMRE, DCFH₂-DA и Fura-2/AM соответственно. Уровень внутри- и внеклеточной АТФ определяли методом хемилюминесценции (в присутствии люциферина и люциферазы).

Установлено, что фотомодификация суспензии клеток АКЭ в смеси с МГ (10^{-6} и 10^{-5} моль/л) в дозах 0,3—4,5 Дж/см² сопровождается повышением уровня внутриклеточных АФК, при этом значения регистрируемого показателя в отношении МГ (10^{-5} моль/л) превышали таковые для красителя в меньшей на порядок концентрации в 2,0—2,6 раза. Выявлено, что облучение клеток АКЭ в диапазоне доз 0,3—18,0 Дж/см² в смеси с МГ (10^{-6} , 10^{-5} и 10^{-4} моль/л) способствует снижению уровня $\Delta\phi_m$ клеток, степень уменьшения которого коррелирует с величиной дозы облучения и значением концентрации сенсibilизатора. Проведены эксперименты по исследованию изменений величины мембранного потенциала в присутствии ингибиторов компонентов электронтранспортной цепи — верапамила и азида натрия (также является тушителем синглетного кислорода). Продемонстрировано, что в условиях темновой инкубации суспензии клеток АКЭ в присутствии МГ (10^{-4} моль/л) в течение 4 ч наблюдается постепенное увеличение концентрации Ca^{2+} по сравнению со значениями таковой контрольных (немодифицированных) клеток (в конечной точке регистрации $[Ca^{2+}]$ превышала исходную в 4 раза), а облучение образцов в дозе 4,5 Дж/см² в присутствии красителя в аналогичной концентрации и последующая инкубация в течение 4 ч приводили к росту $[Ca^{2+}]$ на 50 % непосредственно после фотомодификации и на 800 % через 4 ч наблюдения. Установлено, что после фотомодификации образцов в дозе 18,0 Дж/см² в смеси с МГ (10^{-4} моль/л) наблюдается увеличение концентрации внеклеточной АТФ в 3,9 раза (по сравнению с уровнем таковой контрольного образца), увеличение интенсивности света, рассеянного клетками под малыми углами, а также снижение уровня жизнеспособности клеток на 61,2 %.

Таким образом, нами показано, что облучение (665 нм) и темновая инкубация суспензии клеток АКЭ в присутствии МГ индуцируют повышение уровня внутриклеточных АФК, при этом наблюдалась корреляция этих показателей с величиной изменений $\Delta\phi_m$, а также $[Ca^{2+}]$, степень которых определялась концентрацией сенсibilизатора и дозой светового воздействия. Полученные результаты могут быть использованы для оптимизации условий реализации метода фотодинамической терапии злокачественных новообразований.

1. Mroz P., Yaroslavsky A., Kharkwal G.B., Hamblin M.R. Cell death pathways in photodynamic therapy of cancer // *Cancers (Basel)*. 2011. Vol. 3. № 2. P. 2516—2539.
2. Kessel D., Oleinick N.L. Cell death pathways associated with photodynamic therapy: an update // *Photochemistry and Photobiology*. 2018. Vol. 94. P. 213—218.
3. Mahalingam S.M., Ordaz J.D., Low P.S. Targeting of a photosensitizer to the mitochondrion enhances the potency of photodynamic therapy // *ACS Omega*. 2018. Vol. 3. № 6. P. 6066—6074.

ПАРАМЕТРЫ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА У SOLANUM TUBEROSUM В УСЛОВИЯХ ДЕСТРУКЦИИ ТУБУЛИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА

PARAMETERS OF FLUORESCENCE OF CHLOROPHYLL IN SOLANUM TUBEROSUM UNDER CONDITIONS FOR DESTRUCTION OF TUBULIN CYTOSKELETON

Макеева И.Ю. Пузина Т.И.

ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С.Тургенева», Орёл, makeevainna@inbox.ru

Изучение параметров флуоресценции хлорофилла в фотофизическом этапе фотосинтеза имеет значение для качественной оценки поглощённой энергии света, используемой в данном процессе. Флуоресценция доказывает, что не вся поглощённая хлорофиллом энергия необходима для фотосинтеза. Целью исследования было изучить влияние фармакологического стресса, вызванного действием деструктурирующего агента микротрубочек колхицина на некоторые параметры флуоресценции у *Solanum tuberosum*. Объектом исследования служили растения картофеля сорта Жуковский ранний, выращенные в почвенной культуре в условиях вегетационного домика. В сосуде, содержащем 10 кг серой лесной среднесуглинистой почвы выращивали одно растение и поддерживали влажность 60 % от полной влагоёмкости. Деструкцию тубулинового цитоскелета проводили через 15 суток после появления всходов путём опрыскивания растений раствором алкалоида трополонового ряда колхицина в концентрации 1 мМ (Fluka, Швейцария). В данной концентрации колхицин связывается с гетеродимером тубулина и предотвращает его полимеризацию, а также вызывает быструю разборку микротрубочек. Исследование параметров флуоресценции хлорофилла проводили на приборе GFS-3000 FL («HainzWalz», Германия) через семь суток после обработки растений. Деструкция микротрубочек вызывала уменьшение максимальной флуоресценции хлорофилла (на 12%), что может свидетельствовать о некоторых нарушениях в фотосинтетическом аппарате и уходе энергии при «закрытых» центрах. При этом практически не повлияла на исходный уровень флуоресценции (F_0), а также утечку электронов с Q_A . Происходило снижение (на 28%) максимального квантового выхода фотохимической реакции (F_v/F_m). Это означает, что перед измерением растение было подвержено влиянию стресса. На фоне неизменного фонового уровня флуоресценции не изменился коэффициент фотохимического тушения флуоресценции (qP), который является мерой общей открытости реакционных центров. Деструкция микротрубочек вызвала значительное (в 3.3 раза) нефотохимическое тушение флуоресценции (NPQ), что связывают с процессами, ответственными за преобразование в тепло части энергии, поглощённой в световой фазе фотосинтеза. Оно активизируется при повреждении в результате действия стрессовых факторов. Квантовый выход контролируемого рассеивания энергии фотосистемы II ($Y(N0)$) в условиях деструкции микротрубочек существенно повышался, что указывает на чрезмерную плотность потока фотонов и сохранение некоторых физиологических резервов, позволяющих защитить растение путем диссипации избыточной энергии возбуждения в безвредное тепло. Таким образом, можно заключить, что деструкция тубулинового цитоскелета колхицином является фармакологическим стрессом для растений картофеля, о чём свидетельствуют изученные параметры флуоресценции. Выявленные изменения в показателях флуоресценции в условиях деструктурированного тубулинового цитоскелета могут быть связаны с нарушением цитоскелет-мембранного континуума.

ФОТОДИМЕРИЗАЦИЯ ТИМИНОВЫХ ХРОМОФОРОВ В ПОЛИ-Т

THYMINE CHROMOPHORES PHOTODIMERISATION IN POLY-T

Малкин В.М.^{1,2}, Рапопорт В.Л.³

¹Михайловская военная артиллерийская академия, Санкт-Петербург, vlmalkin@yandex.ru

²Военно-морская академия, Военно-морской политехнический институт, Санкт-Петербург

³Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

Фотофизические и фотохимические процессы в водных растворах политимидиловой кислоты (поли-Т) привлекли нас как биологической важностью всякого фотопроцесса, идущего с участием компонентов ДНК [1], так и потенциальной возможностью их использования для обратимой фотохимической записи информации [2, 3].

Гетерогенность водных растворов политимидиловой кислоты (poly-T) при комнатной температуре установлена методами люминесцентной и абсорбционной спектроскопии: мы наблюдали смещение спектра возбуждения люминесценции относительно спектров поглощения. Как оказалось, важную роль в фотохимии поли-Т играет пространственная структура этого полимера, которую он приобретает в водном растворе.

С использованием метода разностных спектров поглощения нами было выявлено, что первоначально в фотохимические реакции вступают наиболее фотохимически активные стэкинг-агрегаты тиминовых оснований, имеющие оптимальную для циклобутановой фотодимеризации структуру и, соответственно,

наибольший квантовый выход этой реакции, около 4%. Удалось выявить спектры двух типов таких агрегатов, первый имел полосы поглощения – 250 и 280 нм (экситонное расщепление 4300 см^{-1}), а второй – 260 и 290 нм (экситонное расщепление 4000 см^{-1}). По исчерпанию оптимально ориентированных тиминовых хромофоров скорость реакции замедляется примерно в 20 раз, в неё вступают тиминовые хромофоры, не образующие стэкинг-агрегатов, о чём говорят их спектры поглощения, не демонстрирующие характерного для наиболее фоточувствительной фракции расщепления. По расщеплённым спектрам поглощения наиболее фотохимически активной фракции тиминовых хромофоров в поли-Т удалось выявить угол их поворота друг относительно друга (36°).

Следует отметить неполную обратимость наблюдавшейся нами фотодимеризации, связанную, вероятно, с накоплением фотоаддуктов по ходу реакции.

1. Смит К., Ф.Хэнеулт. Молекулярная фотобиология. М., 1971
2. Рапопорт В.Л. Нуклеиновые кислоты – перспективный материал для биокомпьютинга? // Тезисы докладов Всесоюзной школы-семинара по биомолекулярному компьютеру. 27–31 Мая 1991, Москва, с.40
3. Yano Ei, S.Tatsuura. Reversible Photodimerization of Amphiphilic Thymine Derivatives in Langmuir-Blodgett Films // Thin Solid Films. 1991, v.196, №1, p. 147–151

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ SPAD 502 PLUS ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ХЛОРОФИЛЛА В ЛИСТЬЯХ С ПРИЗНАКАМИ МЕЖЖИЛКОВОГО ХЛОРОЗА

USE OF A SPAD-502 METER TO MEASURE CHLOROPHYLL CONTENT IN LEAVES WITH INTERVEINAL CHLOROSIS

Мамаев А.В., Шибеева Т.Г., Шерудилов Е.Г.

Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», г. Петрозаводск

Оптические приборы, позволяющие быстро и без повреждения растений определять содержание хлорофилла в листьях растений давно и с успехом применяются в науке и практике растениеводства. Одним из широко применяемых экспресс-анализаторов хлорофилла является SPAD 502 PLUS (KonicaMinolta, Japan). Принцип измерения основан на определении разности спектрального поглощения хлорофиллом в двух диапазонах спектра – красном (650 нм) и инфракрасном (940 нм). Прибор широко используется в качестве N-тестера, так как исследования показали высокую корреляцию между измерениями и содержанием азота в листьях. Несмотря на все преимущества применения неинвазивных способов определения содержания хлорофилла в листьях, существует и ряд ограничений. Известно, что различия в морфологии и структуре листьев, а также неравномерное распределение хлорофилла в листовой пластинке могут накладывать ограничения на использование тех или иных индексов содержания хлорофилла, измеренных с помощью оптических приборов. В таких случаях требуется проверка уравнений калибровки, используемых для перевода показаний приборов в значения содержания хлорофилла.

В нашей работе мы провели проверку применимости экспресс-анализатора хлорофилла SPAD 502 PLUS для определения содержания хлорофилла в листьях с признаками межжилкового хлороза. Межжилковый хлороз возникает у растений в результате дефицита железа, цинка или магния, а также как результат фотоповреждения листьев в условиях избыточного освещения. Хлоротичные (пятнистые) листья в этом случае характеризуются неравномерным распределением хлорофилла в листовой пластинке.

Исследования проводили на листьях томата (*Lycopersicon esculentum* L.) с разной степенью фотоповреждения в виде межжилкового хлороза в результате выращивания растений в условиях круглосуточного освещения. Значения индекса содержания хлорофилла, полученные с помощью SPAD 502 PLUS варьировали в диапазоне от 5.6 до 50. Реальное содержание хлорофиллов *a* и *b*, определенное с помощью спектрофотометра СФ-2000 (Спектр, Россия) в экстрактах пигментов в 96% этиловом спирте варьировало от 0,001 до 0,034 мг/см². Параллельно такие же измерения были сделаны на листьях растений, выращенных в условиях нормального для томата 16 ч фотопериода, испытывающих в разной степени дефицит азотного питания. Показания SPAD 502 PLUS у них варьировали от 18.7 до 57.8, а реальное содержание хлорофилла от 0,010 до 0,043 мг/см².

Полученные линейные регрессии имели коэффициентом корреляции (показывающие взаимосвязь между измеренными и реальными показателями содержания хлорофилла в листьях) для листьев с разной степенью дефицита азота $r^2=0,90$ и для хлоротичных листьев $r^2=0,89$.

Таким образом, ввиду высокого коэффициента корреляции между индексом содержания хлорофилла, измеренным с помощью SPAD 502 PLUS, и реальной концентрацией хлорофилла, определенной в экстрактах пигментов спектрофотометрическим способом, можно сделать вывод, что использование прибора SPAD 502 PLUS возможно для измерения относительной концентрации хлорофилла в листьях с признаками межжилкового хлороза, выраженного в разной степени.

ПРЯМОЕ ОПТИЧЕСКОЕ ВОЗБУЖДЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО КИСЛОРОДА В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ

DIRECT OPTICAL EXCITATION OF MOLECULAR OXYGEN IN AQUEOUS SOLUTIONS AND BIOLOGICAL SYSTEMS

Микulich А.В., Татур Г.А., Ананич Т.С., Третьякова А.И., Плавская Л.Г., Леусенко И.А., Плавский В.Ю.

Институт физики НАН Беларуси, г. Минск, E-mail: a.mikulich@ifanbel.bas-net.by

Интерес исследователей к прямому возбуждению молекулярного кислорода с целью получения его синглетного состояния связан с возможностью применения светоокислородного эффекта в практической медицине.

В работе исследованы генерация в водных растворах и биологический эффект синглетного кислорода при прямом возбуждении молекулярного кислорода лазерным излучением с длинами волн $\lambda = 635$ нм и 760 нм. Исследования проводили в кварцевых кюветках с внутренними размерами 3,5 мм \times 3 мм. Воздействие излучением на растворы проводили со дна кюветки. В процессе облучения верх кюветки оставался открытым, чем обеспечивалось постоянное поступление кислорода. Плотность мощности воздействующего излучения составляла $P = 2,5$ Вт/см². Детектирование синглетного кислорода осуществлялось с использованием флуоресцентного зонда SOSG (Singlet Oxygen Sensor Green), селективного к образованию синглетного кислорода. Спектрально-люминесцентные исследования проводились с использованием спектрофотометра РВ 2201 (Солар, Республика Беларусь) и спектрофлуориметра RF-5301 PC (Shimadzu Corp., Япония). Спектры флуоресценции зонда SOSG регистрировали в диапазоне 500-750 нм (длина волны возбуждения - 480 нм).

В качестве биологической тест-системы использовалась культура клеток BGM. Клетки ($8 \cdot 10^4$ кл./мл) пассировали в чашки Петри и растили по стандартной методике в СО₂-инкубаторе. Морфология клеток до и после воздействия оптическим излучением исследовалась с использованием инвертированного микроскопа Axio Vert.A1 FL (Carl Zeiss, Германия) с цифровой CCD камерой Axioscam 506 Color. Оценка биологического эффекта, вызванного генерацией синглетного кислорода в системе, проводилась с помощью колориметрического метода (МТТ-тест).

Результаты исследований показывают, что при воздействии на водные растворы зонда SOSG оптическим излучением в полосы поглощения молекулярного кислорода, соответствующие димольным (635 нм) и мономольным переходам (760 нм), происходит эффективная наработка синглетного кислорода. Об этом свидетельствует резкое изменение флуоресцентных характеристик зонда по мере увеличения времени воздействия излучением на указанные растворы. Следует отметить, что генерация синглетного кислорода в системе не связана с прямым возбуждением молекул флуоресцентного зонда SOSG, поскольку оптическое излучение с длинами волн 635 и 760 нм находится вдали от спектра поглощения зонда. При этом при замене водных растворов на дейтерированные аналоги эффективность наработки увеличивается в несколько раз. Добавление азидата натрия (NaN₃, концентрация 5 мМ), известного тушителя синглетного кислорода, в исследуемую систему вызывает снижение наблюдаемого эффекта до уровней, характерных для контрольного образца.

Воздействие на культуру клеток излучением $\lambda = 760$ нм с плотностью мощности $P = 2,5$ Вт/см² в течение 180 мин. вызывает существенное изменение их морфологии и последующую гибель клеток. Механизм действия лазерного излучения не связан с тепловыми эффектами. Добавление азидата натрия (5 мМ) в ростовую среду перед воздействием оптическим излучением $\lambda = 760$ нм значительно снижает ингибирующий эффект – количество жизнеспособных клеток составляет ($85,6 \pm 1,3$) %. Данный факт свидетельствует о том, что механизм фотобиологического действия оптического излучения обусловлен генерацией синглетного кислорода в исследуемой системе.

Таким образом, возбуждение оптическим излучением $\lambda = 635$ нм и 760 нм в полосы поглощения молекулярного кислорода вызывает эффективную генерацию синглетного кислорода в исследуемой системе (водные растворы и культура клеток).

Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований по проекту Ф18ВГ-001.

ФОТОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО И СВЕТОДИОДНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ВИДИМОЙ И БЛИЖНЕЙ ИК ОБЛАСТИ СПЕКТРА

PHOTOBIOLOGICAL EFFECT OF LOW-INTENSITY LASER AND LED RADIATION OF VISIBLE AND NEAR IR SPECTRAL RANGE

Микулич А.В.¹, Ананич Т.С.¹, Третьякова А.И.¹, Плавская Л.Г.¹, Леусенко И.А.¹, Дудинова О.Н.¹, Татур Г.А.¹, Плавский В.Ю.¹, Quoc Tien Tran², Quang Tong Cong²

¹Институт физики НАН Беларуси, г. Минск, E-mail: a.mikulich@ifanbel.bas-net.by

²Институт материаловедения ВАНТ, г. Ханой

В настоящей работе исследовано влияние низкоинтенсивного излучения различного спектрального диапазона лазерных и светодиодных источников на биологические процессы в условиях *in vitro*. В качестве биологического объекта была выбрана культура фибробластоподобных клеток почечной ткани зеленой мартышки (BGM). Клетки выращивали в одноразовых стерильных чашках Петри на питательной среде Игла с 10%-ным содержанием эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота при 37° С и 5%-ным содержанием CO₂ в инкубаторе. Посевная доза клеток составляла 8·10⁴ кл./мл.

В экспериментах использовали поляризованное излучение лазерных источников с длинами волн $\lambda = 405, 445, 520, 635, 808$ нм (полуширина спектра $\Delta\lambda = 5$ нм) и светодиодных источников с длинами волн $\lambda = 405$ ($\Delta\lambda = 30$ нм), 445 ($\Delta\lambda = 20$ нм), 525 ($\Delta\lambda = 20$ нм), 635 ($\Delta\lambda = 20$ нм), 850 ($\Delta\lambda = 30$ нм) нм. В случае светодиодных источников для получения поляризованного излучения использовался тонкопленочный поляризатор. Клеточный монослой в чашках Петри подвергался излучению через дно чашек. Плотность мощности излучения для лазерных и светодиодных источников составляла $P = 3$ мВт/см².

Метаболическая активность клеток после воздействия оптическим излучением определялась с использованием колориметрического метода (МТТ-тест).

Исследование фотобиологического эффекта низкоинтенсивного оптического излучения различных длин волн проводили также с использованием анализа заживления ран в условиях *in vitro* (wound healing assay). Оценку проводили по изменению площади раны, нанесенной в клеточном монослое, в моменты времени $t = 0, 6, 24$ ч после воздействия излучением. Для записи изображений клеточной культуры с ранами и последующего анализа использовали инвертированный микроскоп AxioVert.A1 FL (Carl Zeiss, Германия) с цифровой CCD камерой AxioCam 506 Color и программу ImageJ.

Результаты исследований показывают, что воздействие низкоинтенсивного лазерного излучения различного спектрального диапазона на культуру клеток вызывает как стимуляцию, так и ингибирование метаболической активности. Так, излучение фиолетовой (405 нм) и синей (445 нм) областей спектра характеризуется ингибирующим эффектом, излучение зеленой области спектра практически не влияет (для данной культуры клеток) на метаболическую активность клеток ($p > 0,05$ по сравнению с контрольной группой), а излучение красной и ближней инфракрасной областей спектра оказывает стимулирующее действие. При этом, максимальный стимулирующий эффект для лазерного излучения красной и инфракрасной областей спектра достигается при дозе воздействующего излучения 0,9 Дж/см² и составляет $\eta = (115,0 \pm 2,8) \%$ и $(120,0 \pm 3,5) \%$, соответственно, отличаясь статистически достоверно от контрольной группы ($p < 0,05$). Схожие закономерности наблюдаются при воздействии излучением светодиодных источников с близкими длинами волн.

С использованием анализа заживления ран установлено, что оптическое излучение различного спектрального диапазона оказывает разнонаправленное действие на процесс регенерации раны. Для группы, в которой воздействие оптическим излучением не проводилось, через время $t = 6$ ч не происходило заметных изменений по площади раны, нанесенной в клеточном монослое. Через 24 ч наблюдалось некоторое закрытие раны (площадь раны по отношению к группе в момент времени $t = 0$ ч составляет $(70,1 \pm 2,0) \%$). Воздействие оптическим излучением фиолетовой области спектра (405 нм) при дозе 0,9 Дж/см² замедляло миграцию клеток. Площадь раны в момент времени $t = 24$ ч по отношению к соответствующей контрольной группе составила $(69,6 \pm 3,2) \%$. Оптическое излучение красной области спектра (при дозе 0,9 Дж/см²) оказывало стимулирующее действие на процесс регенерации раны. Площадь раны в момент времени $t = 24$ ч после воздействия оптическим красной области спектра по отношению к соответствующей контрольной группе составила $(6,1 \pm 0,8) \%$. Следует отметить, что идентичные эффекты наблюдаются как для лазерных, так и светодиодных источников излучения, использованных в данном исследовании.

Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований по проекту Ф18ВГ-001.

ИСТОРИЧЕСКИЙ ОБЗОР РАННИХ ИССЛЕДОВАНИЙ МИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ HISTORICAL REVIEW OF EARLY RESEARCHES ON MITOGENETIC RADIATION

Наумова Е.В., Володяев И.В.¹, Наумова А.Е.², Исаев Д.А.³

Институт физики полупроводников им. А.В.Ржанова СО РАН, 630090, Новосибирск, naumova@yandex.ru

¹Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, ivolodyaev@gmail.com

²Саратовский государственный национальный университет им. Н.Г.Чернышевского, newtty@yandex.ru

³Всероссийский научно-исследовательский институт ирригационного рыбоводства, Москва, isaev14@yandex.ru

Собственное сверхслабое излучение (ССИ) биологических объектов хорошо изучено в видимом и ИК спектральных диапазонах [1, 2]. Современные детекторы позволяют регистрировать его спектральный состав, пространственную картину и временную динамику [3, 4], данные о ССИ используются для неинвазивного высокоточного анализа процессов. Экспериментально исследованы и теоретически рассчитаны механизмы генерации ССИ – формирование электронно-возбужденных состояний в ходе свободно-радикальных процессов с участием активных форм кислорода и пр. [5]. Однако, в настоящее время механизмы, которые могли бы обеспечить собственную люминесценцию биологических объектов в УФ-диапазоне, неизвестны, и как само существование УФ-компоненты ССИ, так и ее биологическая роль остаются предметом дискуссий.

Первые работы по ССИ биологических объектов были опубликованы в 1920-е гг А.Г. Гурвичем и соавторами [6] и привлекли широкое внимание биологов, физиков и химиков во всем мире. Значительный вклад в исследования того времени внесли выдающиеся ученые: нобелевский лауреат Д.Габор [7], акад. Г.М. Франк, акад. Ю.Б. Харитон [8-10], известный химик Р. Одюбер [11], выдающийся микробиолог О. Раhn [12] и др. Общее количество публикаций по этой теме в 1920—40-е гг превышает 500, включая десятки публикаций в наиболее уважаемых журналах, например, [13, 14]. Авторы этого периода относили наблюдаемое ими ССИ к УФ диапазону по совокупности экспериментальных данных: пропусканию излучения фильтрами из материалов с различными окнами прозрачности (кварц, стекло, желатин и т.п.), результатам спектральных исследований с помощью спектрографов и монохроматоров, регистрации ССИ на газоразрядных счетчиках, которые имели более высокую чувствительность в УФ-диапазоне. Значительная доля работ того времени по тематике ССИ была посвящена его влиянию на скорость митозов ряда биологических объектов (бактерий, дрожжевых грибов, меристем растений и т.п.). Этот «тип ССИ» был назван митогенетическим излучением (МГИ). Одним из лучших излучателей МГИ, по данным авторов, считалась кровь молодых и здоровых людей и животных, а при развитии злокачественных опухолей различной локализации МГИ крови прекращалось за счет появления в крови пептида (группы сходных пептидов), который эффективно тушит УФ-хемилюминесценцию крови [15]. Эффективность онкодиагностики по МГИ крови оказалась выше 95% [16-18].

С началом Второй мировой войны публикации по теме МГИ практически полностью прекратились, а последующее перераскрытие явления ССИ [19, 20] привело к успешному развитию области собственной хемилюминесценции в видимом и ИК диапазонах. При этом работы ранних авторов, посвященные УФ-компоненте ССИ, стали считаться ошибочными. Парадоксально, что прямые, методически грамотные эксперименты, опровергающие «ранние данные», не были проведены, и целый ряд утверждений, сделанных «ранними авторами» на основании их «ошибочных» работ по МГИ, оказался верен и теперь считается общепризнанным. Так, например:

- (1) Источником МГИ считали разветвленные цепные реакции с участием свободных радикалов (АФК и свободно-радикальный механизм ССИ видимого диапазона) были изучены только в 60-е гг).
- (2) Необходимым условием существования МГИ (УФ диапазона) считали «подсвечивание» системы красным светом (на сегодняшний момент известны реакции, требующие красной подсветки для перехода электрона на более высокий энергетический уровень и последующего высвечивания в сине-фиолетовой области).
- (3) –На основании исследований митогенетического излучения крови был сделан вывод о существовании универсального онкомаркера крови пептидной природы (за 30 лет до альфафетопротеина).

В настоящей работе проводится обзор и критический анализ ранних результатов по ССИ и их сопоставление с современными данными в области биофизики. Более подробно ключевые эксперименты и результаты по теме МГИ представлены в монографиях [6, 7, 12, 21] и обзорах [22, 23], следует особо отметить критический анализ методов, использовавшихся в первые десять лет исследований митогенетического излучения [24]. Цель настоящей работы – привлечь внимание исследователей к этому важному и нерешенному вопросу. При этом мы не считаем результаты работ по МГИ доказанными на современном уровне: с тех пор значительно изменилась методология экспериментов (биологические методики, статистическая обработка результатов и т.п.), а попыток повторить и проверить эти работы, соблюдая описанные авторами условия, за редким исключением (например, [25]), не было.

Тщательный литературный анализ показывает, что, хотя целый ряд «ранних работ» имеет низкий уровень доказательности, многие ключевые эксперименты были выполнены вполне убедительно (например, [9]), и их результаты заслуживают серьезного внимания и экспериментальной проверки. В 1920-40-е гг исследования по МГИ проводились в целом ряде ведущих лабораторий различных стран авторитетными учеными и группами под их руководством. Они имели достаточно массовый характер и были подкреплены детальным описанием

методик экспериментов и значительным количеством подробных протоколов испытаний; большинство экспериментов подвергались неоднократной проверке в других научных коллективах. Несмотря на сформировавшееся позднее «общественное мнение» [26], негативные работы составили менее 3% от общего количества экспериментальных работ по тематике. Все они были выполнены с серьезными отклонениями от методик, рекомендованных в «позитивных работах», и многие методические ошибки были указаны в ответной критике (детальный анализ методик этих работ см. в [22]).

Точное, грамотно проведенное опровержение феномена МГИ закрыло бы значительную страницу в истории науки; его подтверждение означало бы открытие нового типа сигнальных каскадов и имело важное практическое значение (диагностика онкозаболеваний, неинвазивный метод оценки состояния различных систем). Значительный прогресс в области методов клеточной биологии, биохимии и биофизики, физических методов и техники эксперимента позволяло надеяться, что на современном уровне эта проблема, имеющая важное фундаментальное и прикладное значение, будет решена.

- 1 Владимир Ю.А. Сверхслабые свечения при биохимических реакциях. Наука. 1966.
- 2 Chance B., Gao G. In vivo detection of radicals in biological reactions // *Env Health Persp.* 1994. Vol. 102.
- 3 Kobayashi M. Highly sensitive imaging for ultra-weak photon emission from living organisms // *J Photoch Photobio B.* 2014. Vol. 139.
- 4 Kobayashi M., Iwasa T., Tada M. Polychromatic spectral pattern analysis of ultr-weak photon emissions from a human body // *J Photoch Photobio B.* 2016. Vol. 159.
- 5 Vasil'yev R.F., Vichutinskiy A.A. Chemiluminescence and oxidation // *Nature.* 1962. Vol. 194 (4835)
- 6 Гурвич А.Г., Гурвич Л.Д. Митогенетическое излучение. Изд. ВИЭМ, 1934.
- 7 Reiter T., Gabor D. Zellteilung und Strahlung: Sonderheft der Wissenschaftlichen Veröffentlichungen aus dem Siemens-Konzern, Springer-Verlag, 1928.
- 8 Frank G.M., Gurwitsch A.G. Zur Frage der Identität mitogenetischer und ultravioletter Strahlen // *Wilhelm Roux' Arch Entwickl Mech Org.* 1927, Vol. 109 (3).
- 9 Chariton J., Frank G., Kannegiesser N. Über die Wellenlänge und Intensität mitogenetischer Strahlung // *Naturwissenschaften.* 1930. Vol. 18 (19).
- 10 Frank G. Das mitogenetische Reizminimum und -maximum und die Wellenlänge mitogenetischer Strahlen // *Biol Zentr.* 1929. Vol. 49.
- 11 Audubert R. Die Emission von Strahlung bei chemischen Reaktionen // *Angewandte Chemie.* 1938. Vol.51 (11).
- 12 Rahn O. Invisible radiations of organisms. Gebruder Borntraeger, 1936.
- 13 Wolff L.K., Ras G. Effect of Mitogenetic Rays on Eggs of *Drosophila melanogaster* // *Nature.* 1934. Vol. 133 (3361).
- 14 Gurwitsch A.G., Gurwitsch L.D. Ultra-Violet Chemi-Luminescence // *Nature.* 1939. Vol. 143 (3633).
- 15 Гурвич А.Г. и др. Учение о раковом тушителе: Теория и клиника. Изд-во АМН СССР, 1947.
- 16 Песоченский Б.С. Феномен тушения митогенетического излучения крови при раке и "предраковых состояниях": Дисс. д-р мед.наук, 1942.
- 17 Авчина Е.Е. О прогностическом значении реакции тушения митогенетического излучения крови при лечении рака матки: Дисс. канд. мед. наук, 1950.
- 18 Песоченский Б.С. Феномен тушения митогенетического излучения крови при раке и предраковых заболеваниях (Сборник работ по митогенезу и теории биологического поля, Гурвич А.Г. (ред.), Изд-во АМН СССР, 1947), стр. 102-114
- 19 Colli L., Facchini U. Light emission by germinating plants // *Il Nuovo Cimento.* 1954. Vol. 12 (1).
- 20 Тарусов Б.Н., Поливода А.И., Журавлев А.И. Изучение сверхслабой спонтанной люминесценции животных клеток. // *Биофизика.* 1961. Vol. 6.
- 21 Гурвич А.А. Проблемы митогенетического излучения как аспект молекулярной биологии. Медицина, 1968.
- 22 Volodyaev I.V., Belousov L.V. Revisiting the mitogenetic effect of ultra-weak photon emission // *Front Physiol.* 2015. Vol. 6. P00241.
- 23 Naumova E.V. et al. Historical review of early researches on mitogenetic radiation: from discovery to cancer diagnostics // *J Biomed Phot and Engin.* 2018. Vol. 4(4) (принято в печать).
- 24 Hollaender A. The problem of mitogenetic rays (Biological effects of radiation, Duggar B. (ed.), McGraw-Hill Book Company, 1936, 1 edn.), pp. 919-958.
- 25 Tilbury R.N., Quickenden T.I. Luminescence from the Yeast *Candida-Utilis* and Comparisons across 3 Genera // *J Biolum and Chemilum.* 1992. Vol. 7 (4).
- 26 Langmuir I., Hall R.N. Pathological science // *Phys Today.* 1989. Vol. 42.

ПРЕПАРАТ ДЛЯ ФДТ НА ОСНОВЕ ПЕРФТОРУГЛЕРОДОВ: ФОТОДИНАМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ДЕЙСТВИЕ НА КЛЕТОЧНЫЕ КУЛЬТУРЫ

COMPOSITION FOR PDT BASED ON PERFLUOROCARBONS: PHOTODYNAMIC EFFICIENCY AND IMPACT ON CELL CULTURE

Неверов К.В.¹, Прусов А.Н.², Киреев И.И.²

¹ Институт биохимии им А.Н.Баха, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия

² Институт физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского, МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва

Фотодинамическая терапия раковых опухолей (ФДТ) базируется на следующих принципах: (i) преимущественное накопление фотосенсибилизатора (ФС) в опухолевой ткани, (ii) эффективная фотогенерация пигментом-фотосенсибилизатором цитотоксичного синглетного кислорода при облучении опухоли, (iii) быстрое развитие фотоокислительных реакций в опухолевых клетках, приводящее к их гибели и, в конечном итоге, к резорбции опухоли.

Одна из главных проблем ФДТ - локальная гипоксия, то есть пониженное (на два порядка величины) содержание кислорода в строме опухоли. В процессе сеанса ФДТ происходит быстрое истощение кислорода в облучаемой опухоли, что снижает терапевтический эффект и может стать причиной рецидива онкологического заболевания. Одним из способов преодоления этой трудности может быть введение фотосенсибилизатора в организм в составе искусственной газотранспортной системы, способной улучшить доступ кислорода к облучаемым клеткам, что должно повысить эффективность ФДТ.

Нами была разработана композиция на базе Перфторана™ - "искусственной крови" - стабилизированной мелкодисперсной эмульсии перфторуглеродов в физрастворе - хорошо зарекомендовавшей себя как препарат, снижающий уровень гипоксии в тканях при повреждении капиллярного русла, отеках и т.п. В перфторановую эмульсию вводили фотосенсибилизатор бактериохлоринового типа в конечной концентрации 0,03-0,1 мкМ. Нами было установлено, что в полученной композиции "Перфторан-фотосенсибилизатор" (ПФ-ФС) пигмент находится в мономерной, неагрегированной форме, что сохраняет его способность к фотогенерации активного синглетного кислорода с высоким квантовым выходом.

Фотодинамическая активность препарата ПФ-ФС была протестирована на клеточных культурах HeLa. Композиция ПФ-ФС добавлялась в чашки Петри с клеточным монослоем в соотношении со средой культивирования 1:1, клетки инкубировались в течение 1 часа, затем облучались в свежей среде культивирования красным светом ($\lambda > 640$ нм, $I = 130$ мВт/см²), который хорошо поглощается ФС. В зависимости от типа эксперимента, суммарная доза облучения составляла 80-500 Дж/см². Клетки фиксировались либо сразу после окончания облучения, либо через 10-15 ч постинкубации при 37°C; далее клеточные монослои окрашивались DAPI с целью подсчета соотношения митозов, апоптозов и интерфазных состояний в культуре.

После немедленной фиксации облученных клеток, инкубированных с ПФ-ФС, мы наблюдали увеличение доли некротических клеток и преапоптозных состояний. При фиксации клеток через 10-15 ч постинкубации в культурах, облученных большими дозами света, регистрировалось 20-30% апоптозов от общего числа клеток. Во всех экспериментах, где монослои клеток HeLa облучались после инкубации с ПФ-ФС, было обнаружено быстрое падение митотического индекса, пропорциональное суммарным дозам облучения. При быстрой, сразу после световой экспозиции, фиксации клеток митотический индекс падал в 4-5 раз (60 мин облучения), после отдаленной фиксации в таком же эксперименте митозов практически не наблюдалось, что говорит о полном подавлении клеточного деления и пролиферации культуры.

ДНК-электрофорез образцов облученных культур, инкубированных с ПФ-ФС, подтвердил, что деградация ДНК происходит путем апоптоза, и эффект значительно усиливается для клеток, фиксированных через 10-15 ч постинкубации. Кроме того, нам удалось продемонстрировать повреждение плазмалеммы и митохондриальных мембран у облученных культур, что указывает на то, что фотосенсибилизатор локализуется не только на внешней клеточной мембране, но и транспортируется в митохондрии. В контрольных культурах, либо инкубированных с ПФ-ФС в темноте, либо облученных в отсутствие данной композиции, фотодинамического эффекта не наблюдалось.

Полученные данные свидетельствуют о высокой фотодинамической активности созданного нами препарата на основе перфторуглеродной эмульсии и фотосенсибилизатора и демонстрируют отсутствие у него темного токсического действия на клеточные культуры. Это делает возможным дальнейшее исследование ПФ-ФС на более сложных модельных системах с целью будущего применения его в ФДТ.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛЮЦИФЕРАЗ STRUCTURAL AND FUNCTIONAL PECULIARITIES OF BACTERIAL LUCIFERASES

Немцева Е.В., Лисица А.Е.¹, Деева А.А.¹, Гульнов Д.В.¹, Суковатый Л.А.¹, Кратасюк В.А.^{1,2}

Сибирский федеральный университет, Красноярск, enemtseva@sfu-kras.ru

¹ Сибирский федеральный университет, Красноярск

² Институт биофизики СО РАН, Красноярск

Свечение бактерий является одним из самых долго изучаемых, но все еще недостаточно понятным биолуминесцентным процессом [1]. Бактериальная биолуминесценция реализуется с помощью сложной мультиферментной системы, закодированной в lux-опероне, для которой до сих пор не поняты как конкретная роль некоторых белков, так и особенности их сопряженной работы внутри клетки. Непосредственно светоизлучающая реакция, катализируемая бактериальной люциферазой, является многостадийным процессом, сопровождаемым рядом темных путей, в результате которого происходит образование электронно-возбужденного интермедиата. По функциональным признакам люциферазы разных видов бактерий можно разделить на две группы, условно называемые «быстрыми» и «медленными». Данное исследование было направлено на выявление особенностей «архитектуры» активных сайтов двух типов бактериальных люцифераз, которые могут быть ответственны за последовательность связывания субстратов и последующую кинетику реакции.

Нестационарную кинетику биолуминесцентной реакции бактерий, катализируемой «быстрой» (*P. leiognathi*) и «медленной» (*V. harveyi*) люциферазой, изучали методом остановленного потока с использованием анализатора SX-20 (Applied Photophysics). Для определения констант скоростей определенных стадий реакции было выполнено моделирование кинетических кривых в программе Scilab (Scilab Enterprises). Связывание деканала, додеканала и тетрадеканала в активном центре бактериальных люцифераз двух типов исследовали с помощью молекулярного докинга с использованием Autodock Vina. Также был проведен филогенетический анализ 21 последовательности α -субъединиц бактериальной люциферазы для выявления ключевых аминокислотных остатков, которые могут быть ответственны за функциональные различия «быстрых» и «медленных» люцифераз.

Моделирование кинетики биолуминесцентной реакции с участием альдегидов с различной длиной цепи подтвердило, что связывание альдегида является скоростью-лимитирующей стадией светоизлучения. Молекулярный докинг показал, что люцифераза *P. leiognathi* связывает тетрадеканаль с более высокой аффинностью, чем деканаль, тогда как для люциферазы *V. harveyi* определена обратную зависимость. Кроме того, было обнаружено, что обе люциферазы фиксируют 4а-гидропероксифлавин сходным образом в своих активных центрах. Филогенетический анализ последовательностей люцифераз выявил их расщепление на две отдельные группы на основе 22-х высоко консервативных аминокислотных остатков [2]. Два из них определяют смещение положения фенилаланина вблизи *si*-стороны изоаллоксазинового кольца флавина: α Leб (у «быстрых») \leftrightarrow α Pheб (у «медленных») и α Phe8 (у «быстрых») \leftrightarrow α Lue8 (у «медленных»). Обнаружено также различие в положении серосодержащих аминокислот, что вероятно указывает на альтернативный механизм стабилизации флавиновых интермедиатов.

В целом, результаты исследования демонстрируют, что в ходе эволюции биолуминесцентной системы бактерий были закреплены две различающиеся структуры люциферазы для катализа светоизлучающей реакции, что отражается на кинетических характеристиках фермента.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (гранты № 6.7734.2017 и № 01201351504).

1. Lee J. et al. The mechanism of bacterial bioluminescence //Chemistry and biochemistry of flavoenzymes. – CRC Press, 2018. – P. 109-152.

2. Deeva A. A. et al. Structural distinctions of fast and slow bacterial luciferases revealed by phylogenetic analysis //Bioinformatics. – 2016. – Vol. 32. – №. 20. – P. 3053-3057.

ХИТОЗАН КАК ФОТОПРОТЕКТОР ДЛЯ МАКРОМОЛЕКУЛ БРОМЕЛИНА, ФИЦИНА И ПАПАИНА CHITOSAN AS PHOTOPROTECTOR FOR MACROMOLECULES OF BROMELAIN, FICIN AND PAPAINE

Панкова С.М., Сакибаев Ф.А., Холявка М.Г., Артюхов В.Г.

Воронежский государственный университет, Воронеж, sazykina.93@mail.ru

Проблема создания высокоэффективного заживляющего средства с пролонгированным действием для ожоговых и гнойно-некротических ран остается весьма актуальной и до сих пор не решена, так как ряд требований, предъявляемых к подобным препаратам, весьма широк, а именно: неаллергенность, нетоксичность,

биосовместимость и биodeградируемость, необходимость удаления раневого экссудата, предотвращение контаминации раневой поверхности, защита от механических повреждений и высыхания, ускорение сроков заживления кожных покровов посредством введения дополнительных лекарственных веществ, сохранение лечебного эффекта на протяжении всего срока хранения.

В связи с появлением бактерий, устойчивых к антибиотикам, УФ-облучение во взаимосвязи с терапией цистеиновыми протеиназами можно применять как альтернативный подход к лечению инфекций. Основным недостатком растворимой формы протеолитических ферментов является их быстрая инактивация за счет протеолиза. Одним из способов повышения стабильности энзимов является их иммобилизация на полимерных носителях. Перспективными носителями для иммобилизации лекарственных средств белковой природы являются хитозаны и их производные, которые обладают антибактериальной активностью, низкой аллергенностью и относительно низкой стоимостью. Кроме того, были попытки протестировать хитозан в качестве носителя для фотосенсибилизаторов типа порфиразина: хитозан эффективно предотвращал фотодеградацию их макроциклов. Из хитозана получают пористые структуры и тонкие пленки для использования при трансплантации клеток и регенерации тканей. В медицине и фармации хитозан применяется в составе бинтов, губок, мембран, искусственной кожи, контактных линз, средств для лечения заболеваний костей и хирургических швов. Свойства хитозана могут быть модифицированы путем добавления другого полимера, при воздействии ультрафиолетового облучения, механической обработкой и нагревом.

Комплексное использование действия УФ-излучения, цистеиновых протеаз и производных хитозана, возможно, будет способствовать более быстрому восстановлению раны или ожога, поэтому целью нашей работы было изучить особенности воздействия УФ-излучения на процессы фотомодуляции свободных и иммобилизованных на матрице хитозана бромелина, фицина, папаина.

В качестве объекта исследования были выбраны цистеиновые протеазы – бромелин (КФ 3.4.22.4), фицин (КФ 3.4.22.3) и папаин (КФ 3.4.22.2) фирмы «Sigma-Aldrich», субстратом для гидролиза служил бычий сывороточный альбумин (БСА), носителями для иммобилизации – два вида хитозана, синтезированных ЗАО «Биопрогресс»: хитозан пищевой кислоторастворимый среднемолекулярный (200 кДа), хитозан кислоторастворимый высокомолекулярный (350 кДа). Иммобилизацию протеаз на матрице хитозанов осуществляли адсорбционным методом.

При действии УФ-света в дозе 151 Дж/м² выявлено увеличение активности бромелина, при использовании дозы 3020 Дж/м² наблюдалась тенденция к ее уменьшению. Изменение диаметра молекулы бромелина не регистрировалось во всем диапазоне используемых доз.

При действии УФ-света в дозах 151-1510 Дж/м² активность свободного фицина и диаметр его молекул оставались на постоянном (первоначальном) уровне. При использовании доз УФ-облучения 3020, 4530, 6040 Дж/м² зарегистрировано снижение активности фермента и увеличение его размера. Изменение диаметра молекулы и снижение каталитической способности препарата, вероятно, связано с протеканием процессов разворачивания белковой глобулы.

При действии УФ-света в дозе 453 Дж/м² зарегистрировано снижение каталитической активности папаина, которая сохранялась на относительно постоянном уровне при дальнейшем облучении препарата. Тенденция к увеличению диаметра молекулы папаина возникла после воздействия дозой 755 Дж/м², при облучении в диапазоне доз 1510-6040 Дж/м² размер молекул фермента возвращался на первоначальный уровень.

Наши исследования показали, что по степени фоточувствительности цистеиновые протеазы можно расположить в следующий ряд: бромелин → папаин → фицин.

Ферментативная активность молекул свободных протеаз при действии УФ-света подвержена изменению в большей степени, чем в иммобилизованном состоянии. Иммобилизация приводит к повышению стабильности гетерогенных биокатализаторов по отношению к УФ-облучению по сравнению со свободными энзимами. Наблюдаемые изменения в ИК-спектрах иммобилизованных цистеиновых протеаз практически не затрагивают полосы, обусловленные белковым компонентом системы: амид I, амид II, амид III и амид IV. Поэтому можно постулировать, что матрица хитозана выступает в качестве фотопротектора для иммобилизованных на ней фицина, бромелина и папаина.

Полученные результаты могут быть полезны при разработке путей комплексного использования действия УФ-излучения, цистеиновых протеаз и производных хитозана для восстановления раны или ожога и сокращения сроков заживления кожных покровов, а также при подборе условий стерилизации лекарственных препаратов, содержащих фицин, бромелин или папаин.

Pd-ЗАМЕЩЕННЫЙ МИОГЛОБИН – МОДЕЛЬНАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА ВНУТРИ БЕЛКОВОЙ МАТРИЦЫ

Pd-SUBSTITUTED MYOGLOBIN – MODEL SYSTEM FOR A SINGLET OXYGEN LUMINESCENCE STUDIES INSIDE THE PROTEIN MATRIX

Пархой М.В., Лепешкевич С.В., Джагаров Б.М.

Институт физики НАН Беларуси, Минск, Беларусь, e-mail: m.parkhots@ifanbel.bas-net.by

Активные формы кислорода (АФК), в том числе синглетный кислород, участвуют в большом числе биофизических и биохимических процессов и реакций, включая многие патологические процессы в организме человека. Фотосенсибилизированное образование АФК лежит в основе фотодинамической терапии – метода, широко используемого для лечения онкологических заболеваний. Основным агентом, участвующим в фотодинамических реакциях, приводящих к разрушению опухолевых клеток, является синглетный кислород ($^1\text{O}_2$). В отличие от других АФК синглетный кислород обладает способностью люминесцировать в ИК-области спектра, что позволяет осуществлять контроль этого цитотоксического агента в процессе различных реакций. Для успешного использования люминесценции $^1\text{O}_2$ в качестве дозиметрического метода необходимо знание спектральных и кинетических характеристик $^1\text{O}_2$ в биологических средах. Несмотря на большое число исследований в этой области, люминесцентные свойства $^1\text{O}_2$ в реальных биологических структурах изучены недостаточно. До сих пор однозначно не установлено время жизни и эффективность фотосенсибилизированного образования синглетного кислорода в живых клетках. Связано это с тем, что клетка является сложной гетерогенной, оптически неоднородной средой, содержащей большое количество тушителей синглетного кислорода. При этом в зависимости от локализации фотосенсибилизатора его фотофизические характеристики и способность генерировать синглетный кислород, а также количество и состав тушителей $^1\text{O}_2$ могут существенно изменяться. Ситуация осложняется также тем, что константа скорости испускания $^1\text{O}_2$ зависит от диэлектрических свойств среды, что существенно затрудняет интерпретацию полученных данных и не позволяет однозначно связать интенсивность люминесценции синглетного кислорода с эффективностью его генерации. Поэтому актуальной задачей является разработка систем, позволяющих отслеживать появление и дезактивацию синглетного кислорода, в биологических средах.

Целью настоящей работы является создание и исследование Pd-замещенного миоглобина – модельной системы для определения люминесцентных характеристик синглетного кислорода внутри белковой матрицы. Такая модельная система привлекательна тем, что миоглобин является хорошо изученным белком, присутствующим в организме человека. Замена в миоглобине гема (Fe-протопорфирин IX), неспособного генерировать синглетный кислород, на Pd-мезопорфирин позволяет получить сенсibilизатор синглетного кислорода, встроенный в белковую матрицу. Преимуществом является также то, что точно известен состав аминокислотных остатков, которые могут участвовать в тушении синглетного кислорода в гемовом кармане миоглобина. Ранее нами исследовалась аналогичная система, в которой вместо Pd-мезопорфирина использовался Zn-протопорфирин IX [1]. Была предложена кинетическая модель для описания генерации $^1\text{O}_2$ внутри белковой матрицы и последующей дезактивации $^1\text{O}_2$. Определены константы скоростей радиационной и нерадиационной дезактивации синглетного кислорода в миоглобине. Установлено, что константа скорости излучательной дезактивации $^1\text{O}_2$ в матрице белка в ~ 8 раз больше соответствующей константы в водной среде, что говорит о существенном влиянии матрицы белка на процесс излучательной дезактивации синглетного кислорода. Тем не менее, интенсивная флуоресценция Zn-протопорфирина IX, искажающая сигнал люминесценции $^1\text{O}_2$ в наносекундном временном диапазоне, не позволила экспериментально зарегистрировать кинетику свечения $^1\text{O}_2$ внутри белковой матрицы. В данной работе используется Pd-мезопорфирин, квантовый выход флуоресценции которого составляет $\sim 10^{-4}$, кроме того, квантовый выход фотосенсибилизированного образования $^1\text{O}_2$ близок к 100%, что позволяет получить более качественный сигнал при регистрации люминесценции $^1\text{O}_2$.

Измерения проводились на созданном в Институте физики НАН Беларуси высокочувствительном лазерном флуорометре для ближнего ИК-диапазона. Возбуждение осуществлялось на длине волны 532 нм с частотой 2.5 кГц. Регистрацию проводили на нескольких длинах волн в диапазоне 1000 - 1400 нм, что дало возможность определить не только кинетические характеристики $^1\text{O}_2$, но и время жизни триплетного состояния Pd-мезопорфирина внутри матрицы белка. Pd-мезопорфирин внедрялся в миоглобин по методике, описанной ранее [1]. Зарегистрированы кинетики люминесценции синглетного кислорода фотосенсибилизированного Pd-миоглобином в буферных растворах (рН 7.4), приготовленных с использованием различных соотношений дейтерированной и дистиллированной воды. Использование дейтерированной воды позволило более точно интерпретировать полученные данные.

Авторы выражают благодарность государственной программе научных исследований Республики Беларусь «Фотоника, опто- и микроэлектроника» (задание 1.4.01) за финансовую поддержку.

1. Lepeshkevich S.V. et al. Photosensitized Singlet Oxygen Luminescence from the Protein Matrix of Zn-Substituted Myoglobin // J. Phys. Chem. A. 2014. Vol. 118. P. 1864.

СТРЕССОВЫЕ СИСТЕМЫ *ESCHERICHIA COLI* И ИХ РОЛЬ В РЕАКЦИЯХ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ТЕРАГЕРЦОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

STRESS SYSTEMS OF *ESCHERICHIA COLI* AND THEIR ROLE IN REACTIONS TO EXPOSURE TO TERAHERTZ RADIATION

Пельтек С.Е.¹, Демидова Е.В.¹, Попик В.М.², Горячковская Т.Н.¹

¹Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики (ИЦиГ СО РАН)

²Институт ядерной физики им. Г.И. Будкера Сибирского отделения Российской академии наук (ИЯФ СО РАН)

В настоящей работе изложены результаты последних лет по изучению реакции стрессовых систем *Escherichia coli* (*E. coli*) в ответ на нетермическое воздействие терагерцового (ТГц) излучения. Наиболее простым и удобным объектом для изучения воздействия ТГц излучения на живые объекты является бактерия *E. coli*. Это связано с ее высокой изученностью, как на молекулярно-генетическом, так и на метоболическом уровне, а также возможностью создания на основе промоторов ее стресс-активируемых генов и репортерного белка GFP геносенсорных конструкций. Введение этих конструкций в клетки *E. coli* позволяют исследовать реакцию конкретной стрессовой системы бактерии на ТГц излучение по интенсивности синтеза белка GFP, легко определяемого флуориметрически. В работе представлены как данные литературы, так и собственные результаты по нетермическому воздействию ТГц излучения на конкретные стрессовые системы *E. coli*. Обсуждаются экспериментальные данные с использованием геносенсоров *E.coli/pKatG-GFP*, *E.coli/pCopA-GFP* и *E.coli/remrR-GFP*, которые являются маркерами генных сетей *E.coli*, активирующихся в условиях окислительного стресса, при нарушении гомеостаза ионов меди и в присутствии антисептиков, соответственно. Обзор проведенных исследований показал, что нетермическое воздействие ТГц излучения индуцирует в клетках *E. coli* генные сети окислительного стресса и поддержания гомеостаза меди, но не влияет на активность стрессовых систем защиты от антибиотиков. Наличие динамических особенностей в развитии стрессорного ответа у геносенсоров *E.coli/pKatG-GFP* и *E.coli/pCopA-GFP* на ТГц излучение в сравнении с естественными индукторами позволяет предположить специфичность ответа систем окислительного стресса и поддержания гомеостаза меди в реакции адаптации клеток *E. coli* к ТГц излучению.

ВТОРИЧНАЯ ПРОДУКЦИЯ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ В ОТВЕТ НА ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ

SECONDARY H₂O₂ ACCUMULATION IN CANCER CELLS INDUCED BY PHOTODYNAMIC TREATMENT

Пескова Н.Н., Горохова А.А., Шилягина Н.Ю., Костюк А.Б., Брилкина А.А., Балалаева И.В.

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23, nin-22@yandex.ru

Фотодинамическая терапия (ФДТ) является интенсивно развивающимся методом диагностики и лечения злокачественных новообразований, основанным на избирательном накоплении в опухолевой ткани фотосенсибилизатора (ФС), способного при локальном воздействии света с длиной волны, соответствующей его максимуму поглощения, генерировать цитотоксические агенты, вызывающие гибель опухолевых клеток. Для повышения эффективности поражения злокачественных клеток и защиты окружающих нормальных тканей необходимо всестороннее изучение молекулярно-клеточных процессов, протекающих при фотодинамическом воздействии. Особый интерес вызывает исследование роли пероксида водорода, как основного эффектора фотодинамической реакции, а также участника внутриклеточных сигнальных каскадов.

Целью данной работы являлся анализ роли пероксида водорода в развитии вторичного ответа клетки на фотодинамическое воздействие и его возможное участие в распространении локального тканевого ответа.

Нами была произведена трансфекция клеточной линии A431 (эпидермоидная карцинома человека) для получения производных флуоресцентных линий. Для этого методом липофекции в клетки был введен ген флуоресцентного белка НуРег, слитого с белком, определяющим его внутриклеточную локализацию (цитоплазма или митохондрии клеток). С использованием селекции на среде с антибиотиком и последующей серии оптических сортировок были получены стабильно трансфицированные клеточные линии с флуоресцентно маркированными внутриклеточными структурами. Спектр возбуждения флуоресценции НуРег чувствителен к содержанию H₂O₂, что может быть использовано для ратиометрического определения концентрации последнего. В качестве параметра, характеризующего содержание пероксида водорода, нами определялось отношение регистрируемого сигнала флуоресценции НуРег при разных длинах волн возбуждения (I₄₈₈/I₄₀₅). В качестве ФС в работе использовался препарат фталоцианинового ряда Фотосенс® (ФГУП ГНЦ "НИОПИК", Россия). С целью фотодинамического воздействия клетки кратковременно (секунды) облучались в

дозах 15 - 50 Дж/см² при облучении части кадра и в дозах 50-150 Дж/см² при локальном воздействии на область клетки.

Показано, что для Фотосенса преимущественно характерна локализация в лизосомах и эндосомах клетки. Анализ темновой и световой токсичности данного препарата в отношении полученных линий клеток, свидетельствует о том, что процедура трансфекции и экспрессия флуоресцентного белка не оказывает значительного влияния на чувствительность клеток к фотодинамическому воздействию. Количественная оценка флуоресцентных изображений показала исходно более высокое значение отношений I_{488}/I_{405} в митохондриях по сравнению с цитоплазмой. Фотодинамическое воздействие приводило к увеличению содержания H₂O₂ как в цитоплазме, так и в митохондриях облученных клеток. При этом рост содержания пероксида водорода в течение сравнительно длительного времени после облучения позволяет говорить о его продукции в ходе вторичных процессов, развивающихся как следствие фотодинамического воздействия. Необходимо отметить, что в митохондриях увеличение концентрации H₂O₂ зарегистрировано позже, чем в цитоплазме. Для клеток с экспрессией NuReg в цитоплазме показано, что при уменьшении дозы облучения появляется латентный период между облучением и регистрируемым ответом. При облучении в дозе 50 Дж/см² ответ наступает практически сразу (4-12 минут), при дозе в 25 Дж/см² статистически значимое увеличение концентрации H₂O₂ наблюдается через 20-32 минуты, а при 15 Дж/см² интервал между облучением и ответом увеличивается до 60-90 минут. Подтверждено, что увеличение I_{488}/I_{405} не связано с возможным изменением pH в клетках. Присутствие в среде синтетического антиоксиданта N-ацетил-L-цистеина ингибирует накопление H₂O₂ и приводит к повышению жизнеспособности облученных клеток. Анализ механизмов клеточной гибели, индуцированной фотодинамическим воздействием, показал, что накопление пероксида водорода в клетке, вызывает гибель клеток как путем некроза, так и путем апоптоза. Установлено, что облучение в высоких дозах индуцирует быстро развивающуюся регулирующую клеточную смерть (предположительно апоптоз) с переходом во вторичный некроз, при этом накопление пероксида водорода наблюдается на ранних стадиях гибели клеток и потенциально может рассматриваться как один из важнейших факторов её реализации. Пероксид водорода, образующийся после фотодинамического воздействия на участок и/или единичную клетку, способен диффундировать между клетками и индуцировать развитие ответа (также в форме зарегистрированной генерации пероксида водорода) в необлученных клетках. Присутствие в среде каталазы вызывало блокаду ответа соседних необлученных клеток, что может свидетельствовать об участии H₂O₂ как сигнальной молекулы в развитии локального тканевого ответа.

Таким образом, фотодинамическое воздействие сопровождается вторичной продукцией H₂O₂, которая играет важную роль в реализации гибели клеток, а также в передаче сигнала при распространении локального тканевого ответа.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки (Задание № 6.3099.2017/ПЧ) и РФФИ (проект 18-44-520010).

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ И ОПТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ФОТОСИСТЕМЫ 1 ЦИАНОБАКТЕРИЙ DISTINCTIVE FEATURES OF STRUCTURE AND OPTICAL PROPERTIES OF CYANOBACTERIAL PHOTOSYSTEM I

Р.Ю. Пищальников¹, В.В. Шубин¹, И.В. Терехова¹, В.О. Компанец², В.С. Козловский³, С.В. Чекалин², А.П. Разживин³

Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, 119991 Москва

¹Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, 119071 Москва

²Институт спектроскопии РАН, 142190 Троицк, Московская об.

³Институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, МГУ, 119991 Москва

Никто не сомневается в таком очевидном факте, что без Солнца жизнь на нашей планете была бы не возможна. Солнечная радиация не только поддерживает необходимый для существования живых существ диапазон температур, но и является ключевым фактором в фундаментальном процессе преобразования энергии в живых организмах, называемым фотосинтезом. Одна из особенностей устройства фотосинтетического аппарата как высших растений так водорослей, а также бактерий, - это их удивительная схожесть. Организмы, разделённые миллионами лет эволюции, сохраняют в строении фотосинтетического аппарата пигмент белковые комплексы, обеспечивающие стабильность последовательных химических реакций и физических процессов, приводящих к синтезу органических питательных соединений [1].

Характерный пример такого пигмент-белкового комплекса - это фотосистема 1 (ФС1), которая входит в состав, как растений, так и цианобактерий. Универсальной структурной единицей обеих фотосистем является коровый комплекс, который представляет собой реакционный центр, окружённый пигментными молекулами, образующими прицентровую антенну. Коровые комплексы растительной ФС1 окружены дополнительными антенными комплексами, тогда как ФС1 цианобактерий существуют в виде мономеров и тримеров коровых комплексов [1].

Особенность оптических свойств ФС1 цианобактерий – наличие длинноволновых, по сравнению с возбужденными состояниями реакционного центра, электронных состояний антенны. Несмотря на многочисленные экспериментальные исследования, природа данного феномена и его роль в процессах переноса энергии в антенне не до конца изучена. В нашей работе мы провели теоретическое моделирование линейного и нелинейного оптического отклика ФС1 выделенной из цианобактерии *Arthrospira platensis* [2-4]. На основе анализа экспериментальных данных линейного поглощения и кругового дихроизма, флуоресценции одиночных молекул, а также кинетических кривых, полученных в экспериментах накачка-зондирование, мы показали, что наличие длинноволновых форм хлорофилла не связано с величиной энергии взаимодействия хлорофиллов в ФС1, а определяется энергией Q_y электронного перехода молекул хлорофиллов, и величиной электрон-фононного взаимодействия.

1. Shevela D., Pishchalinikov R.Y., Eichacker L.A., Govindjee. Oxygenic Photosynthesis in Cyanobacteria in book STRESS BIOLOGY OF CYANOBACTERIA: MOLECULAR MECHANISM TO CELLULAR RESPONSES, CRC Press, pp. 3-40, 2013
2. Pishchalnikov, R. et al. Single Molecule Fluorescence Spectroscopy of PSI Trimers from *Arthrospira platensis*: A Computational Approach // *Molecules*, 2019, V. 24(4), 822
3. Roman Pishchalnikov, Application of the differential evolution for simulation of the linear optical response of photosynthetic pigments // *Journal of Computational Physics*, 2018, V. 372, P. 603-615
4. Pishchalnikov, R.Y. et al. Spectral differences between monomers and trimers of photosystem I depend on the interaction between peripheral chlorophylls of neighboring monomers in trimer // *Physics of Wave Phenomena*, 2017, V. 25(3), P. 185–195

ФОТОНИКА КУРКУМИНА В ОРГАНИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЯХ И ВОДНЫХ СРЕДАХ В КОМПЛЕКСАХ С АЛЬБУМИНАМИ

CURCUMIN PHOTONICS IN ORGANIC SOLVENTS AND AQUEOUS MEDIA IN COMPLEXES WITH ALBUMIN

Плавский В.Ю., Кнюкшто В.Н., Собчук А.Н., Третьякова А.И.,
Микулич А.В., Леусенко И.А., Ананич Т.С., Плавская Л.Г.

Институт физики НАН Беларуси, г. Минск, E-mail: v.plavskii@ifanbel.bas-net.by

Широкий интерес к изучению абсорбционных, люминесцентных, спектрально-поляризационных, кинетических и сенсibiliзирующих свойств препарата растительного происхождения куркумина обусловлен, с одной стороны, многочисленными сообщениями о его выраженных фармакологических свойствах (антиоксидантных, противовоспалительных, противоопухолевых, иммуностимулирующих), а, с другой стороны – данными о его способности выступать в качестве фотосенсибилизатора при проведении фотодинамической терапии опухолей (особенно меланомы кожи), а также антимикробной фотодинамической терапии (лечение светом гнойных ран и язв, эрозий, периодонтальных инфекций и др. после предварительной обработки куркумином).

В настоящей работе исследованы спектрально-поляризационные и кинетические характеристики, а также сенсibiliзирующие свойства высокоочищенного препарата куркумина в ряде органических растворителей при комнатной температуре и температуре жидкого азота, а также в водных средах как в свободном состоянии, так и в комплексе с альбуминами. Показано, что спектры поглощения, флуоресценции, квантовый выход и время жизни флуоресценции, а также поляризация флуоресценции куркумина весьма чувствительны к природе растворителя. Квантовый выход флуоресценции в большинстве растворителей при $t = 20^\circ\text{C}$ является низким: $\gamma = 0,03 - 0,05$ в метаноле, диметилсульфоксиде, изо-пропилбензоле; $0,06-0,07$ – в этаноле, этилбензоле, бензоле, толуоле; $0,10-0,12$ – в хлористом метиле, изопропанол, пропанол, изобутанол, 2-метилтетрагидрофуране, четыреххлористом углероде; $0,14-0,15$ – в ацетоне и ацетонитриле. Низкие значения квантового выхода флуоресценции свидетельствует о преобладающей роли процессов безызлучательной дезактивации электронного возбуждения (внутри- и межмолекулярный перенос протона). Время жизни флуоресценции при комнатной температуре очень короткое (среднее время жизни $\langle\tau_{\text{фл}}\rangle \approx 0,5$ нс) и аппроксимируется 3 или 4 экспонентами.

Квантовый выход синглетного кислорода сильно зависит от природы растворителя и составляет: $\gamma_{\Delta} = 0,26$ при использовании ацетона; $0,23$ – толуола; $0,19$ – CCl_4 ; $0,185$ – изопропанола; $0,165$ – ацетонитрила, $0,16$ – бензола. Следует отметить, что приведенные значения квантового выхода генерации синглетного кислорода, генерируемого куркумином, несколько превышают значения, ранее приводимые различными авторами. Вероятно, это связано с высокой степенью очистки применяемого нами препарата. Однако, для метанольных (дейтерированных) растворов куркумина люминесценцию синглетного кислорода зарегистрировать не удалось.

Характерная особенность спектрально-поляризационных характеристик куркумина при комнатной температуре в органических растворителях и водных средах – достаточно высокая степень поляризации флуоресценции при длинноволновом возбуждении. Так, при $\lambda_{\text{возб}} = 460$ нм для растворов куркумина в метаноле

$p = 0,30$, а для водных растворов – $p = 0,40-0,42$. Не вызывает сомнения, что столь высокие значения степени поляризации флуоресценции при комнатной температуре обусловлены коротким временем жизни флуоресценции, а также низкой вероятностью внутримолекулярного переноса энергии между хромофорами бихромофорной молекулы куркумина. На отсутствие такого переноса указывают данные, полученные в 2-метилтетрагидрофуране при $t = 77$ К, а также в комплексе с альбумином при комнатной температуре. В указанных условиях степень поляризации флуоресценции $p \approx 0,46-0,47$ близка к предельной $p = 0,50$ при возбуждении по всей длинноволновой полосе поглощения пигмента.

В данной работе нами при температуре жидкого азота зарегистрирована и охарактеризована фосфоресценция куркумина с максимумом 636 нм в этаноле и 2-метилтетрагидрофуране, спектр возбуждения которой соответствует спектру возбуждения флуоресценции. Длительность затухания фосфоресценции составляет 4,4 мс в 2-метилтетрагидрофуране и 5,3 мс – в этаноле. Отметим, что полученные данные существенно отличаются от литературных сведений, согласно которым $\langle \tau_{\text{фос}} \rangle \approx 14$ мкс.

Спектральные характеристики куркумина, а также его стабильность сильно изменяются при образовании комплексов с белковыми молекулами. Впервые получены экспериментальные подтверждения наличия индуктивно-резонансного переноса энергии электронного возбуждения триптофанил→куркумин. В пользу такого вывода свидетельствует, наряду с тушением куркумином триптофановой флуоресценции, появление полосы поглощения триптофана в спектре возбуждения флуоресценции куркумина при его связывании с альбумином. Вместе с тем обнаружено, что тушение флуоресценции триптофанилов при встраивании куркумина в белковую глобулу обусловлено не только индуктивно-резонансным переносом энергии, но процессами переноса заряда.

Показана способность куркумина проникать в клетки и вызывать их гибель при воздействии света. Однако существенной роли синглетного кислорода в механизме цитотоксического действия не обнаружено; определяющую роль в механизме гибели клеток играют радикальные процессы (реакции типа I).

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ АДАПТАЦИИ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ К СТРЕССОВЫМ УСЛОВИЯМ, ВЫЗВАННЫМ МИНЕРАЛЬНЫМ ГОЛОДАНИЕМ

MODELING OF MICROALGAE CELLS ADAPTATION PROCESSES TO STRESS CONDITIONS CAUSED BY MINERAL STARVATION

Плюснина Т.Ю., Хрущев С.С., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,
биологический факультет, кафедра биофизики, г. Москва, plusn@yandex.ru

Адаптация микроводорослей к стрессовым условиям, вызванным минеральным голоданием, часто сопровождается активацией таких процессов, как накопление липидов или выделение водорода. Изучение процессов адаптации представляет интерес как для понимания основных механизмов клеточного ответа на стресс, так и для разработки оптимальной стратегии получения биотоплива.

Для изучения процессов адаптации клеток к минеральному стрессу была разработана иерархическая математическая модель, которая сочетает в себе центральные метаболические пути, фотосинтетическую и дыхательную цепи переноса электронов в клетке микроводорослей. Центральные метаболические пути, включая гликолиз, цикл Кельвина-Бенсона и цикл Кребса, были описаны в соответствии с формализмом потоковых моделей. Модель первичных процессов фотосинтеза описывалась системой дифференциальных уравнений. NAD(P)H рассматривался как ключевой метаболит, который связывал метаболические пути и фотосинтетическую цепь переноса электронов.

В качестве входных данных для потоковой модели мы использовали экспериментальные данные о накоплении крахмала и активности Rubisco и фотосистемы II в клетках *Chlamydomonas reinhardtii*, растущих в условиях голодания по сере. Объединенная иерархическая модель позволила получить серию распределений потоков центральных метаболических путей на разных стадиях роста культуры. Модель выявила связь между инактивацией фотосистемы II, перенаправлением анаболических путей на катаболические, активацией хлородыхания и образованием водорода на разных стадиях серного голодания.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ, проект №17-04-00676.

МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ ИНАКТИВАЦИИ КИСЛОРОД-ВЫДЕЛЯЮЩЕГО КОМПЛЕКСА ФОТОСИСТЕМЫ 2 ПО КРИВЫМ ИНДУКЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА a
METHOD FOR QUANTITATIVE ESTIMATION OF INACTIVATION OF PHOTOSYSTEM 2 OXYGEN-EVOLVING COMPLEX USING CHLOROPHYLL a FLUORESCENCE TRANSIENTS

Плюснина Т.Ю., Хрущев С.С., Дегтерева Н.С., Ловягина Е.Р., Воронова Е.Н., Протасова Е.А., Семин Б.К.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,
биологический факультет, кафедра биофизики, г. Москва, plusn@yandex.ru

Для оценки активности фотосистемы 2 (ФС2) традиционно используют кривые индукции флуоресценции, так называемые ОЛР-кривые. Кинетика флуоресценции хлорофилла а представляет собой многофазную кривую. Фазы кривой принято соотносить со стадиями переноса электрона в ФС2. Начальный участок кривой, так называемую К-фазу, принято соотносить с состоянием кислород-выделяющего комплекса (КВК), находящегося на донорной стороне ФС2. Для визуализации К-фазы часто используют метод сравнения индукционных кривых, основанный на вычитании контрольной кривой из кривых, записанных в различных условиях. Считается, что появление К-фазы (максимум на кривой разности примерно при 300 мкс) указывает на инактивацию КВК в соответствующем образце. Такой подход обычно используется только для качественной оценки инактивации КВК. Нами была выдвинута гипотеза о том, что изменение величины максимума К-фазы (названного нами Δ_{\max}) может указывать на долю фотосистем с инактивированным КВК. Подтверждение этой гипотезы позволило бы дать количественную оценку степени инактивации КВК.

Для проверки выдвинутой гипотезы мы провели эксперимент по оценке степени инактивации КВК при нагревании препаратов выделенной из шпината фотосистемы 2 и суспензии клеток водоросли *Chlorella*. Образцы сначала подвергались нагреванию до определенной температуры в диапазоне от 25°C до 50°C, далее охлаждались до 4°C, и затем при 25°C проводилось измерение скорости выделения кислорода. Параллельно регистрировались кривые индукции флуоресценции. Были получены температурные зависимости для скорости выделения кислорода (VO_2) и для параметра Δ_{\max} , рассчитанного по индукционным кривым. Коэффициент корреляции между температурными кривыми для VO_2 и Δ_{\max} , измеренными на образцах ФС2 составил 0,99, тогда как для клеток *Chlorella* – 0,95. Высокая степень корреляции между кривыми позволяет предложить параметр Δ_{\max} для количественной характеристики степени инактивации КВК.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ, проект №17-04-00676.

ЧАГА КАК ИСТОЧНИК СТИМУЛЯТОРА ЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ РЕАКЦИИ БАЗИДИОМИЦЕТОВ
CHAGA AS SOURCE OF THE STIMULATOR OF THE LUMINESCENT REACTION OF BASIDIOMYCETES

Пузырь А.П.¹, Посохина Е.Д.^{1,2}, Медведева С.Е.¹

¹ИБФ СО РАН, Красноярск

²Сибирский федеральный университет, Красноярск

Изучение люминесценции базидиомицетов привело к появлению выделенных из грибной биомассы ферментных систем длительного хранения [1], которые меняют уровень люминесцентного сигнала в зависимости от состава раствора, добавляемого в реакционную среду. Наравне с другими люминесцентными системами они позволяют регистрировать увеличение люминесценции, если исследуемый образец содержит НАДФН или НАДН. Стимулирование или ингибирование люминесценции позволяет определить, например, чистоту спирта (этанол, метанол). Но наиболее интересным является возможность экспрессной регистрации наличия стимуляторов или ингибиторов люминесценции в экстрактах высушенных грибов, которые затруднительно определить другими методами.

В данной работе возможность определения люминесцентной системой *Armillaria borealis* стимуляторов или ингибиторов будет продемонстрирована на экстрактах плодовых тел, биомассе и культуральной среде *Inonotus obliquus* (чага), а также на коммерческих препаратах чаги, продаваемых в аптеках.

Плодовое тело. Объем плодового тела чаги коричневого цвета сверху покрыт слоем черного цвета. Добавление к ферментной системе *A. borealis* горячего экстракта из коричневой области вызывает стимулирование люминесценции, в то время как экстракт из черного поверхностного слоя ингибирует ее.

Коммерческие препараты. Чага является народным лечебным средством и выпускается как БАД. Однако критерии качества такого продукта не известны. Было проведено изучение изменения люминесценции при добавлении к ферментной системе экстрактов из препаратов следующих производителей, приобретенных в аптеках г. Красноярска: ООО фирма «Здоровье» (п. Нахабино), АО «Красногорсклексредства» (Красногорск), ЗАО «Тайга – продукт» (Ангарск), ООО «Фармгрупп» (Барнаул), ООО «МК «Народная медицина» (Санкт-Петербург). Установлено, что экстракты из образцов 4-х производителей стимулируют люминесцентную

реакцию и, следовательно, содержат чагу. Экстракт из образца, выпускаемого ООО «МК «Народная медицина» под названием «Сбор желудочный с чагой», ингибирует люминесценцию. Вероятно, источником ингибитора являются 7 компонентов входящих в состав сбора.

Культура *Inonotus obliquus*. Считается, что наибольший целебный эффект оказывает природная чага в возрасте 10-15 лет. Интенсивный сбор и продажа на экспорт легко может подорвать популяцию гриба. Вероятно, по этой причине, ведутся исследования по культивированию биомассы в лабораторных условиях. Несмотря на то, что химический состав природных плодовых тел не позволяет выявить компоненты, дающие положительные лечебные эффекты, считается, что культивируемая биомасса не столь эффективна как природная.

Из нашего опыта следует, что культуру чаги можно получить только из коричневой области плодового тела. Поэтому при росте культуры на питательных средах синтезируются только стимуляторы люминесцентной реакции. Они содержатся в биомассе мицелия, а так как являются вторичными метаболитами, то выделяются в питательные среды и накапливаются в зависимости от продолжительности культивирования. Наибольший интерес представляет культивирование в жидкой питательной среде, позволяющее легко получить раствор, содержащий стимуляторы. Расчеты показали, что содержание стимуляторов люминесцентной реакции в питательной среде может превосходить их содержания в мицелиальной биомассе до 7000 раз, т.е. для чаги общепринятый метод получения этого целевого продукта из биомассы является не оптимальным.

Установлено, что гиспидин является предшественником субстрата ферментных систем светящихся высших грибов и стимулирует люминесценцию выделенных систем *in vitro* [2]. Более того, гиспидин может применяться, при лечении различных заболеваний, в том числе и рака [3]. Следовательно, можно предположить, что лечебным началом, содержащимся в исследованных образцах, наравне с другими метаболитами является гиспидин и возможно его производные, которые легко тестируются люминесцентной системой.

Таким образом, по изменению уровня люминесценции ферментной системы *A. borealis* можно контролировать наличие чаги в коммерческих продуктах, а питательную среду при культивировании чаги, вероятно, можно использовать как источник целевых продуктов.

1. Puzyr A.P. et al. Two forms of substrate for the bioluminescent reaction in three species of basidiomycetes // Mycology. 2019. Vol. 10. №. 2. P. 84.
2. Purtov K.V. et al. The chemical basis of fungal bioluminescence // Angewandte Chemie International Edition. 2015. Vol. 54. P. 8124.
3. Long-Xian Lv et al. Hispidin induces autophagic and necrotic death in SGC-7901 gastric cancer cells through lysosomal membrane permeabilization by inhibiting tubulin polymerization // Oncotarget. 2017. Vol. 8. №. 16. P. 26992.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ОПТИЧЕСКИХ И МЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СТенок КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ ДЛЯ НУЖД КОМПРЕССИОННОЙ ЭЛАСТОГРАФИИ НА ОСНОВЕ ЭНДОСКОПИЧЕСКОЙ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ

FULL-SCALE SIMULATION OF OPTICAL AND STRESS-RELATED PROPERTIES OF BLOOD VESSEL WALLS FOR COMPRESSION ELASTOGRAPHY SYSTEMS BASED ON ENDOSCOPIC OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY

Потлов А.Ю., Фролов С.В., Фролова Т.А.

Тамбовский государственный технический университет, г. Тамбов, sergej.frolov@gmail.com

Эндоскопическая оптическая когерентная томография (ОКТ) также как и традиционная ОКТ сочетает в себе относительно небольшую (до 2-2,5 мм) глубину когерентного зондирования исследуемых биологических объектов или их отдельных частей с высоким (единицы микрон) пространственным разрешением получаемых структурных изображений [1-4]. Ключевое отличие эндоскопической ОКТ заключается в более широком наборе областей практического применения, вызванном особой конструкцией плеча образца в виде сменного эндоскопического зонда. Эндоскопическая ОКТ может успешно использоваться не только в офтальмологии и дерматологии, но и при диагностике многих систем организма и практически всех полых органов и трактов. Авторские исследования главным образом направлены на использование эндоскопической ОКТ в задачах диагностики состояния кровеносных сосудов, в частности оценку биомеханических свойств стенок аневризм, диагностику атеросклеротических поражений, оценку правильности установки стентов, обеспечение контроля над процедурой ротационной атерэктомии. Поскольку многие заболевания кровеносных сосудов так или иначе связаны с изменением их эластических свойств используется сочетание эндоскопической ОКТ с компрессионной эластографией [1] на основе пульсовой волны, как деформирующего воздействия. Подобные исследования особенно на стадиях разработки и отладки экспериментальных образцов целесообразно

проводить на полноразмерных тканеимитирующих медицинских фантомах [2], что обусловлено отсутствием необходимости подвергать живой субъект риску, высокой воспроизводимостью результатов сканирования, возможностью изготовления фантома с заранее известными строением и свойствами, т.е. под конкретную задачу.

Сущность предлагаемого подхода к формированию фантомов кровеносных сосудов заключается в следующем [3]. С помощью КТ или МРТ с функцией ангиографии получают сведения о структурах имитируемой ткани человека, в том числе о форме, размерах и пространственном положении кровеносных сосудов. С использованием 3D-принтера изготавливают повторяющую контур имитируемой ткани человека форму для литья. Аналогичным образом изготавливают формы полых структур (ПС) с трехслойными стенками. Форму повторяющую контур имитируемой ткани человека заполняют двухкомпонентным жидким силиконом (ДЖС) с модулем Юнга в диапазоне от 2 до 30 кПа и хранят при пониженной температуре. С помощью форм для литья при повышенной температуре внутренний слой (интима) каждой ПС изготавливают из ДЖС смешанного с определенным количеством мелкодисперсного порошка диоксида титана (рассеивающий агент) и китайской черной туши (поглощающий агент). Средний слой (медиа) и наружный слой (адвентиция) каждой ПС изготавливают нанося смесь ДЖС и тех же самых специальных добавок на затвердевший предыдущий слой ПС. Причем массовая доля специальных добавок и толщина каждого слоя должны отличаться. Затвердевшие ПС добавляют в повторяющую контур имитируемой ткани человека форму для литья. Причем, их располагают таким образом, чтобы они соответствовали геометрическому расположению ассоциированных с ними кровеносных сосудов. С помощью повышенной температуры добиваются полного затвердевания ДЖС и расположенных в нем структур. Внешний контур затвердевшей структуры покрывают защитным слоем, имеющим оптические и механические свойства как у защитных оболочек имитируемой ткани. Проксимальные и дистальные концы полых структур с трехслойными стенками снабжаются раздвоенными катетерами, таким образом, чтобы одновременно имелась возможность для прокачивания растворов с оптическими свойствами как у крови через полые структуры с трехслойными стенками и введения в эти структуры зонда эндоскопической ОКТ-системы.

Серия экспериментов со сформированными вышеуказанным образом фантомами кровеносных сосудов, специальным устройством для получения пульсирующих потоков кровеимитирующих жидкостей и эндоскопической ОКТ-системой [4], показала, что разработанные физические модели позволяют имитировать растяжения кровеносных сосудов под воздействием кровотока с достоверностью более 90%.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 16-15-10327).

1. Larin K.V., Sampson D.D. Optical coherence elastography - OCT at work in tissue biomechanics // Biomedical Optics Express. 2017. Vol. 8. Is. 2. P. 1172–1202.

2. Curatolo A., Kennedy B.F., Sampson D.D. Structured three-dimensional optical phantom for optical coherence tomography // Optics Express. 2011. Vol. 19. Is. 20. P. 19480–19485.

3. Патент на изобретение № 2682459 РФ. МПК А61В 6/00, G09В 23/28 Способ формирования фантомов кровеносных сосудов для эндоскопической оптической когерентной эластографии / Фролов С.В., Потлов А.Ю., Проскурин С.Г., Синдеев С.В.; опубликовано. 19.03.2019 г. Бюл. № 8.

4. Фролов С.В., Потлов А.Ю., Синдеев С.В., Проскурин С.Г. Эластография мягких биологических тканей и эндоскопические исследования с помощью оптической когерентной томографии [Электронный ресурс] : монография. // Тамбов : Изд-во ФГБОУ ВО «ТГТУ». 2017. 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

СПЕКТР СОЛНЕЧНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ, СЕЛЕКТИВНЫЙ СИНТЕЗ И УСТОЙЧИВОСТЬ БИМОЛЕКУЛ

SPECTRUM OF SOLAR RADIATION, SELECTIVE SYNTHESIS AND STABILITY OF BIOMOLECULES

Прокопьев В.Е., Удут В.В.¹

Институт сильноточной электроники СО РАН (ИСЭ СО РАН), Томск, Prokop@ogl.hcei.tsc.ru

¹НИИФармакологии и Регеративной Медицины СО РАН им. Е.Д. Гольдберга, Томск, mail: udutv@mail.ru

Несмотря на большой период времени (4,65 млрд. лет) формирования солнечной системы и её планет спектральное распределение энергии излучения Солнца в диапазоне длин волн $0,3 < \lambda < 3$ мкм, оказывает важное влияние на развитие и функционирование пигментного состава фотосинтезирующих (ФС) и фоторецепторных систем (ФРС) живых организмов на Земле. Принято считать (Опарин А.И.), что химический состав первичной атмосферы имела восстановительный характер, и был прозрачен для жесткого УФ излучения в области $100 \div 300$ нм. Современная же атмосфера, гидросфера и поверхность Земли принципиально отличается от атмосферы других планет солнечной системы и первичной (древней) атмосферы наличием в ней большого количества свободного молекулярного кислорода и озонового слоя. Этот слой экранирует в настоящее время земную поверхность от губительного для живых организмов УФ излучения в диапазоне спектра $100 \div 300$ нм. Считается, что современная кислородная атмосфера, в значительной степени продукт

деятельности фотосинтезирующих организмов (синезелёные водоросли, зелёные растения) использующих воду и двуокись углерода для разложения воды и выделения свободного кислорода начиная с ~2.7 млрд. лет назад.

В 60-е годы прошлого века С. Поннамперума и сотрудники экспериментально показали, что облучение УФ светом синильной кислоты ведёт к химическому синтезу аденина (А) и гуанина (Г). Обнаружено также, что облучение смеси метана, аммиака, водорода и воды вызывает образование пуринов, причём с наибольшим выходом аденина (А) и очень незначительным пиримидинов.

В этих работах, а также во многих других было установлено, что идёт синтез пуриновых оснований с очень небольшим выходом пиримидинов, и в особенности рибонуклеотида цитидина (Ц) и уридина (У). Однако в последнее время показано [1], что синтез пиримидинов в лабораторных условиях достигаются одной простой мерой - применением ультрафиолетовым облучением определенного диапазона, которого, как мы уже сказали выше, на древней Земле было достаточно, поскольку озоновый слой отсутствовал. Под воздействием ультрафиолета все «лишние» нуклеотиды постепенно разрушались, а цитидин оставался, и часть его превращается в уридин. Таким образом, в отличие от всех остальных пиримидиновых нуклеотидов, Ц и У оказались устойчивы к УФ с $\lambda=253,7$ нм, который использовался в этих исследованиях.

Поток солнечного излучения в области 100÷300 нм представляет большой интерес не только с точки зрения исследования Солнца и пропускания земной атмосферы, но абиогенного синтеза биологически важных молекул - фосфолипидов, нуклеиновых кислот, белков имеющих принципиальное значение для возникновения и эволюции жизни на древней Земле. В видимой и инфракрасной областях спектра, за исключением нескольких сильных фраунгоферовых линии (полос) он по существу непрерывный, и хорошо описывается планковской кривой (абсолютно черное тело) с температурой около 5778 К. Первое значительное отклонения от излучения абсолютно черного тела возникает на длинах волн вблизи 400 нм и обусловлен фраунгоферовыми линиями поглощения первого иона кальция (CaII) на длинах волн 393,5 нм и 397 нм. Однако самые сильные и широкие полосы поглощения в спектрах СИ наблюдаются в УФ в области 200÷300нм. Здесь можно обнаружить глубокие провалы интенсивности света, обусловленные его поглощением в сильных резонансных линиях атомов и ионов Mg (279 нм, 280 нм, 285 нм.), Fe (274 нм, 250÷260 нм, 233 нм), Si (288 нм, 294 нм) и сильной непрерывной континуум поглощения вызванный фотоионизацией атомов AlI в области меньше 200 нм.

В ближней УФ области (300 ÷ 190 нм) широкие и интенсивные фраунгоферовы линии поглощения атомов и ионов Mg, Fe, Ca, Si, Al и т. д. накладывающийся на континуум, становятся особенно заметным и в спектрах солнечного излучения прописанных с высоким спектральным разрешением интенсивность света в центрах поглощения этих линии близка к нулю, а точнее равняется фоновым астрофизическим значениям. Это приводит к тому что молекулы поглощающие свет в области фраунгоферовых линий с максимумами на длинах волн 285 нм, 280 нм, 274 нм, 260 нм, 250 нм, 233 нм. меньше всего подвержены разрушению уф фотонами.

В настоящей работе на основе детального сравнительного анализа спектров СИ на длинах волн 100 ÷ 300 нм проходящей через бескислородную восстановительную атмосферу со спектрами поглощения основных биологических молекул в водных растворах показано, что основные максимумы спектра поглощения биологических молекул расположены в области фраунгоферовых линии поглощения СИ в фотосфере. Это совпадение объясняет принципиальную возможность устойчивого селективного абиогенного синтеза этих молекул.

1. Matthew W. Powner, Béatrice Gerland, John D. Sutherland. Synthesis of activated pyrimidine ribonucleotides in prebiotically plausible conditions // Nature. 2009. V. 459. P. 239–242.

МЕХАНИЗМЫ ТУШЕНИЯ ТРИПЛЕТНЫХ СОСТОЯНИЙ ХЛОРОФИЛЛОВ ПРИ ФОТОСИНТЕЗЕ CHLOROPHYLL TRIPLET STATE QUENCHING MECHANISMS IN PHOTOSYNTHESIS

Проскураков И.И., Клемина И.Б., Фуфина Т.Ю., Васильева Л.Г., Грязнов А.А.

ФИЦ ПНЦБИ Институт фундаментальных проблем биологии РАН,
142290, Пущино, ул. Институтская, 2; E-mail: pros@issp.serpukhov.su

Процесс фотосинтеза начинается с поглощения квантов света молекулами пигментов с последующим переносом энергии электронного синглетного возбуждения и ее преобразованием в реакционных центрах (РЦ). Как заселение возбужденных состояний, так и фотохимические процессы в РЦ могут приводить к образованию триплетных состояний пигментов. В случае основных фотосинтетических пигментов - хлорофиллов (Хл) и бактериохлорофиллов (БХл) энергии их первых триплетных состояний достаточно для заселения синглетного состояния кислорода в процессе ${}^3(\text{Б})\text{Хл} + {}^3\text{O}_2 \rightarrow (\text{Б})\text{Хл} + {}^1\text{O}_2^*$, где ${}^3\text{O}_2$ - триплетное основное состояние кислорода, а ${}^1\text{O}_2^*$ - его синглетно-возбужденное состояние ${}^1\Delta_g$. Синглетный кислород является чрезвычайно химически активным, способным вступать в реакции с большинством биологически важных молекул и приводить к их деградации [1]. В связи с этим, фотосинтезирующие организмы выработали способы дезактивации триплетов пигментов. Основным таким способом является их тушение путем триплет-триплетного переноса энергии на каротиноиды (Кар), ${}^3(\text{Б})\text{Хл} + \text{Кар} \rightarrow (\text{Б})\text{Хл} + {}^3\text{Кар}$. У фотосинтетических

каротиноидов уровень энергии $^3\text{Кар}$ лежит ниже синглетного кислорода, и этот триплет быстро возвращается в основное состояние с диссипацией энергии в тепло.

Т-Т перенос энергии протекает по механизму Декстера, требующему перекрытия электронных оболочек молекул-участниц. При выполнении этого условия становится возможным также перенос электрона между молекулами. Данное обстоятельство не позволяет использовать тушение триплетных состояний Хл каротиноидами в таких структурах, как водоокисляющий РЦ фотосистемы 2 (ФС2) растений и цианобактерий, поскольку это привело бы к образованию паразитного канала переноса электрона от Кар к окисленному первичному донору электрона Р680. Действительно, молекулы Кар в ФС2 удалены от Р680 на расстояния около 20 Å [2], и образования $^3\text{Кар}$ в РЦ ФС2 не происходит. Тем не менее, в условиях однократного восстановления первичного акцептора электрона Q_A РЦ ФС2, т.е. в условиях эффективной генерации триплетных состояний Хл включается другой механизм тушения $^3\text{Хл}$, природа которого до настоящего времени не определена. Этот механизм не работает при двукратном восстановлении или удалении Q_A [3].

Кислород-выделяющие комплексы ФС2, в которых можно создавать различные состояния восстановленности акцептора Q_A содержат большое число молекул Хл, что значительно осложняет исследование свойств триплетных состояний пигментов. Кроме того, такие исследования требуют применения дорогостоящего жидкого гелия для получения низких температур. Похожий эффект восстановления Q_A на время жизни триплетов БХл наблюдается в РЦ пурпурных бактерий, эксперименты с которыми значительно проще. Нами высказано предположение, что эффект однократного восстановления акцептора Q_A связан с образованием в РЦ радикал-триплетных пар (РТП). Данный механизм хорошо известен в области органической фотофизики [4], однако в применении к фотосинтезу ранее не рассматривался. В своем сообщении мы приводим результаты исследований РЦ мутанта R26 пурпурной несерной фототрофной бактерии *Rhodobacter sphaeroides*, в котором отсутствуют молекулы Кар, которые в противном случае тушили бы $^3\text{БХл}$, что исключило бы возможность исследования этого триплетного состояния. В работе использовали методы ЭПР, в том числе высокого временного разрешения, и оптический флеш-фотолиз микросекундного временного разрешения в магнитных полях. Измерения проводили с образцами РЦ, как содержащими однократно и двукратно восстановленный Q_A , так и с акцептором, удаленным методами геной инженерии. Показано, что зависимости времени жизни $^3\text{БХл}$ от магнитного поля в случае однократно восстановленного первичного акцептора соответствуют предположению об РТП механизме тушения триплетного состояния и указывают на отсутствие данного механизма при двойном восстановлении Q_A или его удалении. Приводятся аргументы в пользу работы механизма РТП в реакционных центрах ФС2. РТП механизм может быть полезен также при разработке искусственных фотопреобразователей для тушения нежелательных триплетных состояний.

Работа частично выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 17-00-0207 (К).

1. Di Mascio P., Cadet J. et al. Singlet Molecular Oxygen Reactions with Nucleic Acids, Lipids, and Proteins // Chem. Rev. 2019. Vol. 119. P. 2043.
2. Guskov A., Saenger W. et al. Cyanobacterial Photosystem II at 2.9-Å Resolution and the Role of Quinones, Lipids, Channels and Chloride // Nature Struct. Mol. Biol. 2009. Vol. 16. P. 334.
3. Feikema W.O., Proskuryakov I.I. et al. EPR Characterisation of the Triplet State in Photosystem II Reaction Centers with Singly Reduced Primary Acceptor Q_A // BBA. 2005. Vol. 1709. P. 105.
4. Swenberg C.E. and Geacintov N.E. Exciton Interactions in Organic Solids in: Organic Molecular Photophysics. London, Wiley. 1973. Vol. 1. P. 489.

ЭКСИТОННОЕ ПОГЛОЩЕНИЕ И ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ В i-МОТИВЕ ДНК

EXCITON ABSORPTION AND LUMINESCENCE IN i-MOTIF DNA

Ревезук З.В., Капитонова М.А., Кононов А.И.
СПбГУ, Санкт-Петербург, anbitko0@gmail.com

Хорошо известно, что солнечный свет является мутагенным агентом, вызывающим различные повреждения ДНК. Одним из наиболее опасных изменений структуры ДНК является образование циклобутан-пиримидиновых димеров (ЦПД), которые могут вызывать рак кожи [1]. ЦПД и другие фотопродукты в основном возникают в результате прямого взаимодействия ультрафиолетовой части спектра солнечного излучения с ДНК. Реакция образования ЦПД протекает очень быстро - в течение ~ 1 пс, и за такое время основания не успевают перегруппироваться [2]. Из каких возбужденных состояний начинаются фотохимические реакции, и какова их природа, имеет жизненно важное значение для понимания фундаментальных принципов фотохимии ДНК. Эти первичные фотопроцессы происходят в фемтосекундном масштабе времени и сильно влияют на последующую фотохимию. Они были и остаются предметом большого количества исследований [3].

В представленной была изучена динамика эмиссии флуоресценции на фемтосекундной временной шкале для нейтральных одноцепочечных и полу-протонированных форм цитозинового цепочек (dC)₁₀. Показано, что

последние образуют в растворе структуру, называемую *i*-мотивом. Для формы *i*-мотива на ап-конверсионных кривых затухания флуоресценции, полученных до 6 пс, видны две компоненты. Быстрая компонента может быть отнесена к мономероподобному излучению из локально возбужденного состояния. Медленная компонента смещена в более длинноволновую область, причем этот сдвиг коррелирует (по знаку и количеству) с красным смещением состояния с наименьшей энергией, наблюдаемым в спектре поглощения полу-протонированного (dC)₁₀. Предполагается, что медленная компонента относится к делокализованному (экситонному) возбужденному состоянию. Доля оснований, вовлеченных в делокализованное состояние, сравнима с долей локально возбужденных оснований. КМ-расчеты спектра возбуждения структуры *i*-мотива тетрамера предполагают экситонную природу низкоэнергетических переходов в *i*-мотиве. Делокализованное эмиссионное состояние, вероятно, является предшественником для дальнейшего формирования долгоживущих эксимерных состояний с переносом заряда, наблюдаемых в структурах с *i*-мотивом.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект No. 18-33-01233.

1. Brash D. E. et al. A role for sunlight in skin cancer: UV-induced p53 mutations in squamous cell carcinoma // Proc. Natl. Acad. Sci. 88, 10124–10128 (1991).
2. Schreier W. J. et al. Thymine Dimerization in DNA Model Systems: Cyclobutane Photolesion Is Predominantly Formed via the Singlet Channel // J. Am. Chem. Soc. 131, 5038–5039 (2009).
3. Pollum M. et al. Photochemistry of Nucleic Acid Bases and Their Thio- and Aza-Analogues in Solution // Photoinduced Phenomena in Nucleic Acids I (eds. Barbatti, M., Borin, A. C. & Ullrich, S.) 355, 245–327 (Springer International Publishing, 2014).

УВЕЛИЧЕНИЕ СКОРОСТИ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ В ФОТОСИСТЕМЕ 2 В ПРИСУТСТВИИ НАНОЧАСТИЦ ТРЕХВАЛЕНТНОГО ЖЕЛЕЗА

INCREASE OF ELECTRON TRANSFER RATE IN PHOTOSYSTEM II IN THE PRESENCE OF IRON(III) NANOPARTICLES

Сёмин Б.К., Давлетшина Л.Н, Рубин А.Б.

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, биологический факультет, кафедра биофизики, 119234, Москва, Ленинские горы, 1, стр.12

Тел. +7(495)939-33-15; факс: +7(495)939-11-15; E-mail: semin@biophys.msu.ru

Исследовано влияние водорастворимых и стабильных наночастиц трехвалентного железа (комплекс Fe(III) с сахарозой (ЖСК) в концентрационном соотношении 1: 200) на эффективность транспорта электронов в мембранных препаратах фотосистемы 2 (ФС2) шпината. ЖСК значительно (в 1,5 раза) увеличивает скорость выделения кислорода мембранными препаратами ФС2 в присутствии альтернативного акцептора электронов 2,6-дихлор-*n*-бензохинона (ДХБХ). Такой же эффект наблюдается в препаратах ФС2 без кальция в кислород-выделяющем комплексе, а также в тилакоидных мембранах при pH 6,5. Без ДХБХ железо-сахарозный комплекс обеспечивает только 5%-ую скорость выделения кислорода. Транспорт электронов, обеспечиваемый парой ДХБХ + ЖСК, ингибируется диуроном. Максимум стимулирующего эффекта и его насыщение были зафиксированы при концентрации Fe(III) > 5 мкМ. В случае других бензохиноновых акцепторов электронов (2-фенил-*n*-бензохинон и 2,3-диметил-*n*-бензохинон) и 2,6-дихлорфенолиндофенола стимулирующий эффект ЖСК не наблюдался. Инкубация препаратов ФС2 с различными концентрациями ЖСК сопровождается связыванием Fe(III) с мембранными компонентами, но только около 50% железа может быть извлечено мембранами ФС2 при pH 6,5. Полученный результат указывает на неоднородность наночастиц ЖСК в буфере, которая проявляется в различной степени связывания катионов железа с мембранными компонентами ФС2. Уровень неоднородности наночастиц зависит от pH, уменьшаясь с увеличением pH. При pH около 9,0 суспензия ЖСК является гомогенной согласно тесту связывания с мембранными компонентами ФС2. С использованием метода динамического рассеяния света были проведены измерения дзета-потенциала наночастиц и его pH зависимость. При pH 10,2 дзета- потенциал равен -32,6 мВ, при уменьшении pH он увеличивается и достигает значения -3,75 мВ при pH 6,5. Резкое изменение величины дзета- потенциала наблюдается в области pH 7,4 – 6,5, что совпадает с изменением эффективности связывания катионов железа с мембранами ФС2 при данных pH. Изучение этой pH-зависимости демонстрирует, что стимуляция транспорта электронов вызывается только катионами железа, которые могут быть связаны мембранами ФС2. Неэкстрагируемый пул железа не может активировать перенос электронов от кислород-выделяющего комплекса к ДХБХ. С использованием спектрального анализа были исследованы процессы восстановления/окисления альтернативных акцепторов электронов ДХБХ и ЖСК с целью выяснения механизма их взаимодействия. Обнаруженный нами положительный эффект (повышение эффективности электронного транспорта) наночастиц железа отличается от негативного эффекта (ингибирование фотосинтетической активности) наночастиц ряда металлов (CuO, Ag, Au, ZnO, Co, Pt), исследованных ранее

(см. обзор Tighe-Neiraa и др. 2018). Принимая во внимание повышенный интерес в фотосинтетических научных исследованиях к ФС2, как к потенциальному компоненту различных биоустройств, возможность значительного повышения эффективности работы ФС2 в присутствии микромолярной концентрации наночастиц железа может представлять определенный интерес.

Tighe-Neiraa R., Carmorac E., Recioc G., Nunes-Nesid A., Reyes-Diaze M., Alberdie M., Rengelg Z., Inostroza-Blancheteaub C. Metallic nanoparticles influence the structure and function of the photosynthetic apparatus in plants// Plant Physiol Biochem. 2018. Vol.130. P. 408-417.

ДИСТАНЦИОННЫЕ ВЗАИМОВЛИЯНИЯ РАСТЕНИЙ, РЕГИСТРИРУЕМЫЕ ИЗМЕРЕНИЕМ ИМПУЛЬСНОЙ АМПЛИТУДНО-МОДУЛИРОВАННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА

DISTANT INTER-EFFECTS BETWEEN PLANTS REGISTERED BY PULSE AMPLITUDE MODULATED FLUORESCENCE MEASUREMENTS

Кашулин П.А., Калачева Н.В., Смирнова М.В.

Полярно-альпийский ботанический сад-институт РАН, г. Апатиты

Глобальные климатические изменения сказываются на продуктивности наземных экосистем, затрагивая ее многолетнюю динамику, способствуют синхронности приростов древостоев на Евразийском континенте [1]. При анализе роли слабых экологических факторов в популяционной динамике важно минимизировать экспериментальное воздействие на объекты. Этому требованию отвечает техника измерений импульсно модулированной флуоресценции хлорофилла в нативных структурах растений. Полевую модификацию флуориметра PAM-2100, «WALZ, Effetrich», ФРГ использовали для мониторинга фотосинтетической способности сообщества индикаторных лесобразующих деревьев в условиях северной тайги Кольского севера. А также для анализа биоактивности вторичной эмиссии, вызванной первичным стрессовым воздействием на растения, культивируемые в лабораторных условиях. В качестве объектов природного мониторинга использовали древесные породы бореальных видов и экотипов, осину *Populus tremula* L., берёзу *Betula pendula* Roth и др. виды. Измерением флуоресцентных параметров: Fo, Fv/Fm, Fm и др. [2] оценивали текущее состояние ФСА, уровень фотохимической конверсии, активность фотозащитных систем листьев *in situ* вплоть до их опадения. Освещенность, УФ радиацию и температуру измеряли анализатором ТКА-ПКМ. ФАР на листовой пластинке и ее температуру измеряли микроквантовым сенсором «Leaf-Clip Holder 2030-B». Для оценки влияния физических факторов и вызванных ими вторичных эффектов использовали оранжерейные растения: *Ficus benjamina*, форма «Danielli» и *Hibiscus rosa-sinensis* «Sunny Alicante». Стрессовое воздействие создавали 2 мин облучением растений ультрафиолетом УФ-С от источника Camelion, WL-30216, 15 Вт, слабым гамма-излучением изотопа ¹⁵²Eu, экспозиция 90 мин при мощности дозы 0,27 – 0,54 мГр/ч. А также - механическим повреждением, срезанием апекса ветки. Обнаружены интегральные реакции листьев кроны на локальное воздействие фактора. А также - более замедленные реакции контрольных, не подвергнутых стрессу растений, культивируемых совместно. Реакции обнаруживали по резкому подъему Fo и снижению Fv/Fm на величины, превышающие их стандартные отклонения. В ходе полевых измерений обнаружена септанная цикличность флуоресцентных параметров. При неблагоприятной погоде, в начале и конце вегетации фиксировали рост Fo листьев. Для летних месяцев обнаружено монотонное снижение среднемесячных значений Fo за пять лет наблюдений, июльские Fo убывали на 40-60% для березы, осины и др. видов. В эти годы также монотонно убывала солнечная активность. В сентябре 2017 и в другие даты зарегистрированы флуктуации Fo синхронные со вспышками на Солнце, сопровождавшимися массовыми корональными инъекциями в сторону Земли. При параллельных измерениях флуоресценции листьев крон в периоды высоких Fo обнаружена синхронность многодневной динамики показателя. Коэффициент парной корреляции в сентябре 2014 г. был не ниже 0,92 для всех проанализированных пар листьев березы и осины. В сентябре 2014 и 2017 гг. зарегистрирована синхронность динамики параметров Fo, Fm и Fv/Fm для крон близко растущих деревьев одного и разных видов (береза-осина). Это указывает на возможность синхронизации фотосинтетической и фотопротекторной функций крон при неблагоприятных условиях. Fo отражает флуоресцентную эмиссию при открытых реакционных центрах и максимальном фотохимическом тушении, рост показателя характеризует деструкцию реакционных центров ФС II или ингибирование переноса энергии возбуждения от антенн на реакционные центры [2]. Локальные стрессовые воздействия могут вызывать интегральные реакции кроны и дистанционное влияние, физиологические ответы у совместно инкубируемых контрольных растений. Одним из возможных каналов дистанционной передачи физиологического сигнала может быть вторичное биогеенное излучение [3] или другие формы слабой световой эмиссии, которая может усиливаться при совместной синхронизации. В обоих случаях происходит повышение уровня флуоресценции Fo, отражающее состояние фотосинтетического аппарата и физиологическую активность организма растения.

1. Shestakova T. A. et al. Forests synchronize their growth in contrasting Eurasian regions in response to climate warming // Proc. Natl. Acad. Sci. 2016. Vol. 113 (3), P. 662-667.
2. Bolhar-Nordenkampf H.R. et al. Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: A review of current instrumentation // Funct. Ecol. 1989. Vol. 3. P. 497-514.
3. Кузин А.М. Роль природного радиоактивного фона и вторичного биогенного излучения в явлениях жизни. М.: Наука, 2002. 78 с.

ПЕРВИЧНЫЕ РЕАКЦИИ РОДОПСИНА EXIGUOBACTERIUM SIBIRICUM (ESR)

PRIMARY REACTIONS OF EXIGUOBACTERIUM SIBIRICUM RHODOPSIN (ESR)

Смитиенко О.А.¹, Фельдман Т.Б.^{1,2}, Петровская Л.Е.³, Некрасова О.В.³, Яковлева М.А.¹, Шелаев И.В.⁴, Гостев Ф.Е.⁴, Черепанов Д.А.⁴, Долгих Д.А.^{2,3}, Кольчугина И.Б.², Надточенко В.А.⁴, Кирпичников М.П.^{2,3}, Островский М.А.^{1,2}

¹ИБХФ РАН, г. Москва, ibcp@sky.chph.ras.ru

²МГУ им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, г. Москва, info@mail.bio.msu.ru

³ИБХ РАН, г. Москва, office@ibch.ru

⁴ИХФ РАН, г. Москва, icp@chph.ras.ru

ESR – родопсин почвенной эубактерии *Exiguobacterium sibiricum*, являющийся светозависимым протонным насосом [1], входит в состав семейства микробных родопсинов и гомологичен бактериородопсину (bR), протеродопсину (pR) и ксантородопсину (xR). Поглощение света ESR приводит к изомеризации хромофора ретиналя из полностью-транс в 13-цис форму и запускает ряд конформационных изменений белка, замкнутых в фотоцикл, кинетические характеристики которого, как и в pR, зависят от pH. Впервые были исследованы первичные стадии фотоцикла рекомбинантного ESR в мономерной форме методом «возбуждение-зондирование» фемтосекундной абсорбционной лазерной спектроскопии в спектральном диапазоне 400-900 нм с временным разрешением 25 фс при pH 7.5. Также было проведено сравнение динамики первичных реакций ESR с наиболее изученным в настоящее время ретиналь-содержащим белком бактериородопсином в нативной тримерной (bR_{trim}) и рекомбинантной мономерной (bR_{rec}) формах.

Было показано, что в ESR наблюдается образование первичных интермедиатов, аналогичных интермедиатам *I*, *J* и *K* bR. Разложение дифференциальных спектров фотоиндуцированного поглощения ESR, bR_{rec} и bR_{trim} на всех временах зондирования на Гауссианы, моделирующие различные состояния, участвующие в первичных реакциях, позволило определить спектральные и кинетические характеристики интермедиатов фотоцикла. В сигналах поглощения всех исследуемых белков были выявлены две коротковолновые и две длинноволновые полосы поглощения из возбужденного состояния, которые были приписаны S₁→S₃ и S₁→S_n переходам, что подтверждается данными работы [2] по исследованию ретиналя в газовой фазе. Были определены максимумы поглощения интермедиатов *I*, *J* и *K*, а также времена их образования и распада. Время распада возбужденного состояния ESR (интермедиата I₄₈₂) двухкомпонентно и составило ~ 0.7 и 4 пс. Время образования первого продукта с изомеризованным ретиналем J₅₈₇ составило ~ 0.7 пс, переход в следующий продукт K₅₇₁ – ~ 7 пс, а образование исходного состояния – ~ 0.9 и 3.4 пс. Для bR были получены аналогичные данные, но с меньшими временами: время распада возбужденного состояния составило ~ 0.45 и 1.5 пс (bR_{trim}) и ~ 0.6 и 3 пс (bR_{rec}); время образования продукта *J* – 0.3 пс (bR_{trim}) и 0.8 пс (bR_{rec}); переход в продукт *K* – 1 пс (bR_{trim}) и 1.4 пс (bR_{rec}); а переход в исходное состояние – 0.3 и 2.3 (bR_{trim}) и 0.6 и 5 пс (bR_{rec}). Быстрая временная компонента распада возбужденного состояния была приписана реакционному пути, ведущему через коническое пересечение S₁/S₀ поверхностей потенциальной энергии к образованию продукта *J* и исходного белка. Медленная компонента, вероятно, связана с нереакционным путем, ведущим только к образованию исходного белка. Этот путь может отражать наличие в образцах небольшого количества белка с особой конформацией хромофорного центра белка и ретиналя, которая не позволяет ему изомеризоваться в 13-цис форму.

Таким образом, можно заключить, что динамика первичных реакций ESR очень близка bR и по своим временным характеристикам сравнима с bR_{rec}, который также находится в мономерной форме.

Работа поддержана Российским Фондом Фундаментальных Исследований No. 17-00-00165 КОМФИ и No. 18-015-00305 (экспериментальная часть); No. 17-00-00166 (теоретическая часть).

1. Petrovskaya L.E. et al. Predicted bacteriorhodopsin from *Exiguobacterium sibiricum* is a functional proton pump // FEBS Lett. 2010. Vol. 584. P. 4193.
2. Kiefer H.V. et al. Intrinsic photoisomerization dynamics of protonated Schiff-base retinal // Nat Commun. 2019. Vol. 10. P. 1210.

АДСОРБЦИЯ И ФОТОДИНАМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ НА БИСЛОЙНОЙ ЛИПИДНОЙ МЕМБРАНЕ**ADSORPTION AND PHOTODYNAMIC PROPERTIES OF PHOTOSENSITIZERS ON A BILAYER LIPID MEMBRANE**

Соколов В.С., Именес-Мунзуйя И., Федоров А., Ермаков Ю.А., Абдулаева И.А., Бирин К.П., Мешков И.Н., Горбунова Ю.Г.

Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, 119071, Москва, Ленинский просп., 31, с.4, Россия

Метод фотодинамической терапии использует фотосенсибилизаторы (ФС) – соединения, способные связываться на поверхности клетки и вызывать ее гибель, генерируя активные формы кислорода, главным образом синглетного кислорода (СК), при освещении видимым светом. Исследования на бислойной липидной мембране (БЛМ) позволяют оценивать эффективность ФС *in vitro* в среде, близкой по структуре к клеточным мембранам. Измерения граничных потенциалов БЛМ позволили изучить адсорбцию ФС на БЛМ, а также оценить их фотодинамическую эффективность, измеряя скорость разрушения введенных в мембрану молекул - мишеней СК. Мишенями служили стироловые красители RH421 или di-4-ANEPPS, присутствие которых на поверхности БЛМ можно было обнаружить по создаваемому ими дипольному потенциалу [1]. С помощью этих методов нами проведено сравнительное исследование нескольких по структуре ФС, в число которых входили анионные сульфированные производные фталоцианинов [2] и сульфированные порфирины [3], а также катионные порфирины двух видов: с периферийным расположением заряженных групп (имидазольных или пиридильных) и с локализацией заряда в центральной полости макроцикла.

Скорости разрушения молекул-мишеней, расположенных на противоположных сторонах мембраны, синглетным кислородом, генерируемым при возбуждении молекул порфиринов, расположенных на одной ее стороне, были близки, что говорит о хорошей проницаемости мембраны для СК. В случае фталоцианинов наблюдали торможение реакции разрушения мишеней в случае, когда молекулы мишени и ФС были адсорбированы с одной стороны БЛМ, которое объяснялось тушением СК молекулами мишени [2].

Для корректного сравнения фотодинамической активности различных ФС определяли поверхностную плотность их молекул, адсорбированных на мембране. Поверхностную плотность определяли по изменению поверхностного заряда мембран с помощью измерений ζ -потенциала липосом. Скорость R разрушения мишеней оказалась пропорциональной поверхностной плотности для всех изученных порфиринов, что отличало их от ранее изученных фталоцианинов, с которыми зависимость R от плотности достигала насыщения, вызванного самотушением СК этими соединениями [2]. Для всех порфиринов, включая изученные ранее сульфированные порфирины [3], зависимости R от плотности почти совпадали. Это означает, что эффективность генерации синглетного кислорода у данных порфиринов в мембране практически одинаковая. Аналогичный результат был получен нами и для сульфированных фталоцианинов [2], где было показано, что только в случае фталоцианинов с одной и двумя сульфогруппами значение R было выше, что объяснялось тем, что молекулы этих ФС располагаются в липидном бислое на большей глубине.

Результаты исследований показывают, что синглетный кислород хорошо проникает через мембрану, так что его стационарная концентрация с обеих сторон мембраны почти одинакова. Различие эффективности изученных порфиринов определяется главным образом различием их сродства к мембране, а квантовый выход СК различается незначительно. Большая эффективность малосульфированных фталоцианинов связана с их погружением в мембрану и вызвана, по-видимому, распределением СК в мембране, при котором его концентрация внутри мембраны выше, чем на ее поверхности. Тушение СК в мембране происходит из-за близкого расстояния между источником СК – молекулой фталоцианина и молекулой – мишенью СК (di-4-ANEPPS). Это свидетельствует о том, что реальное время жизни и свободный пробег СК в мембране значительно меньше, чем в гомогенных органических растворителях.

Работа поддержана проектом РФФИ № 19-04-00694 и РНФ № 19-13-00410.

- 1 Sokolov V.S. et al Voltage-sensitive styryl dyes as singlet oxygen targets on the surface of bilayer lipid membrane // J. Photochem. Photobiol. B 2016 Vol.161 P.162.
- 2 Sokolov V.S. et al Residence time of singlet oxygen in membranes // Sci. Rep. 2018 Vol. 8, 14000.
- 3 Konstantinova A.N. et al Adsorption and photodynamic efficiency of meso-tetrakis(p-sulfonatophenyl)porphyrin on the surface of bilayer lipid membranes //J. Photochem. Photobiol. B 2018 Vol.189 P. 74-80.

**ДИСТАНЦИОННОЕ ЗОНДИРОВАНИЕ БЫСТРЫХ СТРЕССОВЫХ ОТВЕТОВ
ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА У РАСТЕНИЙ****REMOTE SENSING OF FAST STRESS RESPONSES OF PHOTOSYNTHETIC MACHINERY
IN PLANTS***Сухов В.С., Сухова Е.М., Юдина Л.М., Громова Е.Н., Воденеев В.А.*Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, vssuh@mail.ru

Растения живут в изменчивых условиях окружающей среды и часто подвергаются действию неблагоприятных факторов. Происходящее при этом развитие стрессовых ответов охватывает широкий спектр физиологических процессов растительного организма, включая изменения генной экспрессии, продукции фитогормонов, транспирации, трансмембранного и дальнего транспорта, дыхания и т.д. Важную роль среди вызванных стрессовыми факторами физиологических ответов играют быстрые изменения в протекании фотосинтетических процессов, включая увеличение нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла, усиление циклического потока электронов, перераспределение главного светособирающего комплекса между фотосистемами, снижение нециклического потока электронов и ассимиляции CO₂ и многое другое. Важно отметить, что развитие сходного комплекса фотосинтетических изменений может наблюдаться как при системном действии неблагоприятных факторов, так и при их локальном действии с последующим распространением быстрых стрессовых сигналов электрической, химической и/или гидравлической природы.

Ранняя диагностика быстрых стрессовых ответов фотосинтетического аппарата (в частности, оптическими методами) является важной прикладной задачей, реализация которой требует знания физиологических основ таких ответов, анализа их связи с оптическими свойствами листа, а также построения математических моделей для количественного описания такой связи. Можно выделить несколько перспективных подходов к дистанционной диагностике фотосинтетических стрессовых ответов: флуоресцентный имиджинг, мультиспектральный/гиперспектральный имиджинг и, возможно, RGB-имиджинг.

Имеется два основных направления применения флуоресцентного имиджинга для решения задачи дистанционного зондирования стрессовых фотосинтетических ответов. Во-первых, это имиджинг на основе измерения флуоресценции, индуцированной солнечным светом. Такой подход достаточно широко используется в дистанционном мониторинге; однако, эффективность его применения ограничивается сложностью интерпретации полученных результатов. Во-вторых, это РАМ-имиджинг, опирающийся на метод РАМ-флуориметрии. Такой имиджинг обладает высокой информативностью (прежде всего, позволяя измерить квантовый выход фотохимических реакций у фотосистемы II и нефотохимическое тушения флуоресценции). Однако, в настоящее время практически отсутствуют примеры успешной реализации этого подхода на достаточно больших расстояниях от растения. Таким образом, использование этого метода в дистанционном зондировании состояния растений не является на данном этапе достаточно эффективным.

Альтернативный подход для ранней диагностики быстрых стрессовых ответов фотосинтетического аппарата опирается на измерения тех или иных отражательных индексов, которые связаны с протеканием фотосинтетических процессов; т.е. на мультиспектральный и/или гиперспектральный имиджинг. Особое место среди отражательных индексов занимает фотохимический индекс отражения (PRI); так как именно этот индекс должен иметь высокую чувствительность к быстрым изменениям фотосинтеза при действии неблагоприятных факторов. В то же время, данные о величине корреляции между величиной PRI и нефотохимическим тушением достаточно противоречивы: в некоторых работах такая корреляция превышала по своей абсолютной величине 0.9, в то же время в других работах отмечалось, что корреляция между исследуемыми показателями может быть ниже 0.5. Проведенный авторами комплекс исследований показал, что развитие стрессовых ответов фотосинтетического аппарата, вызванных избыточным освещением, нагревом, почвенной засухой, а также распространением стрессовых сигналов электрической природы, приводит к снижению величины PRI. При этом, с показателями фотосинтетического ответа была связана не столько абсолютная величина PRI, сколько величина его изменения (ΔPRI). Важно отметить, что использование ΔPRI позволило получить единую регрессионную модель, которая достаточно эффективно описывает связь ΔPRI и нефотохимического тушения флуоресценции у различных высших растений при действии различных стрессоров. Таким образом, измерение PRI (и, особенно, его изменений – ΔPRI) представляется перспективным подходом к дистанционному зондированию быстрых стрессовых ответов фотосинтетического аппарата у растений.

Наконец, весьма интересной проблемой является возможность использования анализа RGB-изображений для выявления быстрых стрессовых ответов фотосинтетического аппарата. Несмотря на то, что RGB-изображения традиционно применяются для выявления медленных изменений состояния растений, ранее нами было показано, что распространяющиеся электрические сигналы способны вызывать быстрые изменения отражательных коэффициентов листа в широких спектральных диапазонах (близких к диапазонам RGB-изображения); при этом амплитуда изменений менялась в различных спектральных диапазонах. Выявленные изменения были слабо связаны с быстрыми фотосинтетическими ответами, вызванными электрическими сигналами; однако, возможно, они отражали медленные изменения фотосинтеза. Таким образом, эти результаты показывают потенциальную возможность использования RGB-изображений для мониторинга быстрых фотосинтетических ответов при действии стрессоров.

Работа была выполнена при поддержке Российского научного фонда (Проект №17-76-20032).

АНАЛИЗ СВЯЗИ НЕФОТОХИМИЧЕСКОГО ТУШЕНИЯ ФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА И ОПТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЛИСТА ГОРОХА

ANALYSIS OF RELATIONSHIP BETWEEN NONPHOTOCHEMICAL QUENCHING OF CHLOROPHYLL FLUORESCENCE AND OPTICAL PROPERTIES IN PEA LEAVES

Сухова Е.М., Ратницына Д.А., Сухов В.С.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, n.catherine@inbox.ru

Свет играет значительную роль в жизни растений, выступая в качестве источника энергии для фотосинтетических процессов, активируя гормоны и транспортные системы, в результате чего происходит регулирование циркадных ритмов, процессов роста и развития и т.п. При этом оптические свойства листьев растений могут в существенно изменять поглощение света и его распределение внутри листа. Как следствие, изменение оптических свойств листа тесно связано с изменениями физиологических процессов и физиологическими ответами растений на действие стрессоров. Наибольший интерес у исследователей вызывают отражение и светопропускание листьев растений. Эти оптические свойства используют для анализа воздействия различных стрессоров (температурный, водный, солевой, азотный стресс) на растения, для оценки их химических свойств и активности физиологических процессов.

Фотосинтез является одним из ключевых процессов растений, обеспечивающих их энергизацию. Благодаря анализу активности его процессов, в частности, распределению световой энергии в фотосинтетическом аппарате, ассимиляции, возможно оценить подверженность растений стрессу и попытаться спрогнозировать урожайность растений. Кроме того, фотосинтез может выступать в качестве посредника между различными физиологическими процессами благодаря сигнальной роли его некоторых метаболитов, в том числе, АТФ, глюкозы, активных форм кислорода и др. В связи с этим, исследования фотосинтеза становятся весьма актуальными. Основным методом исследования фотосинтеза является регистрация и анализ флуоресценции хлорофилла. Этот метод хорошо зарекомендовал себя в лабораторных условиях, однако, имеет технические сложности для реализации в полях. Для решения этой проблемы представляется перспективным анализ связи фотосинтетических параметров с оптическими свойствами листа, а также рассчитанными на их основе оптическими индексами. В частности, нами была проанализирована связь нефотохимического тушения флуоресценции листа гороха с его отражением и светопропусканием. Нами было показано, что освещение синим светом может вызывать развитие постепенных изменений светопропускания. Потенциально, такой эффект может быть тесно связан с нефотохимическим тушением, а также влиять на параметры отражения света листом. Также было проведено исследование влияния на оптические свойства листа другого типа стрессовых факторов – локального нагрева и связанных с ним электрических сигналов. Было выявлено возрастание отражения листом света в различных спектральных диапазонах. В перспективе подобные результаты могут быть использованы для сопоставления влияния избыточного света и других стрессоров на нефотохимическое тушение и оптические свойства листа. В дальнейшем результаты будут использованы при создании модели листа, описывающей изменения оптических свойств листа и фотосинтетических параметров для анализа механизма действия различных стрессоров.

Работа была выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (Проекты №17-76-20032 и №18-34-00644 мол_а).

ЛЮМИНЕСЦИРУЮЩИЕ КЛАСТЕРЫ МЕТАЛЛОВ, СТАБИЛИЗИРОВАННЫЕ ПРОТЕИНАМИ

LUMINESCENT METAL CLUSTERS STABILIZED BY PROTEINS

Сыч Т.С., Ревезук З.В., Ревезук А.А., Буглак А.А., Поляничко А.М., Кононов А.И.

Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, inxalid@gmail.com

В последние десятилетия сильно возрос интерес к металлическим нанокластерам ввиду их возможного применения в химии, биологии и материаловедении. Ввиду проявления ими квантовых свойств, они находят свое применение в катализе, химическом зондировании, биоимиджинге, оптоэлектронике одиночных молекул [1]. Среди большого количества вариантов металлических нанокластеров отдельно выделяются золотые кластеры из-за их высокой химической стабильности. Однако, люминесцентные кластеры серебра более предпочтительны для использования: они обладают высоким уровнем яркости, имеют большой квантовый выход и сечение поглощения. Несмотря на то, что структура нелюминесцентных кластеров довольно хорошо изучена, отсутствует детальная информация о структуре люминесцентных комплексов серебра с различными лигандами. Данная работа направлена, в том числе, на решение этой задачи.

Большая часть существующих работ в данной области направлена на синтез люминесцентных кластеров серебра, стабилизированных ДНК [2]. Однако, кластеры серебра, стабилизированные различными протеинами,

также имеет много преимуществ для биологических применений. Бычий сывороточный альбумин (БСА) был взят нами как хорошо изученный и модельный белок для построения модели комплекса люминесцентного кластера серебра, стабилизированного протеиновой матрицей. Помимо БСА, мы рассмотрели такие белки, как: линкерный гистон H1 (лизин-богатый ядерный белок, содержит 194 аминокислотных остатка), HMGВ1 (белок суперсемейства HMGВ, содержит 215 аминокислотных остатка, включая три цистеина), лизоцим (низкомолекулярный (14 кДа) энзим, содержит 129 аминокислотных остатков, включая 4 дисульфидных мостика).

В рамках данной работы были оптимизированы протоколы синтеза люминесцентных кластеров серебра, стабилизированных различными протеиновыми матрицами, а именно: были определены оптимальные условия синтеза (рН, температура) и концентрационные соотношения реагентов. Также были определены фотофизические параметры исследуемых комплексов: были получены спектры поглощения комплексов, спектры возбуждения и испускания люминесценции, кривые анизотропии испускания люминесценции, определены времена жизни и квантовый выход. Также комплексы были исследованы с применением метода рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии, что позволило определить состояние молекул серы в образцах чистого белка и в образцах с комплексом кластера. Это позволило прояснить понимание структурных изменений молекулярного строения матрицы и комплекса при кластерообразовании. Кроме этого, были проведены теоретические квантово-механические расчеты с использованием методов компьютерного моделирования для построения теоретической модели исследуемых комплексов. При сравнении её с экспериментально полученными данными было показано хорошее совпадение, что может свидетельствовать об успешном построении непротиворечивой модели таких комплексов [3].

Также, в качестве стабилизирующей матрицы был использован человеческий иммуноглобулин (IgG). В результате серии экспериментов были успешно получены люминесцентные кластеры серебра и золота на данной матрице. Данный белок был впервые использован для синтеза нанокластеров. Человеческий сывороточный альбумин (ЧСА) практически неотличим по своему составу и свойствам от аналогичного ему БСА. Поэтому, объединив знания об обоих комплексах (кластеры серебра, стабилизированные БСА и IgG), мы можем говорить о возможности применения люминесцентного анализа с использованием кластеров серебра для работы с сывороткой крови человека. Это абсолютно новое, очень важное направление в персонализированной медицине, которое позволит вывести диагностику на качественно новый уровень.

Данная работа была проведена при поддержке Российского Научного Фонда (исследовательский грант № 16-13-10090). Также выражаем благодарность ресурсным центрам СПбГУ «Оптические и лазерные методы исследования вещества» и «Физические методы исследования поверхности».

1. Chakraborty I., Pradeep T. Atomically Precise Clusters of Noble Metals: Emerging Link between Atoms and Nanoparticles. // Chem. Rev., 2017, Vol. 117, P. 8208-8271.
2. Gwinn E., Schultz D., Copp S.M., Swasey S. DNA-Protected Silver Clusters for Nanophotonics. // Nanomaterials, 2015, Vol. 5, P. 180-207.
3. Sych T.S. et al. Fluorescent Silver Clusters on Protein Templates: Understanding Their Structure. // J. Phys. Chem. C., 2018, Vol. 122, P. 29549-29558.

НИЗКОЧАСТОТНЫЕ КОЛЕБАНИЯ ОЛИГОМЕРОВ БАКТЕРИОХЛОРОФИЛЛА С В ХЛОРОСОМАХ ЗЕЛЕНОЙ ФОТОТРОФНОЙ БАКТЕРИИ CHLOROFLEXUS AURANTIACUS

VERY LOW FREQUENCY VIBRATIONS OF BACTERIOCHLOROPHYLL C IN CHLOROSOMES FROM GREEN PHOTOTROPHIC BACTERIUM CHLOROFLEXUS AURANTIACUS

Яковлев А.Г., Таисова А.С., Фетисова З.Г.

НИИ физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва,
taisova@belozersky.msu.ru

Фототрофные зеленые бактерии обладают самой большой периферической светособирающей антенной, локализованной во внемембранных эллипсоидных структурах - хлоросомах. Молекулы бактериохлорофиллов (БХл) внутри хлоросомы организованы посредством самосборки за счет пигмент-пигментных взаимодействий и не требуют белков в качестве основы для своей структурной организации, как в случае других фотосинтетических антенных систем. Несмотря на многочисленные исследования, окончательное понимание пространственной организации хлоросомных антенн еще не достигнуто. Авторами данной работы с помощью когерентной фемтосекундной спектроскопии при криогенной температуре впервые продемонстрировано, что сверхнизкочастотные ($\sim 10 \text{ см}^{-1}$) колебания пигментов БХл *c* в выделенных хлоросомах *Chloroflexus aurantiacus* чувствительны к степени олигомеризации этих БХл, которая зависит от размера антенны. В свою очередь размер хлоросомной антенны определяется интенсивностью света при росте клеточной культуры [1, 2]. Исследование сверхнизкочастотных пигментных колебаний показало, что степень олигомеризации

хлоросомных БХл варьировала от ~ 2 до ~ 5 в зависимости от интенсивности света при росте клеточной культуры. Эти данные, вместе с ранее полученными результатами по спектроскопии и электронной микроскопии, подтвердили, что единичные строительные блоки, функционирующие в пределах хлоросомной антенны *Chloroflexus aurantiacus*, построены из довольно коротких переменных квазилинейных пигментных цепочек, размер которых зависит от интенсивности света при росте культуры. При снижении этой интенсивности света размер антенны БХл увеличивается, компенсируя дефицит света за счет усиления светопоглощающей способности антенны. Неизбежное падение эффективности функционирования антенны с увеличением ее размера, в свою очередь, компенсируется увеличением размера единичного строительного блока, что обеспечивает высокую эффективность передачи энергии внутри антенны независимо от ее размера [1, 2]. Предложенный нами подход представляется перспективным как для естественного, так и для искусственного фотосинтеза, поскольку он непосредственно раскрывает структурные и динамические свойства олигомерных пигментных систем.

1. Taisova A.S. et al. Size variability of the unit building block of peripheral light-harvesting antennas as a strategy for effective functioning of antennas of variable size that is controlled in vivo by light intensity // *Biochemistry (Mosc)*. 2014. Vol. 79(3). P.251.

2. Yakovlev A. et al. Variability of aggregation extent of light-harvesting pigments in peripheral antenna of *Chloroflexus aurantiacus* // *Photosynth Res*. 2017. Vol. 133. P. 343.

ГЕНЕРАЦИЯ ОКСИДА АЗОТА В МЕХАНОРЕЦЕПТОРНЫХ НЕЙРОНАХ И ГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ РАКА ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ: РОЛЬ Ca^{2+} , NF- κB И sGC

GENERATION OF NITROGEN OXIDE IN THE CRAYFISH MECHANORECEPTOR NEURONS AND GLIAL CELLS UNDER PHOTODYNAMIC IMPACT: THE ROLE OF Ca^{2+} , NF- κB AND sGC

Родькин С.В., Ковалева В.Д., Негинская М.А., Бережная Е.В., Узденский А.Б.

Лаборатория молекулярной нейробиологии, Академия биологии и биотехнологии,
Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия, e-mail: auzd@yandex.ru

Оксид азота (NO) – универсальный мессенджер, ответственный за множество физиологических процессов. NO принимает участие в таких патологических состояниях нервной системы, как инсульт, черепно-мозговая травма, нейродегенеративные заболевания, рак. Одним из методов разрушения опухолей, в частности, опухолей мозга, является фотодинамическая терапия, при которой фотовозбуждение молекул красителя вызывает образование цитотоксичного синглетного кислорода, вызывающего окислительный стресс и смерть клеток. Важную роль в регуляции выживания и гибели нейронов и глиальных клеток при фотодинамическом (ФД) воздействии играет NO [1, 2].

Изучение сигнальных механизмов, регулирующих ФД-индуцированную генерацию NO в нейронах и глиальных клетках, мы провели на изолированном рецепторе растяжения рака (PPP), простом нейроглиальном препарате, состоящем из одиночного механорецепторного нейрона (MPN), окруженного глиальными клетками. Для ФД воздействия препарат окрашивали алюмофталоцианином фотосенс (100 нМ) и облучали диодным лазером (670 нм, 0,4 Вт/см²). Динамику генерации NO в соме, дендритах и аксоне MPN и окружающих глиальных клетках изучали с помощью флуоресцентного зонда DAF-2DA (4,5-диаминофлуоресцеиндиацетат) и флуоресцентного микроскопа AxioLab A1 (K. Zeiss). Известно, что Ca^{2+} активирует нейрональную NO-синтазу (nNOS), а ФДТ увеличивает внутриклеточный уровень Ca^{2+} . Пути поступления Ca^{2+} при ФДТ в нейрон и глиальные клетки и его роль в генерации NO при ФДТ до конца неясны. Для исследования механизмов, регулирующих ФД генерацию NO использовали неспецифический блокатор Ca^{2+} -каналов плазматической мембраны Cd^{2+} (CdCl_2), блокатор Ca^{2+} -каналов L-типа нифедипин (20 мкМ), 100 мкМ), Ca^{2+} -ионофор иономицин (2 мкМ), ингибитор Ca^{2+} -АТФазы эндоплазматического ретикулума tBuBHQ (35 мкМ), активатор NF- κB простратин (10 мкМ), ингибитор NF- κB партенолид (10 мкМ), селективный ингибитор индуцибельной NO синтазы (iNOS) SMT (100 мкМ), активатор растворимой гуанилатциклазы (sGC) A350619 (1 мкМ) и её ингибитор ODQ (10 мкМ).

4-кратное увеличение концентрации ионов кальция в среде, $4 [\text{Ca}^{2+}]_o$, за 10-20 минут достоверно повышало ФД-индуцированную генерацию NO в соме нейрона, дендритах и глиальных клетках. Но уменьшение $[\text{Ca}^{2+}]_o$ вдвое не влияло на генерацию NO в этих элементах PPP при ФД воздействии. Увеличение уровня NO при повышении $[\text{Ca}^{2+}]_o$ было, вероятно, связано с повышенным притоком Ca^{2+} в клетку из внешней среды в условиях фотоповреждения плазматической мембраны. Это подтвердили опыты с Ca^{2+} -ионофором иономицином, который также существенно повышал генерацию NO в нейронах и глиальных клетках при ФД воздействии. Ионы Ca^{2+} могли проникать в клетки через ионные каналы в плазматической мембране. Действительно, неспецифический блокатор Ca^{2+} -каналов CdCl_2 и селективный блокатор Ca^{2+} -каналов L-типа

нифедипин снижали ФД-индуцированную генерацию NO в МРН и глии. Ингибитор Ca^{2+} -АТФазы эндоплазматического ретикулаума tBuBHQ, который предотвращал удаление Ca^{2+} из цитозоля, также повышал фотогенерацию NO.

Источником NO в клетках может быть не только нейрональная NO синтаза, активируемая ионами Ca^{2+} , но и индуцибельная NO синтаза. Действительно, ингибирование iNOS с помощью SMT уменьшало фотогенерацию NO. Экспрессия iNOS в клетках стимулируется фактором транскрипции NF- κ B. В наших опытах активатор NF- κ B простратин увеличивал ФД-индуцированную генерацию NO, а ингибитор партенолид – уменьшал. Это указывает на участие NF- κ B и iNOS в генерации NO при ФД воздействии. С другой стороны, NO активирует растворимую гуанилатциклазу (sGC). ODQ, ингибитор sGC, но не активатор A350619, уменьшал генерацию NO при ФД воздействии на нейроны и глиальные клетки. Это указывает на существование обратной связи между активностью sGC и генерацией NO при ФД воздействии на нейроны и глиальные клетки рака.

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. 2013. 29, 46-52.
2. Kovaleva V.D., Uzdensky A.B. Photodynamic therapy-induced nitric oxide production in neuronal and glial cells // J. Biomed. Opt. 2016, 21, 105005.

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ КОМПЛЕКСА БЕЛКОВ ПЛАСТОЦИАНИНА И ЦИТОХРОМА F В ВЫСШИХ РАСТЕНИЯХ, ЗЕЛЕННОЙ ВОДОРОСЛИ И ЦИАНОБАКТЕРИЯХ

SPECIFICITY OF PLASTOCYANIN AND CYTOCHROME F COMPLEX FORMATION IN HIGHER PLANTS, GREEN ALGA AND CYANOBACTERIA

Федоров В.А., Хрущев С.С., Устинин Д.М.¹, Коваленко И.Б., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический ф-т, кафедра биофизики, Москва, xbgth@yandex.ru

¹Федеральный исследовательский центр Институт прикладной математики им. М.В. Келдыша Российской академии наук, Россия, 125047, Москва

Белок-белковые взаимодействия при формировании короткоживущих комплексов являются основой функционирования большинства биологических систем. Компьютерное моделирование процессов, лежащих в основе формирования физиологически активного комплекса, позволяет глубже понять физические основы процессов жизнедеятельности.

В данной работе с использованием комбинированного подхода броуновской и молекулярной динамики и иерархического кластерного анализа были исследованы механизмы образования комплекса белков пластоцианина и цитохрома *f*. При описании формирования диффузионно-столкновительного комплекса методом броуновской динамики использовалась программа ProKSim [1], разработанная авторами, где белковые молекулы представляются как твердые тела. При описании трансформации диффузионно-столкновительного комплекса в финальный (физиологически активное состояние) использовался метод полноатомной молекулярной динамики с явно заданным растворителем, позволяющий учесть подвижность атомов белков и гидрофобные взаимодействия. Расчеты молекулярной динамики проводились с использованием программы Gromacs [2]. В работе рассмотрено взаимодействие пластоцианина и цитохрома *f* из высших растений (*Spinacia oleracea* и *Brassica rapa*), зеленых микроводорослей *Chlamydomonas reinhardtii* и двух видов цианобактерий (*Phormidium laminosum* и *Nostoc* sp.).

С применением предложенной модели показано, что белки пластоцианина и цитохром *f* из различных организмов по-разному достигают состояния функционально активного комплекса. Показана различная роль конформационных изменений и электростатических взаимодействий при формировании комплексов белков пластоцианина и цитохрома *f* у организмов, обладающих различными эволюционными формами фотосинтетического аппарата. В высших растениях и зеленых водорослях электростатические взаимодействия удерживают молекулу пластоцианина вблизи гема цитохрома *f*. При последующем вращении молекулы пластоцианина вокруг односторонней электростатической связи с цитохромом *f* атом меди пластоцианина приближается к гему цитохрома *f*, образуя устойчивую конфигурацию, в которой молекула цитохрома *f* не претерпевает существенных конформационных изменений. В случае цианобактерии *Nostoc*, молекулы пластоцианина и цитохрому *f* сближаются в ориентации с направленными друг к другу активными центрами (head-on ориентация), а стабилизация комплекса пластоцианина с цитохромом *f* сопровождается конформационными изменениями петли G188E189D190 цитохрома *f*. Для белков цианобактерии *P. laminosum* электростатическая предварительная ориентация молекул при сближении не была обнаружена, что указывает на то, что при образовании комплексов превалирует случайное (броуновское) движение, а не дальнедействующие электростатические взаимодействия. Мы показали, что, несмотря на структурное сходство исследуемых электрон-транспортных белков в разных фотосинтезирующих организмах, сложность

молекулярных механизмов образования комплексов возрастает в следующей последовательности: безгетероцистные цианобактерии – гетероцистные цианобактерии – зеленые водоросли – цветковые растения [3].

Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования сверхвысокопроизводительными вычислительными ресурсами МГУ имени М.В. Ломоносова. Работа поддержана грантами РФФИ № 17-04-00676, № 18-07-01219 и № 19-04-00999.

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. Abraham M. J., Murtola T., Schulz R., Páll S., Smith J. C., Hess B., Lindahl E. GROMACS : High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers // SoftwareX, 2015, Vol. 2, P. 19–25.
3. Fedorov V. A., Kovalenko I. B., Khruschev S. S., Ustinin D. M., Antal T. K., Riznichenko G. Yu., Rubin A. B. Comparative analysis of plastocyanin-cytochrome f complex formation in higher plants, green algae and cyanobacteria // Physiologia Plantarum, 2019, 166, P. 320–335.

ЧИСЛЕННОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ИНТЕРФЕРЕНЦИОННОГО СИГНАЛА ПРИ ДОПЛЕРОВСКОЙ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ ТКАНЕЙ СЕТЧАТКИ ГЛАЗА И ЗРИТЕЛЬНОГО НЕРВА

NUMERICAL SIMULATION OF THE INTERFERENCE SIGNAL OF DOPPLER OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY OF THE RETINAL TISSUE AND OPTIC NERVE

Потлов А.Ю., Фролов С.В.

Тамбовский государственный технический университет, г. Тамбов, sergej.frolov@gmail.com

Информация о состоянии внутриглазного кровотока имеет высокую диагностическую ценность, поскольку частичная или полная непроходимость глазных сосудов является первопричиной значительной части офтальмологических заболеваний. Наиболее предпочтительным вариантом подобной диагностики является быстрое бесконтактное определение основных показателей внутриглазного кровотока (как в статике, так и в динамике) применительно к конкретному сосуду, в том числе расположенному под углом сканирования близким к 90°. Подобного результата можно достичь посредством высокоэффективных доплеровских приложений [1,2] к оптической когерентной томографии (ОКТ), базирующихся на анализе сдвигов несущей частоты и фазовых сдвигов в интерференционном сигнале, а также флуктуаций спекл-структуры. Однако для разработки столь эффективных приложений важно иметь возможность моделировать влияние характеристик потока биологической жидкости на интерференционный сигнал. В связи с вышесказанным актуальным является повышение достоверности математического моделирования процесса формирования структурного ОКТ-изображения посредством учета гемодинамических особенностей исследуемого биологического объекта.

Предложенный подход к моделированию интерференционного ОКТ-сигнала включает в себя: формирование геометрической модели исследуемого биообъекта; моделирование методом статистических испытаний Монте-Карло процесса миграции фотонов в геометрической модели; постоянное варьирование характеристик участка геометрической модели, соответствующего внутрисосудистому пространству; формирование рядов пикселей, соответствующих А-сканам; группировку А-сканов в искомый В-скан.

В качестве источника сведений о геометрии исследуемого биообъекта используется эскиз (результат медицинской визуализации внутриглазных структур посредством офтальмоскопии или ОКТ, фотоснимок хирургического разреза и т.п.) его строения, этот эскиз в дальнейшем подвергается изогелии, ручной идентификации оставшихся после изогелии структур, их кодированию и присвоению им табличных оптических свойств. Моделирование миграции фотонов производится классическим образом. При запуске фотона определяются его начальное положение и направления движения. Расчет длины свободного пробега между точками взаимодействия со средой осуществляется на основе коэффициента рассеяния. Поглощение энергии вычисляется на основе закона Бугера-Ламберта-Бера. Рассеяние характеризует изменение направления движения фотона в точках взаимодействия и рассчитывается на основе фазовой функции Хени-Гринштейна и полярного угла. Если показатели преломления текущего участка моделируемого объекта и участка, в который переходит пакет фотонов различные, то вероятность пересечения границы определяется с помощью формулы Френеля. Оптические свойства [3] участка геометрической модели, соответствующий просвету кровеносного сосуда постоянно варьируются таким образом, чтобы имитировать флуктуации эритроцитов или их агрегаций в плазме крови. Причем скорость этих флуктуации в различных подучастках сосудистого русла подбирается

таким образом, чтобы соответствовать желаемой форме профиля скорости потока. Если поток ламинарный (параболический профиль), то скорость флуктуаций снижается от центра сосуда к стенкам, если имеются локальные нарушения ламинарного течения или турбулентность, то скорости флуктуаций формируют пробкообразные профили различной геометрии. В ситуации, когда пучок фотонов выходит из исследуемой среды внутри области расположения датчика его статистический вес прибавляется к интенсивности ряда пикселей текущего А-скана [4]. После завершения процесса моделирования всех А-сканов они группируются в В-скан.

Флуктуации оптических свойств внутрисосудистого пространства в процессе движения фотонов сквозь этот участок приводят к особенностям в траекториях движения фотонов отдельных А-сканов. Эти особенности выражаются в иной геометрии спекл-шумов во внутрисосудистом пространстве и накоплении фазового сдвига между А-сканами, что в целом соответствует особенностями реального интерференционного сигнала из области внутрисосудистого пространства в физических экспериментах с ОКТ-системами [1,2].

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (РФФИ), проект № 18-01-00786 А.

1. Wang R. K., An L. Doppler optical micro-angiography for volumetric imaging of vascular per-fusion in vivo // Optics Express. 2009. Vol. 17. Is. 11. P. 8926–8940.
2. Proskurin S.G., Potlov A.Yu., Frolov S.V. One specific velocity color mapping using optical coherence tomography // Journal of Biomedical Optics. 2015. Vol. 20. Is. 5. No. 051034.
3. Bashkatov A.N., Genina E.A., Tuchin V.V. Optical properties of skin, subcutaneous, and muscle tissues // Journal of Innovative Optical Health Sciences. 2011. Vol. 4. P. 9–38.
4. Frolov S.V., Potlov A.Yu., Petrov D.A., Proskurin S.G. Modelling of a structural image of a biological object obtained by means of optical coherent tomography using the Monte-Carlo Method based on the voxel geometry of a medium // Quantum Electronics. 2017. Vol. 47. Is. 4. P. 347–354.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПУЛА ПОЛИФОСФАТОВ В ПРОЦЕССЕ РОСТА *CHLORELLA VULGARIS*

PHOSPHATE POOLS DYNAMICS DURING THE GROWTH OF *CHLORELLA VULGARIS*: MATHEMATICAL MODEL

Фурсова П.В., Плюснина Т.Ю., Хрущев С.С., Соловченко А. Е.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, fursova@biophys.msu.ru

Одним из важнейших элементов, необходимых для существования живых организмов является фосфор. Клетки микроводорослей способны накапливать фосфор в виде полифосфатов, которые выполняют в клетке многочисленные функции, в частности, участвуют в энергетическом обмене.

Способность микроводорослей накапливать фосфаты может быть использована для решения комплексной биотехнологической задачи. На первом этапе происходит очистка сточных вод от фосфатов. На втором этапе клетки, обогащенные фосфатами, служат эффективным удобрением для выращивания злаковых культур. Понимание механизмов регуляции и возможность управления процессами накопления полифосфатов могут быть использованы для разработки оптимальных технологических режимов.

В работе предложена гибридная модель поглощения фосфатов из среды клетками *Chlorella vulgaris* в условиях избытка и недостатка фосфора. Модель связывает разные физиологические уровни клеточных процессов и состоит из двух соответствующих блоков. Первый блок представляет собой систему 5-ти дифференциальных уравнений, описывающих поглощение фосфора из среды, включение неорганического фосфата в биомолекулы, формирование и рост пула полифосфатов, а также увеличение биомассы в процессе роста культуры. Изменение внутриклеточных концентраций соединений фосфора определяется с учетом концепции клеточной квоты, а именно, минимальной квоты по содержанию фосфора в неорганическом виде и максимальной в виде биомакромолекул. Для параметризации модели были использованы экспериментальные данные по росту культуры *Chlorella vulgaris*. Модель позволила выделить стадию роста культуры, на которой происходит максимальное накопление полифосфатов.

Второй блок модели построен на основе балансовых (поточковых) уравнений, описывающих центральные метаболические пути, электротранспортные цепи дыхания и фотосинтеза. В схеме реакций учтены затраты и синтез АТФ, а также вовлечение и высвобождение неорганического фосфора. Стационарные скорости потоков метаболитов рассчитывали, решая задачу линейного программирования. В качестве ограничений модели использовали соотношения потоков синтеза полифосфатов и перехода фосфора в органическую форму, полученные из дифференциальных уравнений первого блока модели. Решение балансовых уравнений показало перераспределение потоков центрального метаболизма клетки при изменении доступности неорганического фосфора.

ПРОБЛЕМА МАЛЫХ ДОЗ В СТРАТЕГИИ «ПОЛЕЗНОЕ СОЛНЦЕ» ДЛЯ ЖИВЫХ СИСТЕМ И ФОТОБИОМОДУЛЯЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ КАК КЛЮЧЕВОЙ МИШЕНИ
THE PROBLEM OF LOW DOSES IN THE STRATEGY "USEFUL SUN" FOR LIVING SYSTEMS AND PHOTOBIO-MODULATION OF MICROORGANISMS AS A KEY TARGET

Храмов Р.Н.¹ Креславский В.Д.²

¹ Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушино, khramov30@mail.ru

² Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пушино, Московская обл.

Стратегия «полезное солнце» основана на применении светопреобразующих материалов, содержащих фотолюминофоры, которые поглощают коротковолновое излучение солнца и переизлучают его в биостимулирующий или фотобиомодулирующий свет в красной области спектра (стратегия «полезного солнца», «useful sun»). Для фотобиомодуляции растений был впервые использован, разработанный нами, укрывной нетканый материал спанбонд на основе полипропилена с плотностью 30г/м², с введенным в него фотолюминофором на основе оксисульфида иттрия легированного европием в концентрации 1,6%. Было проведено сравнительное изучение функционирования фотосинтетического аппарата и скорости ростовых процессов растений поздней капусты и листового салата. Так, через 28 дней выращивания обнаружено повышение скорости поглощения углекислоты у капусты и салата на 30-40% и биомассы на 30-50% по сравнению по сравнению с контролем, при использовании обычного спанбонда. Также обнаружено уменьшение транспирации воды. Однако эффективность первичных фотохимических процессов фотосинтеза возрастала в меньшей степени. Проведенная нами экспериментальная оценка показала, что доля преобразованного красного света составляет около 0.036 Вт/м², что составляет достаточно малую величину около 10⁻⁴ от фотоактивной радиации солнечного света в области люминесцентного излучения. Анализ возможных механизмов действия (за счет фитохрома, изменения доли рассеянного света, фотобиомодуляции активности микробиоты почвы) дает веские основания считать, что наиболее значимый механизм стимуляции развития растений происходит за счет фотобиомодуляции микроорганизмов почвы, которая может приводить к увеличению в разы активности почвенной микрофлоры. То, что микроорганизмы крайне чувствительны к изменению спектрального состава излучения света показывают работы, сделанные в г. Томске в области технологии очистки почв от нефтезагрязнений с применением светокорректирующих люминесцентных пленок в качестве укрывного материала загрязненной почвы. Незначительное увеличение красной (600-640нм) спектральной составляющей преобразованного солнечного света светокорректирующих люминесцентных, прошедшего через полиэтиленовую пленку приводит к 15-30 кратному увеличению численности всех исследованных групп микроорганизмов почвы, при этом деградация нефти в почве протекает в 2-3 раза быстрее. Что касается эффективных доз воздействия на микробиоту, то учеными из Троицка показано, что можно наблюдать стимуляцию деления в 2,2 раза клеток *E. Coli* при облучении их лазером с длиной волны 632нм уже при достаточно низких дозах с 50 Дж/м² и выше. И эти дозы вполне сопоставимо с величиной люминесцентной компоненты преобразованного солнечного света в экспериментах с растениями. На примере бактерий *Lactobacillus plantarum* TWK10 (LP) можно продемонстрировать их значимость для животных и человека. Цикл исследований с применением эффективных для человека пищевых добавок, выполненных в лаборатории Тайваньского университета спорта за 2014-2019г показал следующее. Прием с пищей LP привел к увеличению предельного времени плавания мышшей в нагрузочном тесте с грузиком в 4,81 раза, что почти в три раза превосходит действие куркумина, фукоидана и экстракта цыпленка. Проведенные этой же группой ученых эксперименты на здоровых мужчинах (20-40 лет) с приемом лактобактерий в течении 6 недель показали прирост в 1,58 раз предельного времени выполнения эргометрической нагрузки с потреблением кислорода уровне 85% от максимального. В дальнейших исследованиях, выполненных на спортсменах, было установлено, что LP могут быть потенциальным эргогенным средством для физиологической адаптации к тренировкам и укрепление здоровья триатлетов. Фотобиомодуляция или фотостимуляция микробиоты кишечника были исследованы при дисбиозе человека с помощью уникальной методики лечения с помощью оригинальной фотонной таблетки (<http://www.duny.ru>). В клинических исследованиях было установлен прирост общего количества кишечной палочки (от 20 млн/г до 300 млн/г, p<0,05, рост в 15 раз), лактобактерий (от 100/г до 10млн.г p<0,0,5, рост в 100000 раз), что свидетельствует в пользу повышения колонизационных способностей сапрофитов. Насколько реально фотостимулировать в этом диапазоне малых доз микробиоту толстого кишечника человека через брюшную стенку, которая составляет от 1 см до нескольких см? Наши эксперименты с красным светодиодным излучателем (10 Вт, -пик 635 нм) показали, что интенсивность света снижается до 1 Вт/м² на толщине мышечной ткани человека около 1 см *in vivo*. Поэтому, эффективная доза в 50 Дж/м² будет достижима за 50 сек, но для более глубоких тканей потребуются часы. Таким образом, во многих случаях ключевой мишенью для света при фотобиомодуляции живых систем можно рассматривать микроорганизмы и их взаимодействие с живыми системами (от растений до человека), что может обеспечивать наблюдаемые полезные эффекты света от солнца или от искусственных источников.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (проект № 18-29-17073).

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА РАСТЕНИЙ И МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ПО ПАРАМЕТРАМ ФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА *a* С ПОМОЩЬЮ НЕЙРОСЕТЕВОЙ МОДЕЛИ

NEURAL NETWORK MODEL HELPS TO ASSESS PHOTOSYNTHETIC ACTIVITY OF PLANTS AND MICROALGAE FROM CHLOROPHYLL *a* FLUORESCENCE INDUCTION DATA

Хрущев С.С., Плюснина Т.Ю., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,
биологический факультет, кафедра биофизики, styx@biophys.msu.ru

Для оценки активности первичных процессов фотосинтеза широко используются методы, основанные на анализе параметров флуоресценции хлорофилла *a*. Изменение интенсивности флуоресценции при освещении адаптированного к темноте объекта представляет собой сложную многофазную кривую, быстро достигающую максимума, за которым следует медленное снижение интенсивности. Современное флуорометрическое оборудование позволяет регистрировать кривые индукции флуоресценции с временным разрешением порядка единиц микросекунд. Общепринято, что отдельные фазы нарастающего участка индукционной кривой соответствуют различным стадиям переноса электрона в электрон-транспортной цепи, однако взаимное соответствие конкретных фаз и процессов все еще обсуждается. Для зеленых водорослей и высших растений кинетика быстрого нарастания флуоресценции обычно описывается как трехступенчатая (O-J-I-P), однако применение разностного метода позволило выявить гораздо большее число временных зон («полос») O-L-K-J-I-N-G-P [1], изменения в которых характерны для условий недостатка минерального питания и действия других стрессовых факторов.

Для корректного сопоставления отдельных фаз индукционной кривой конкретным физическим процессам необходимо количественное описание переходного процесса в терминах характерных времен и амплитуд фаз. Представление о фотосистеме как огромном комплексе, содержащем несколько окислительно-восстановительных центров, формирующих цепь переноса электрона, подразумевает, что фазы, соответствующие отдельным процессам (или группам процессов), происходящим в фотосистеме 2, следует рассматривать как экспоненциальные функции. Характерные времена экспонент, соответствующих различным процессам, могут быть довольно близки друг к другу, и они изменяются в зависимости от температуры, интенсивности света и физиологического состояния организма, что делает однозначное определение числовых параметров по экспериментальным данным сложной задачей. Чтобы справиться с этой неоднозначностью, мы предлагаем проводить совместный анализ больших наборов кривых индукции флуоресценции, зарегистрированных при постепенном изменении внешних условий или в процессе адаптации фотосинтетического аппарата к изменившимся условиям. Для получения таких наборов данных могут использоваться автоматизированные флуорометры, производящие измерения через заданный промежуток времени [2]. Мы полагаем, что постепенное изменение формы индукционных кривых в эксперименте обусловлено соответствующим изменением параметров фотосинтетического аппарата. Нами предложена архитектура нейросетевой модели со спонтанным обучением, позволяющая выявить параметры минимального набора экспоненциальных функций, сумма которых хорошо аппроксимирует полученные в эксперименте индукционные кривые. Данная модель была использована для обработки экспериментальных данных, полученных при выращивании микроводорослей в фотобиореакторе [2, 3]. Было показано, что L-полосе (см. [1]) соответствует экспоненциальный компонент с характерным временем около 50–100 мкс. Вклад этого компонента в нарастание флуоресценции в нормальных условиях отрицателен (и проявляется в «сигмоидности» начального участка индукционной кривой, которую обычно связывают с миграцией энергии между реакционными центрами фотосистемы 2). В стрессовых условиях (например, при дефиците азота или серы в среде, высокой освещенности и т. д.) амплитуда этого компонента меняет знак и приводит к появлению дополнительной фазы индукции флуоресценции, которую принято связывать с дисбалансом скорости разделения зарядов в реакционном центре фотосистемы 2 и скорости восстановления пигмента реакционного центра P680 кислород-выделяющим комплексом. Полученные результаты позволяют предположить, что оба наблюдаемых явления имеют единую физическую природу, и уменьшения «связности» реакционных центров фотосистемы 2 может быть одной из причин появления дисбаланса скоростей окисления и восстановления P680.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ, проект №17-04-00676.

1. Strasser R.J. et al. biophysical phenomics reveals functional building blocks of plants systems biology: a case study for the evaluation of the impact of mycorrhization with *Piriformospora indica* / *Advanced Techniques in Soil Microbiology*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007, pp. 319–341.
2. Antal T. et al. Chlorophyll fluorescence induction and relaxation system for the continuous monitoring of photosynthetic capacity in photobioreactors. // *Physiologia Plantarum*, 165(3):476–486, 2019.
3. Плюснина Т.Ю. и др. Мониторинг фотосинтетической активности культуры микроводорослей *Chlorella* при истощении азота в среде. // *Биофизика*, 64(3):468–477, 2019.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДОМ ФЕМТОСЕКУНДНОГО ФЛЕШ-ФОТОЛИЗА СПЕКТРАЛЬНО-КИНЕТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК НИЗКОЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ВОЗБУЖДЁННЫХ ЭЛЕКТРОННЫХ СОСТОЯНИЙ В ОКСИГЕМОГЛОБИНЕ

FEMTOSECOND FLASH-PHOTOLYSIS STUDY OF SPECTRAL-KINETIC PROPERTIES OF EXCITED LOW ENERGY ELECTRONIC STATES IN OXYHEMOGLOBIN

Чайковский А.Ф., Буганов О.В., Лепешкевич С.В., Тихомиров С.А., Джагаров Б.М.

Институт физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси, пр. Независимости, 68, 220072 Минск, Беларусь
arthur.chaykovski@gmail.com

Для оксигемоглобина (HbO_2), как и для многих гембелков, характерно наличие обширной системы низкоэнергетических уровней, расположенных ниже триплетного $\pi\pi^*$ -состояния. Эти уровни соответствуют возбуждённым состояниям перенос-зарядовой (CT) природы. Из литературы для оксигемоглобина достоверно известно о четырёх таких уровнях. Ранее в нашей работе [1] методом наносекундной лазерной спектроскопии было проведено исследование третьего возбуждённого CT-состояния. Вместе с четвёртым оно образует слабоинтенсивную полосу, расположенную в ближней ИК-области ($\lambda_{\text{макс}}=925$ нм) и соответствующую переносам электрона с порфириновых π -орбиталей на смешанную орбиталь, образованную из d -орбитали железа и свободной π -орбитали молекулярного кислорода. Было установлено, что при возбуждении в эту полосу ($\lambda_{\text{возб}}=1064$ нм) фотодиссоциация не наблюдается. При этом первичный квантовый выход фотодиссоциации можно оценить как $\gamma_0 \leq 0.7$ %.

Цель нынешней работы заключалась в установлении спектрально-кинетических характеристик энергетически наиболее высоколежащего возбуждённого состояния CT-природы (${}^{1,3}CT_{\pi d}$).

Флеш-фотолитические измерения проводились на установке лазерной кинетической абсорбционной спектроскопии. Для измерения нестационарных спектров поглощения использовался фемтосекундный абсорбционный спектрометр, в основе которого лежит генератор фемтосекундных импульсов на Ti:Sp, синхронно накачиваемый импульсным лазером на Nd:YAG. В работе использовались длины волн возбуждения 780 и 390 нм. Длительность импульсов на полувысоте была порядка 150 фс. В качестве источника зондирующего света использовался фемтосекундный суперконтинуум, генерируемый после прохождения пучком регулируемой линии задержки.

В работе исследовались растворы оксигемоглобин человека двух различных концентраций: 2.0 мМ ($\lambda_{\text{возб}}=780$ нм) и 30 мкМ ($\lambda_{\text{возб}}=390$ нм). Все измерения проводились при комнатной температуре $21 \pm 1^\circ\text{C}$ с использованием 50 мМ Tris-HCl буфера pH 8.3. Для каждого лазерного импульса спектры прошедшего через образец зондирующего излучения регистрировались CCD-матрицей, сопряженной с компьютером.

Фотодиссоциация HbO_2 при возбуждении на длине волны 390 нм хорошо изучена, и в спектральной области 417–456 нм наблюдался нестационарный спектр, аналогичный полученному в работе [2]. Этот спектр эволюционировал за время ~ 300 фс и сменялся другим, соответствующим спектру Hb в нагретом состоянии. Несмотря на то что для оксигемоглобина не удаётся установить положение триплетного ${}^3\pi\pi^*$ -состояния, по аналогии с другими металлопорфиринами оно находится в области ~ 14000 cm^{-1} , и именно в нём, мы полагаем, происходит фотодиссоциация. Подробная схема фотоиндуцированной диссоциации HbO_2 с обоснованием происходящих при этом процессов внутригемового размена энергии была приведена нами в работе [1]. Таким образом, состоянием с временем жизни ~ 300 фс является фотодиссоциирующее триплетное ${}^3\pi\pi^*$ -состояние, в которое HbO_2 попадает из синглетного ${}^1\pi\pi^*$ -состояния в результате интеркомбинационной конверсии.

При $\lambda_{\text{возб}}=780$ нм молекуле HbO_2 передавалась энергия 12800 cm^{-1} , которая меньше энергии триплетного уровня, однако достаточна для заселения ${}^{1,3}CT_{\pi d}$ -состояния. После этого в области 620–666 нм наблюдался нестационарный спектр наведенного поглощения. С помощью сингулярного разложения удалось установить наличие двух компонент в этом разностном спектре, однако, с учётом необходимости проведения деконволюции кинетики этого спектра и импульса возбуждения, достоверно удалось определить длительность только короткой компоненты, которая составляет 380 фс. Спектр данной короткой компоненты был измерен впервые. Мы полагаем, что этот разностный спектр соответствует поглощению в ${}^{1,3}CT_{\pi d}$ -состоянии. Однако, стоит отметить, что в работе нам не удалось установить вклад в процентном отношении эффекта двухфотонного поглощения (390 нм), поэтому невозможно однозначно утверждать, что здесь не наблюдается вклада спектра оксигемоглобина в триплетном состоянии или спектра дезоксигемоглобина. Тем не менее, с учётом большой оптической плотности в области двухфотонного поглощения мы склонны считать, что при возбуждении на длине волны 780 нм фотодиссоциация не происходит.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (№ Ф19МС-009).

1. Джагаров Б.М. и др. Фотоиндуцированный разрыв связи Fe–O₂ в гемоглобине: квантовый выход диссоциации, возбуждённые электронные состояния и релаксационные безызлучательные процессы // Оптика и спектроскопия, 2018. Том 125. Номер 1. Стр. 121-125.
2. Petrich J.W. et al. Photophysics and reactivity of heme proteins: a femtosecond absorption study of hemoglobin, myoglobin, and protoheme // Biochemistry, 1988. Vol. 27. P. 4049-4060.

**ПРОЦЕССЫ ТЕПЛОВОЙ ДИССИПАЦИИ ПОГЛОЩЕННОЙ ЭНЕРГИИ СВЕТА В КЛЕТКАХ
КАРОТИНОГЕННОЙ ВОДОРОСЛИ НАЕМАТОКОЦКУС LACUSTRIS (CHLOROPHYCEAE)****THE PROCESSES OF HEAT DISSIPATION OF THE ABSORBED LIGHT ENERGY IN THE
CAROTENOGENIC CHLOROPHYTE НАЕМАТОКОЦКУС PLUVIALIS (CHLOROPHYCEAE)*****Чеканов К., Соловченко А.***МГУ имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра биоинженерии chekanov@mail.bio.msu.ru

Зеленая одноклеточная водоросль *Haematococcus lacustris* (Chlorophyceae, Volvocales) является продуцентом каротиноида астаксантина, имеющего большое практическое значение. В ряде стран мира она культивируется в промышленных масштабах для получения этого пигмента. Накопление астаксантина индуцируется различными стрессовыми факторами или их сочетанием (яркий свет, дефицит минерального питания и т.д.). По современным представлениям синтез каротиноида является защитной программой клетки, запускаемой в хлоропласте наряду с прочими протекторными механизмами [1].

Нефотохимическое тушение возбужденных состояний хлорофилла является одним из основных защитных механизмов фотосинтезирующей клетки. Его смысл заключается в рассеивании в виде тепла той доли поглощенной световой энергии, которую клетка не может утилизировать [2]. Одной из мер оценки интенсивности протекания процессов нефотохимического тушения является параметр NPQ Штерна-Фольмера [2]. Ранее установлено, что параметр NPQ снижается при продувании культуры *H. lacustris* газо-воздушной смесью с повышенным содержанием CO₂ [3]. То есть, снижается интенсивность процессов регулируемой диссипации. Известно, что при действии яркого света кинетика NPQ имеет двухфазный характер. Сначала наблюдается монотонный рост параметра, а потом – его значения падают до нуля, то есть при длительном воздействии стрессовых факторов защита клетки осуществляется при помощи механизмов, отличных от нефотохимического тушения [3,4].

В настоящей работе изучали эффективность фотохимической утилизации в реакционных центрах фотосистем в зависимости от интенсивности действующего на клетки *H. lacustris* света. Исследования проводили путем анализа кинетики индукции флуоресценции хлорофилла а и пропускания света в ИК-области спектра. В целом, на ранних этапах стрессового воздействия клетки *H. lacustris* характеризовались более высокими значениями NPQ и более медленной темновой релаксацией данного параметра. Добавление нигерицина, снижающего трансмембранный протонный градиент тилакоидных мембран, приводило к снижению параметра NPQ, однако у клеток в состоянии стресса этот эффект был выражен меньше. Для более детального анализа возможных механизмов регулируемого нефотохимического тушения использовали данные дифференциальной транскриптомики. Определено, что на начальных этапах действия стрессовых факторов высокие значения NPQ поддерживались преимущественно за счет экспрессии белков PsbS и LhcsR. Затем стрессоустойчивость достигается за счет оптического экранирования астаксантином и редукции фотосинтетического аппарата. По-видимому, редукция фотосинтетического аппарата играет ключевую роль для выживания *H. lacustris* при сильном стрессовом воздействии [5]. В отличие от многих микроводорослей, важную роль в клетках *H. lacustris*, играет экранирование, тогда как регулируемое нефотохимическое тушение подавляется. Суть экранирования заключается в том, что астаксантин не связан с фотосинтетическим аппаратом, следовательно, поглощенная им энергия света не передается на реакционные центры, рассеивается в виде тепла. Это позволяет *H. lacustris* какое-то время поддерживать фотосинтетическую активность в условиях стресса и быстро переходить в метаболически активное состояние при возвращении в условия, благоприятные для роста. Способность *H. lacustris* заменять «классические» активные фотозащитные механизмы, такие как регулируемая тепловая диссипация, оптическим экранированием и замедлением метаболизма, делает этот организм интересной моделью для изучения механизмов защиты фотосинтезирующей клетки от неблагоприятных факторов внешней среды.

[1] Boussiba, S. Carotenogenesis in the green alga *Haematococcus pluvialis*: cellular physiology and stress response// *Physiologia Plantarum*, 2000, 108, 2, 111-117.

[2] Lazár, D. Parameters of photosynthetic energy partitioning. *Journal of plant physiology*//2015, 175, 131-147.

[3] Chekanov, K., Schastnaya, E., Solovchenko, A., Lobakova, E. Effects of CO₂ enrichment on primary photochemistry, growth and astaxanthin accumulation in the chlorophyte *Haematococcus pluvialis*// *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2017,171, 58-66.

[4] Chekanov, K., Lukyanov, A., Boussiba, S., Aflalo, C., Solovchenko, A. Modulation of photosynthetic activity and photoprotection in *Haematococcus pluvialis* cells during their conversion into haematocysts and back// *Photosynthesis research*, 2015, 128, 3, 313-323.

[5] Chekanov, K., Vasilieva, S., Solovchenko, A., Lobakova, E. Reduction of photosynthetic apparatus plays a key role in survival of the microalga *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae) at freezing temperatures// *Photosynthetica*, 2018, 56, 4, 1268-1277.

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ ЗАКОНЫ ФОТОБИОЛОГИИ

POWER LAWS OF PHOTOBIOLOGY

Чукова Ю.П.

Краснопресненский региональный фонд охраны природы и здоровья населения
Москва, Россия, y.chukova2015@yandex.ru; y.chukova@mtu-net.ru

Активно развивавшаяся в XX веке фотобиология представляла собой несколько разделов, никак не связанных между собой (зрение позвоночных, фотосинтез растений и водорослей, фотодвижение простейших организмов и др.) поскольку сильно различались структуры, в которых протекали процессы. Развитие квантовой термодинамики необратимых изотермических процессов во второй половине XX века позволило поставить все известные процессы фотобиологии на один общий энергетический фундамент [1]. При термодинамическом рассмотрении вся шкала электромагнитных волн распадается на две части: длинноволновое излучение (область Рэлея-Джинса) и коротковолновое излучение (область Вина). Видимое излучение, которое является источником всех процессов, изучаемых фотобиологией, относится к области Вина. КПД преобразования энергии электромагнитного излучения в свободную энергию Гельмгольца в этих двух областях существенно различны. В настоящее время они могут быть рассчитаны численно для обратимых процессов (термодинамический предел), реальных процессов с линейной необратимостью и с нелинейной необратимостью.

Для обратимых процессов и реальных процессов с линейной необратимостью КПД с ростом воздействия на систему растёт, подчиняясь закону Вебера-Фехнера. Такая зависимость давно получена в эксперименте для зрения человека и других позвоночных. При максимальной солнечной освещённости КПД показывает спад из-за влияния нелинейной необратимости протекающих в системе процессов. При интенсивностях максимума КПД протекают процессы фотосинтеза растений и водорослей. Процессы фотодвижения простейших (фототаксисы, фоботаксисы и фотокинезы) могут протекать при изменении интенсивности воздействия на порядки величины, поэтому в них отчётливо выражены и рост КПД и его максимум и его спад. Экспериментальная проверка законов термодинамики проводилась на солнечных батареях, что помогло дать физическую интерпретацию многих фотобиологических явлений. Так, например, отрицательный фототаксис – это поведенческая реакция простейших организмов на падение КПД: они любят высокие КПД и уходят из области высоких освещённостей и падающего КПД в область максимального КПД при более низкой освещённости.

Среди широкого круга фотобиологических процессов лучше всего изучено зрение человека и других позвоночных. Несмотря на это, здесь имеется целый ряд неясностей:

- почему существует эффект Пуркине?

- почему глаз человека имеет нулевую чувствительность в ИК области, на которую приходится максимум излучения Солнца ?

- почему кривая видности глаза человека расположена не в максимуме спектральной плотности излучения Солнца как функции частоты, а на коротковолновом крыле? Термодинамическая теория позволила выявить общую единую причину всех этих явлений, понять причины существования сдвига Пуркине, объяснить нулевую чувствительность глаза человека в ИК области [2], низкие значения КПД фотосинтеза растений, положительный и отрицательный фототаксис, фоботаксис и фотокинез простейших и их самые сложные зависимости от освещения [3], пороговый характер летального действия ультрафиолета и явления гормезиса при воздействии гамма-излучения на живые организмы

Разные живые системы приспособили своё существование, ориентируясь на разные участки функциональной зависимости КПД преобразования энергии электромагнитного излучения в свободную энергию Гельмгольца. Фотосинтез протекает только в условиях максимума этой кривой. Именно этим объясняются неудачи попыток селекционеров разных стран радикально увеличить урожайность, а крупнейшие биофизики мира констатируют отсутствие сдвигов максимальной урожайности риса за последние 30 лет и утверждают, что в производстве биомассы зафиксирован выход на плато, и «этому нет простого объяснения» [4]. Энергетические законы фотобиологии дают этим фактам достаточно простое и универсальное объяснение.

Автор выражает благодарность Фонду Джона Д. и Кэтрин Т. МакАртуров за грантовую поддержку работы.

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

2. Чукова Ю.П. О спектральной чувствительности глаза человека, ДАН ССР, 1988, т.300, №2, с.504 -507

3. Чукова Ю.П. Эффекты слабых воздействий. Термодинамический, экспериментальный (биологический и медицинский), социальный, законодательный, международный и философский аспекты проблемы. М. Алес, 2002, - 428 с

4. Гусев М.В., Никитина А.А. Цианобактерии (Физиология и метаболизм). М.Наука.1979,- 228 с.

МОНИТОРИНГ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ВЯЗКОСТИ ПОСЛЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИМОДАЛЬНЫХ ПОРФИРАЗИНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ

MONITORING OF INTRACELL VISCOSITY AFTER PHOTODYNAMIC TREATMENT WITH THE USE OF BIMODAL PORPHYRAZINE DYES

Шилягина Н.Ю.¹, Сороко С.С.¹, Шестакова Л.Н.¹, Костюк А.Б.¹, Плеханов В.И.², Лермонтова С.А.^{1,3}, Клапшина Л.Г.³, Балалаева И.В.¹

¹Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород

²Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород

³Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, Нижний Новгород

Внутриклеточная вязкость – один из важнейших показателей цитоплазмы и других жидких фаз клетки, от которого зависит протекание различного рода физико-химических процессов [1]. Известно, что вязкостные свойства внутриклеточной среды существенно изменяются в процессе фотоиндуцированной смерти клеток. Ранее нами было показано, что тетра(4-фторфенил)тетрацианопорфиразин (Pz) одновременно является фотодинамическим агентом и молекулярным ротором [2]. Отличительная черта молекулярных роторов – сильная зависимость времени жизни флуоресценции от вязкости среды, связанная с индуцированным светом внутримолекулярным вращением или скручиванием. Такое сочетание свойств, обнаруженное у Pz, потенциально дает возможность оценивать изменения внутриклеточной вязкости в процессе фотодинамической терапии и, тем самым, контролировать её эффективность.

Цель данной работы – мониторинг внутриклеточной вязкости после фотодинамического воздействия с использованием тетра(4-фторфенил)тетрацианопорфиразина в экспериментах *in vitro* и *in vivo*.

Эксперименты *in vitro* были проведены на клетках эпидермоидной карциномы кожи человека A431. Время-разрешенный имиджинг проводили на системе лазерной сканирующей микроскопии Axio Observer Z1 LSM 710 NLO/Duo (Carl Zeiss, Германия) с модулем FLIM (Becker & Hickl, Германия). Исследование времени жизни возбужденного состояния Pz проводили при двухфотонном возбуждении λ_{ex} 800 нм, λ_{em} 640-710 нм. Фотодинамическому воздействию (594 нм, 5-50 Дж/см²) подвергали только половину поля зрения микроскопа, необлученную половину использовали в качестве контроля. Эксперимент *in vivo* проводили на мышах линии Balb/c. Животным подкожно прививали карциному толстого кишечника мыши СТ-26 в левую заднюю лапу. Эксперимент начинали, когда размер опухолевого узла достигал ~ 30 мм³. Через 3 часа после введения Pz (в/в, 15 мг/кг) осуществляли световое воздействие на опухоль в дозе 150 Дж/см². Измерения времени жизни флуоресценции Pz проводили с помощью установки для время-коррелированного счета одиночных фотонов. Время жизни флуоресценции Pz оценивалось в опухоли и нормальной ткани (участок мышечной ткани на противоположной лапе) неинвазивно в режиме реального времени. Для пересчета времени жизни флуоресценции Pz в значения локальной вязкости предварительно проводили серию измерений на спиртоглицериновых растворах с заданной вязкостью.

В экспериментах *in vitro* и *in vivo* нами было показано, что после фотодинамического воздействия с Pz в облученной области происходит увеличение времени жизни флуоресценции в 1,5-2 раза и, соответственно, увеличение вязкости в 2-4 раза. Изменения времени жизни флуоресценции Pz в клетках носят дозозависимый характер – в случае сильного фотодинамического воздействия (25-50 Дж/см²) ответ регистрируется через 5 минут после облучения. При более слабых воздействиях (5-10 Дж/см²) скорость развития изменений становится существенно ниже – видимые отличия между облученной и необлученной областями появляются только через час после воздействия. В эксперименте *in vivo* нами также было зарегистрировано увеличение времени жизни флуоресценции Pz в опухолевой ткани сразу после проведения фотодинамического воздействия, при этом в нормальной ткани таких изменений не наблюдалось. В целом, для Pz показана высокая фотодинамическая активность *in vivo*, которая отражается в увеличении продолжительности жизни животных-опухоленосителей и в биологически значимом торможении опухолевого роста.

Таким образом, нами было показано, что с помощью регистрации времени жизни флуоресценции Pz можно оценивать изменения локального микроокружения Pz («кажущейся вязкости»), по изменению которого можно судить о жизнеспособности клеток и, следовательно, об эффективности фотодинамической терапии в режиме реального времени.

Работа выполнена в рамках Госзадания №6.3099.2017/ПЧ и РНФ 18-73-00194.

1. Пучков Е. О. Внутриклеточная вязкость: методы измерения и роль в метаболизме // Биологические мембраны, 2014. Т. 31, № 1. С. 3-13
2. Izquierdo M. Angeles, Vyšniauskas Aurimas, Lermontova S.A., Grigoryev I.S., Shilyagina N.Y., Balalaeva I.V., Klapshina L.G., Kuimova M.K. Dual use of porphyrazines as sensitizers and viscosity markers during photodynamic therapy // Journal of Materials Chemistry B. 2015, №3. P.1089–1096

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОММОХРОМОВ ГЛАЗА НАСЕКОМЫХ. ФЛЮОРЕСЦЕНЦИЯ, СВОБОДНО РАДИКАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА, АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ

COMPARATIVE STUDY OF THE INSECTS EYE OMMOCHROMES. FLUORESCENCE, FREE RADICAL PROPERTIES, ANTIOXIDANT ACTIVITY

Яковлева М.А.¹, Фельдман Т.Б.¹, Ушакова Н.А.², Сакина Н.Л.¹, Островский М.А.¹, Бастратов А.И.², Донцов А.Е.¹

1 – ФГБУН Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля РАН, e-mail: adontsovnick@yahoo.com

2 – ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции имени А.Н. Северцова РАН, e-mail: naushakova@gmail.com

Пигменты оммохромы имеют важное значение в нормальном функционировании структур глаза беспозвоночных животных. Известно, что оммохромы проявляют антиоксидантную активность в отношении окислительных процессов в структурах глаза, инициированных различными прооксидантами [1, 2]. Цель настоящей работы – скрининг оммохромы глаза различных насекомых в отношении антиоксидантной и фотозащитной активности.

Оммохромы были изолированы из глаз следующих насекомых: отряд Чашуекрылые (Lepidoptera), семейство Бражники, бражник табачный (*Manduca sexta*); отряд Прямокрылые (Orthoptera), семейство Саранчевые, пустынная саранча (*Schistocerca gregaria*), отряд двукрылые (Diptera), семейство львинки, черная львинка (*Hermetia illucens*); отряд Тараканы (Blattoidea), семейство блаберид, мраморный таракан (*Nauphoeta cinerea*). Хроматографический анализ экстрактов оммохромы и разделение пигментов проведено методом ВЭЖХ. Исследованы физико-химические характеристики всех полученных образцов (абсорбционная и флуоресцентная спектроскопия, ЭПР спектрометрия).

Показано, что оммохромы, изолированные из всех перечисленных насекомых, проявляют выраженную флуоресценцию с максимумами эмиссии в области 450-460 нм и 520-540 нм, причем амплитуда коротковолнового максимума значительно возрастает при окислении оммохромы пероксидом водорода. Установлено, что оммохромы имеют стабильный сигнал ЭПР, представляющий собой синглетную линию с величиной $g = 2.003 - 2.005$, шириной 1.1 – 1.4 мТ и высокой концентрацией парамагнитных центров ($> 10^{17}$ спин/г сухого веса). Методом тушения хемилюминесценции люминола показано, что все исследованные оммохромы проявляют хорошую антиоксидантную активность с величинами константы тушения хемилюминесценции $> 10^4 \text{ M}^{-1}$. Показана высокая ингибирующая активность всех изученных оммохромы в отношении перекисидации липидов, индуцированной синим светом (450 нм) в присутствии флуорофора липофусциновых гранул -N-ретирил-N-ретинилиденэтанолamina (A2E). Полученные результаты важны для выявления наиболее эффективных образцов оммохромы, которые можно будет использовать в практических целях, главным образом, для предотвращения и лечения различных патологий, связанных с развитием окислительного стресса.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 19-04-00411/19) и Минобрнауки России (ГЗ тема АААА-А18-118042490053-3).

[1]. Ostrovsky M.A., Sakina N.L., Dontsov A.E. An antioxidative role of ocular screening pigments // Vision Res. 1987. Vol. 27. P. 893-899.

[2] Insausti T.C., Le Gall M., Lazzari C.R. Oxidative stress, photodamage and the role of screening pigments in insect eyes // J. Exp. Biol. 2013. Vol.216. P. 3200-3207.

О₂-ЗАВИСИМАЯ ФОТОИНАКТИВАЦИЯ ИЗОЛИРОВАННЫХ РЕАКЦИОННЫХ ЦЕНТРОВ ФОТОСИСТЕМЫ 2 ПРИ ФОТОНАКОПЛЕНИИ ДОЛГОЖИВУЩЕГО СОСТОЯНИЯ С ВОССТАНОВЛЕННЫМ ФЕОФИТИНОМ

O₂-DEPENDENT PHOTOINACTIVATION OF THE ISOLATED PHOTOSYSTEM 2 REACTION CENTER UPON PHOTOACCUMULATION OF A LONG-LIVED STATE WITH THE REDUCED PHEOPHYTIN

Яныкин Д.В., Хоробрых А.А.

Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук – Обособленное подразделение «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Пушкино, E-mail: ya-d-ozh@rambler.ru

Проведено исследование фотоинактивации D1-D2-цитохром b559 реакционных центров (РЦ) фотосистемы 2 (ФС2). В этих комплексах ФС2 отсутствуют акцепторы электронов хинонной природы, и фоторазделение зарядов ограничивается переносом электрона от возбужденного первичного донора электрона P₆₈₀ на феофитин (Pheo) с образованием ион-радикальной пары (P₆₈₀⁺Pheo⁻). С помощью методики регистрации отрицательных ΔF, (-ΔF, что связывают с фотонакоплением состояния P₆₈₀Pheo⁻) выявлен новый тип фотоингибирования на акцепторной стороне РЦ ФС2, связанный с окислительными превращениями восстановленного феофитина с участием молекулярного кислорода.

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КООРДИНАТЫ РЕАКЦИИ ФОТОАКТИВАЦИИ БЕЛКА ОСР
THE THEORETICAL STUDY OF ОСР PHOTOACTIVATION REACTION COORDINATE

Ярошевич И.А.

МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва, iyapromo@gmail.com

Водорастворимый каротиноид-содержащий белок ОСР (*Orange Carotenoid Protein*) играет роль фоторецептора, который в активированном состоянии обеспечивает запуск нефотохимического тушения (*NPQ*, *Non-Photochemical Quenching*) фотосинтетического аппарата цианобактерий. Активация этого фоторецептора происходит на ярком синем свете, после чего, в темноте, он самопроизвольно деактивируется. В свою очередь в качестве хромофора этого белка выступает всего одна молекула циклического кето-каротиноида, ковалентно не связанная с белковым остовом и расположенная в гидрофобной полости внутри белка. Множество экспериментальных данных указывают на драматическую реорганизацию белковой структуры во время процесса фотоактивации, но, несмотря на это, координаты реакций, которые сопровождают этот процесс, охарактеризованы довольно туманно.

В этой работе с помощью методов молекулярного моделирования (вычислительной квантовой химии и молекулярной динамики) исследованы возможные пути образования первичного фотопродукта белка ОСР. В исследовании проблема определения координат реакций фотоизомеризации разбита на несколько этапов: (i) исследование энергетических характеристик внутренних степеней свободы хромофорной группы белка; (ii) исследование энергетических характеристик и динамики сайта связывания хромофорной группы; (iii) исследование молекулярной динамики полноразмерного белка ОСР и его мутантных форм: Y201A и W288A. В результате проведенного исследования предложен механизм образования первичного фотопродукта, в частности, на поверхности потенциальной энергии охарактеризовано два минимума, отвечающие различным двугранным углам между боковым бета-иононовым кольцом каротиноида и плоскостью сопряженных связей. Глобальный минимум отнесен к не активированному состоянию, из которого, в результате поглощения кванта света, возможен безбарьерный переход системы в локальный энергетический минимум, который отнесен к первичному фотопродукту. Исследовано влияние мутаций внесенных в белок и собственной конформации хромофора на энергетический профиль предложенной координаты реакции фотоактивации.

Секция 13. Медицинская биофизика.

МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ И ИХ КОРРЕКЦИЯ СИНТЕТИЧЕСКИМ ФРАГМЕНТОМ РЕЦЕПТОРА КОНЕЧНЫХ ПРОДУКТОВ ГЛИКИРОВАНИЯ НА ЖИВОТНОЙ МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

SYNTHETIC FRAGMENT OF RECEPTOR FOR ADVANCED GLYCATION AND PRODUCTS PREVENTS MITOCHONDRIAL DYSFUNCTIONS IN THE ANIMAL MODEL OF ALZHEIMER'S DISEASE

Аветисян А.В., Симонян Р.А., Зиновкин Р.А., Бобкова Н.В.¹, Короев Д.О.², Вольпина О.М.²

НИИ ФХБ им. А.Н.Белозерского МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, *avetis@genebee.msu.ru*

¹ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино

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

Болезнь Альцгеймера (БА) является хроническим, социально-значимым, нейродегенеративным заболеванием, приводящим к потере памяти, деменции, распаду личности и смерти. Несмотря на значительный прогресс в изучении патогенеза, молекулярные механизмы возникновения и прогрессии спонтанно-возникающей спорадической формы БА до сих пор не выяснены. В качестве модели спорадической формы болезни нами были использованы мыши с бульбэктомией обонятельных луковиц (ОБЭ). У мышей через месяц после операции развивается нейродегенерация с характерными БА признаками, в том числе: потеря пространственной памяти, дисфункция митохондрий, нейровоспаление, окислительный стресс.

Одним из ранних признаков БА является ухудшение функционирования митохондрий в участках мозга, отвечающих за оперативную память и обучение. Нейрональные митохондрии выступают одновременно в качестве мишени и участника нейродегенерации на ранних стадиях развития болезни, задолго до стадии отложения агрегированного амилоида-бета (Абета) в виде нерастворимых сенильных бляшек. Накопление Абета непосредственно в митохондриях приводит к нарушениям окислительного фосфорилирования, ингибированию дыхательных комплексов, генерации активных форм кислорода и, в конечном итоге, к инициации апоптоза. Дисфункция энергетического метаболизма, подавление активности комплексов дыхательной цепи были обнаружены в митохондриях неокортекса и гиппокампа у ОБЭ мышей. Энергетический дефицит сопровождался потерей пространственной памяти и повышением уровня Абета (1-40) в мозговых митохондриях животных. Развитие нейродегенерации у ОБЭ мышей приводило к нейровоспалению в гиппокампе и неокортексе с усилением экспрессии провоспалительных цитокинов IL-1 α , IL-1 β , TNF α .

Известно, что существенную роль в развитии БА играет активация рецептора конечных продуктов неферментативного гликирования (RAGE), одним из лигандов которого является Абета. RAGE обеспечивает приток свободно циркулирующего в крови Абета в мозг через гематоэнцефалический барьер, усиливая накопление Абета при спорадической БА. Растворимые олигомеры Абета связываются с V-доменом рецептора, который опосредует нейротоксическое действие амилоида. Активация микроглиального RAGE посредством Абета приводит к инициации сигнальных каскадов, приводящих к нейровоспалению, дисфункции митохондрий, окислительному стрессу и гибели нейронов.

С другой стороны, растворимая форма RAGE (sRAGE), генерируемой в норме протеолитическим расщеплением трансмембранного домена, связываясь с Абета, усиливает его транспорт из мозга в кровь, способствуя очистке мозга. Предположительно, синтетические пептидные фрагменты из экспонированных на поверхности областей эктодомена рецептора могут взаимодействовать с Абета в качестве мишени, как sRAGE.

Нами были синтезированы короткие пептиды и введены интраназально ОБЭ мышам в течение 20 дней с целью защиты животных от нейродегенерации. Был выявлен синтетический пептид (60-76) с выраженным терапевтическим эффектом, способный восстанавливать не только нарушенную пространственную память ОБЭ мышей, но и функциональную активность митохондрий. В то же время не было положительного эффекта на нейровоспаление, на уровень экспрессии провоспалительных цитокинов.

С помощью флуоресцентного титрования были определены константы связывания флуоресцентно меченых пептидов с Абета (1-40). В пользу гипотезы действия фрагмента (60-76) в качестве мишени для Абета свидетельствовало высокое сродство связывания пептида Flu-(60-76) с Абета (1-40).

Таким образом, синтезированный короткий фрагмент RAGE, обладающий терапевтическим потенциалом, представляет интерес для разработки препаратов БА.

Исследование выполнено при финансовой поддержке грантов РФФИ № 19-04-00624, № 19-015-00064.

БИОМАРКЕРНЫЙ АНАЛИЗ РАКА ЛЕГКИХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ FTIR-СПЕКТРОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

BIOMARKER ANALYSIS OF LUNG CARCINOMA USING FTIR SPECTRA OF HUMAN BLOOD PLASMA

Aydemirova A.H., Melikova L.A.¹, Gasymov O.K., Aliyev J.A.¹

Institute of Biophysics, Azerbaijan National Academy of Sciences, Baku, oktaygasimov@gmail.com

¹National Center of Oncology, Ministry of Health of the Republic of Azerbaijan, Azerbaijan, Baku

Despite a worldwide global effort on cancer research and treatment, cancer is still leading fatal disease across the globe. A lot of progress has been made on cancer diagnosis and development of new drugs. A targeted delivery anti-cancer drug to the malignant cells provides new hope for reducing human mortality. But despite all achievements, screening and early cancer detection are critical for the survival rate of the patients. In general, histopathology and biomedical imaging techniques such as positron emission tomography, magnetic resonance imaging, computed tomography, and etc. are used for cancer diagnosis. Histopathology is invasive and requires biopsy tissue from the suspicious region of anomalies. Biomedical imaging techniques mentioned above are expensive and/or can not be used very often. Therefore, alternative diagnostic tools that are non-invasive (or minimally invasive), cheap, fast and not labor intensive are urgently needed. Recent years, a lot of efforts have been made to use spectroscopic techniques such as magnetic resonance spectroscopy, Raman scattering, and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) for diagnosis of various cancer types. Although Raman spectroscopy is used extensively for diagnostic proposes, FTIR has some advantages. While both techniques based on vibrational bands of functional groups of biomolecules (but have different selection rule), FTIR unlike Raman spectroscopy does not require high power lasers. In some cases, Raman spectroscopy requires several laser sources with different wavelengths to avoid high background fluorescence from samples.

In this study, FTIR spectroscopy was applied to human blood plasma to build diagnostic tool for lung carcinoma. Lung cancer one of the most spread disease in the world and has a very high level of mortality. Lung cancer is usually related to smoking. However, the rate of the disease among non-smokers is rising. Moreover, women contribute about 67% to the non-smokers who get lung cancer. Therefore, the tool that can be used for screening and diagnosis for lung cancer is urgently needed.

FTIR spectra of human blood plasma samples were analyzed with two group classification using biomarker module of MetaboAnalyst. Metaboanalyst 4.0 web server (www.metaboanalyst.ca) was used for statistical analysis and classification of FTIR spectra of the blood plasma samples of lung carcinoma and healthy patients. FTIR spectra were downloaded and specified as “lung carcinoma” (38 spectra) and “healthy” (23 spectra) groups. Default parameters were used in the procedure of “data integrity check”. In data transformation, cube root transformations were performed for all spectra.

Several steps were performed to build the classification system. First, multivariate statistical analysis (PC, PLS-DA, and sPLS-DA) was carried out on 38 lung carcinoma and 23 healthy samples to build the model for lung carcinoma and healthy samples. Removal of outlier samples, 4 carcinomas and 3 healthy, significantly improved the model that was judged repeating the same multivariate statistics. Predictions of the two group classification were tested by linear SVM, PLSDA, Random Forests methods. The average accuracies based on 100 cross-validations were 0.92, 0.91 and 0.86, respectively above-mentioned methods. 20 unknown samples, which are not part of the model, were tested to predict carcinoma and healthy samples. Linear SVM method yielded 80% accuracy for both carcinoma and healthy samples. The best result was found using PLSDA method, which showed 80% and 90% accuracy for healthy and carcinoma samples, respectively. The accuracy of the Random Forest method was 70% and 90%, respectively, for healthy and carcinoma samples. At this point, we did not distinguish the various form of carcinomas, such as adenocarcinoma, squamous cell carcinoma, large cell carcinoma and etc. A model that encloses a much higher number of samples that include all types of carcinoma is needed. However, the obtained result is very encouraging. We continue to work to build the two group classification model that will yield even higher accuracy. The highly accurate model can be very easily adapted for screening of the population for lung carcinoma.

СЛАБЫЕ АДГЕЗИОННЫЕ СВОЙСТВА И АГРЕГАЦИЯ КАК ОСНОВНЫЕ ЛИМИТИРУЮЩИЕ ФАКТОРЫ БИОИНТЕГРАЦИИ НАНОРАЗМЕРНОГО ГИДРОКСИАПАТИТА В ОРГАНИЗМЕ
AN AGGREGATION AND LOW ADHESION PROPERTIES AS THE MAIN LIMITING FACTORS OF BIOINTEGRATION OF NANOSIZED HYDROXYAPATITE IN THE ORGANISM

Минайчев В.В.^{1,2}, Кирсанова П.О.¹, Краснов К.С.^{1,3}, Фадеева И.С.^{1,2}, Акатов В.С.^{1,2}

¹Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, vminaychev@gmail.com

²Пушкинский Государственный естественно-научный институт, Пушкино

³Тульский государственный университет, Тула.

В современной реконструктивной хирургии и тканевой инженерии костной ткани большой интерес в качестве остеопластического материала представляет синтетический гидроксиапатит (ГАп). Первоначально использовавшиеся импланты на основе микроразмерного ГАп, полученные методом высокотемпературного твердофазного синтеза, оказались нерезорбируемыми в организме реципиента и неспособными к стимуляции неостеогенеза. «Второе рождение» ГАп связано с появлением нанотехнологий и возможностью получения наноразмерных частиц ГАп (нГАп). На сегодняшний день именно нГАп представляет наибольший интерес для исследователей и хирургов, вследствие своей схожести с ГАп костной ткани и потенциальным остеоиндуктивным свойствам [1]. Одновременно с этим есть ряд работ, показывающих выраженный дозозависимый эффект нГАп: большие концентрации нГАп приводят к гибели клеток и развитию неконтролируемого воспаления на материал вплоть до его отторжения [2-4]. Таким образом, на сегодняшний день имеющиеся относительно нГАп данные являются противоречивыми, что ставит вопрос о необходимости изучения механизмов, лежащих в основе биоинтеграции нГАп в организме. В проведенных нами исследованиях были выявлены два фактора, литирующих биоинтеграцию нГАп в организме: слабые остеокондуктивные свойства и агрегация частиц нГАп в организме.

В качестве исследуемого материала использовался пастообразный нГАп, синтезированный в ИБХФ им. Эммануэля РАН со средним размером частиц 20 нм. В исследованиях *in vitro* на культуре стромальных клеток пульпы зуба человека было показано, что нГАп не обладает остеокондуктивными свойствами и проявляет контактную токсичность по отношению к клеткам посредством инициации апоптоза.

В дальнейшем, на модели гетеротопической имплантации крысам *in vivo* было обнаружено, что нГАп образует единый труднорезорбируемый агломерат, блокирующий адгезию, миграцию и пролиферацию клеток на материале, а также процессы неокollaгенеза на нем. При этом вокруг агломератов нГАп происходило формирование плотного слоя мертвых клеток (клеточного дебриса), погибших, предположительно, при активном фагоцитозе частиц нГАп через активацию NLRP3 инфламмосомы [по данным 4] или вследствие локальных высоких концентраций кальция (свыше 16 мМ Ca²⁺) и фосфата (свыше 8 мМ Pi) [по данным 5], образующихся в результате снижения pH в раневом ложе при имплантации материалов. Такая контактная гибель клеток реципиента приводила к развитию выраженного воспаления на материал с 20%-м содержанием нГАп и его последующему отторжению (образование асептического абсцесса). При этом уменьшение содержания нГАп в материале до 10% способствовало снижению степени агрегации частиц нГАп и образованию неструктурированного неокollaгенового матрикса вокруг импланта. Таким образом, один из аспектов дозозависимого эффекта нГАп может быть связан с увеличением склонности частиц к образованию агломератов при увеличении концентрации нГАп, что приводит к развитию асептического воспалительного ответа на материал.

В тоже время было обнаружено, что добавление остеокондуктивного компонента (деминерализованной костной крошки, ДКМ) предотвращало развитие отторжения нГАп и способствовало активной миграции клеток в материал, активному неокollaгенезу и инициации процессов неостеогенеза на имплантированном материале. Вышеуказанные эффекты были более выраженными при уменьшении содержания нГАп в образцах до 10%.

Таким образом, было установлено, что негативный дозозависимый эффект пастообразных материалов на основе нГАп может быть предотвращен путем добавления в материал биоактивного остеокондуктора (в частности, ДКМ). Проведенные исследования также позволили выявить, что наиболее перспективным материалом для дальнейших исследований и разработок является 10%-ная водная нГАп-паста.

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия инновациям с использованием приборной базы ЦКП ИТЭБ РАН.

1. Eliaz N., Metoki N. Calcium Phosphate Bioceramics: A Review of Their History, Structure, Properties, Coating Technologies and Biomedical Applications. *Materials* (Basel) 2017; 10(4): E334.
2. Hruschka V. et al. Comparison of nanoparticulate hydroxyapatite pastes of different particle content and size in a novel scapula defect model. *Sci. Rep.* 2017; 7: 43425.
3. Minaychev V.V. et al. Limitation of biocompatibility of hydrated nanocrystalline hydroxyapatite. *IOP Conf. Ser: Mat. Sci. Eng.* 2018; 347: 012045.
4. Mulay S.R., Anders H.J. Crystallopathies. *New Engl. J. Med.* 2016; 374(25): 2465-76.
5. Ali A.G.S. Calcium and phosphate ions as simple signaling molecules with versatile osteoinductivity. *Biomed Mater.* 2018; 13(5): 055005.

ПРОВосПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЛИПИДЫ И ПОВРЕЖДЕННЫЕ КОМПОНЕНТЫ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА КАК ОСНОВОПОЛАГАЮЩИЕ ФАКТОРЫ ИНИЦИАЦИИ АСЕПТИЧЕСКОГО КАЛЬЦИНОЗА БИОМАТЕРИАЛОВ

A PROINFLAMMATORY LIPIDS AND DAMAGED EXTRACELLULAR MATRIX COMPONENTS AS A FUNDAMENTAL INITIATION FACTORS OF ASEPTIC CALCIFICATION OF BIOMATERIALS

Фадеева И.С.^{1,2}, Звягина А.И.¹, Одицова О.А.³, Краснов К.С.^{1,3}, Акатов В.С.^{1,2}

¹Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, aurin.fad@gmail.com

²Пушкинский Государственный естественно-научный институт, Пущино

³Тульский государственный университет, Тула.

Известно, что единственным способом лечения тяжелой недостаточности или стеноза клапанов сердца (КС) является их хирургическая замена соответствующим механическим или биологическим протезом или графтом. Несмотря на то, что механические протезы КС долговечны, их использование сопровождается пожизненным приемом антикоагулянтов (прежде всего варфарина) и серьезными ограничениями для пациентов. При этом риск обструкции механического протеза, инсульта или периферической эмболии, несмотря на прием антикоагулянта крайне высок и составляет от 20 до 50% [1,2]. Помимо этого, длительный прием варфарина сопровождается развитием кальциноза собственных артерий пациента (витамин К-ассоциированное ингибирование MGP) [3].

Естественной альтернативой в данном случае является использование биологических заменителей – трансплантатов (1) или тканеинженерных биопротезов (2) КС, которые не требуют приема антикоагулянтов, обладают «нулевым» индексом шума и не сопровождаются ограничениями для пациентов, что особо актуально для пациентов более молодого возраста, ведущих активный образ жизни. В то же время, несмотря на выраженные преимущества для данного типа заменителей КС существуют свои проблемы, в которых именно возраст пациента является «краеугольным камнем» долговечности данных имплантов [2,3]. Так, установка девитализированных аллотрансплантатов клапанов сердца невозможна у детей младше 18 лет, а имплантация фиксированных биопротезов клапанов сердца возможна только у лиц старше 60 лет.

Основная проблема долговечности биологических заменителей КС связана с развитием асептического кальциноза их внеклеточного матрикса, что требует проведения технически сложных и опасных для жизни пациента реопераций. В тоже время, несмотря на столь существенные недостатки, интенсивно прогрессирующее развитие технологий транскатетерного (малоинвазивного) хирургического лечения пороков КС выводят создание неподверженных кальцинозу биологических заменителей в топ наиболее востребованных и ожидаемых разработок для реконструктивной сердечно-сосудистой хирургии, поскольку именно биологически материалы наиболее актуальны для транскатетерной имплантации при полном отсутствии необходимости пожизненной антикоагулянтной терапии и стрессующих шумовых эффектов.

В свою очередь, асептический кальциноз биологических материалов является сложным и многофакторным процессом, причинами инициации которого рассматриваются компоненты погибших клеток донора или реципиента, а также опорные компоненты внеклеточного матрикса или кальций-связывающие белки. Ранее в нашей лаборатории были выявлены три механизма инициации кальциноза девитализированных/децеллюляризованных трансплантатов клапанов сердца, связанные с митохондриями погибающих клеток донора (1), липид-иницированной минерализующей активностью клеток реципиента (2) и пассивной минерализацией поврежденного эластин-ассоциированного внеклеточного матрикса (3) [3,4]. При дальнейшем исследовании механизмов инициации кальциноза других донорских тканей, используемых в качестве скаффолдов в реконструктивной хирургии – прежде всего перикарда, а также твердой мозговой оболочки, брюшины, и даже губчатой костной ткани – было выявлено, что основополагающими факторами инициации асептического кальциноза указанных тканей являются провоспалительные липиды и поврежденные компоненты их внеклеточного матрикса. Мы полагаем, что одновременное сочетание этих двух факторов обеспечивает наиболее быстрый и агрессивный характер кальциноза, представляющий собой, по сути, процесс остеокласт/остеобласт-ассоциированной утилизации нерезорбируемого типовыми протеазами биологического матрикса. Полученные данные также могут объяснить возрастную зависимость интенсивности кальциноза биоматериалов, в связи с возраст-зависимым снижением активности маркеров остеокластогенеза (RANKL, NFATc1, MMP-9 и WNT5a) и остеогенеза (RUNX-2, osterix, OPN и OCN) [5].

Работа выполнена при поддержке Фонда содействия инновациям с использованием приборной базы ЦКП ИТЭБ РАН.

1. Lim W.Y. et al. Mechanical and surgical bioprosthetic valve thrombosis. *Heart*. 2017. 103(24): 1934-1941.
2. Head S.J. et al. Mechanical versus bioprosthetic aortic valve replacement. *Eur Heart J*. 2017; 38(28): 2183-2191.
3. Фадеева И.С. Роль клеток реципиента и нарушения структуры тканевого матрикса в механизме кальцификации трансплантатов сосудов и клапанов сердца. Дисс... к.б.н.: 03.03.01 / ИТЭБ РАН. Пущино, 2013.
4. Фадеева И.С. и соавт. Роль митохондрий в инициации кальциноза имплантированных биологических тканей, С. 204-214. / Под. ред. Акатова В.С., Лемастера Дж.Дж. 2016. Изд.: Synchronbook, Пущино, 216 стр.
5. Becerikli M. et al. *J Cell Mol Med*. 2017; 21(11): 2773-2781.

СПЕКТРАЛЬНАЯ РАЗРЕШАЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ ГЛАЗА ЧЕЛОВЕКА, ИЗМЕРЕННАЯ RGB ЛАЗЕРНЫМ РЕТИНОМЕТРОМ**SPECTRAL RESOLUTION OF THE HUMAN EYE MEASURED BY RGB LASER RETINOMETER***Акчури́н Га.Г.¹, Акчури́н Ге.Г.¹, Дымолазова К.К.¹, Максимов В.Ю.²*¹Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г.Чернышевского²ГУЗ областная офтальмологическая больница г. Саратов

Предложен и апробирован спектральный лазерный ретинометр, позволивший измерить макулярную остроту зрения человека для «красных», «зеленых» и «синих» колбочек сетчатки. В результате проведенных экспериментальных исследований на добровольцах впервые удалось установить важный физиологический факт, что плотность матрицы «цветных» фоторецепторных клеток в фовеальной области сетчатки глаза человека равномерная, в отличие от периферии. Лазерный ретинометр позволил детально определить как изменяется острота зрения при переходе от центральной фовеальной области, где она достигает 1 к периферии, где она резко падает и достигает пространственного разрешения не более 0.2-0.1 для нормального глаза. Предлагаемый лазерный ретинометр позволяет определить состояние сетчатки независимо от рефракционных свойств оптической системы глаза. С медицинской диагностической точки зрения предлагаемая технология позволяет определить функциональное состояние фоторецепторных клеток в фовеальной области сетчатки даже при наличии зрелой катаракты, когда все известные оптические офтальмологические методы не функционируют.

Впервые предложен и апробирован метод разрешающей способности палочек глаза человека на периферии сетчатки при уменьшении интенсивности зондирующего лазерного излучения на 4-6 порядков.

В фовеальной области сетчатки (центральной области макулы – порядка одного градуса и диаметра порядка 700 мкм), соответствующей максимальному угловому разрешению, колбочки со средним поперечным размером ≈ 1 мкм и расстоянием между «красными», «зелеными» и «синими» монохромными клетками порядка 3-4 мкм взаимно-однозначно связаны с нейронными ганглиозными клетками [1,2], которые генерируют нервные импульсы, число которых нелинейно кодирует информацию об интенсивности детектируемого оптического излучения и обрабатывается в зрительной области коры головного мозга. Таким образом, в фокальной области сетчатки с помощью оптической системы глаза (роговицы и хрусталика) и пространственной матрицы из «красных», «зеленых» и «синих» колбочек сетчатки детектируется оптическое излучение, несущее информацию не только об пространственном разрешении, но и о спектральном.

Классические методы исследования функции зрения человека сводятся к определению остроты зрения и поля зрения, которые в значительной степени зависят от состояния прозрачных сред глаза. От этого избавлен метод определения ретиальной остроты зрения (РОЗ), позволяющий определять разрешающую способность сетчатки при наличии катаракты различной степени. При ретинометрии лазерный пучок делит на два пучка приблизительно равной интенсивности и направляют их в глаз таким образом, чтобы они перекрывались на сетчатке. В результате наложения когерентных пучков на сетчатке образуется интерференционная картина в виде полос. Влияние рефракции глаза на число полос в значительной мере исключается, если оба пучка фокусируются в узловой плоскости глаза. Апробации метода определения спектральной ретиальной остроты зрения человека при зондировании фоторецепторных «синих», «зеленых» и «красных» колбочек при облучении пространственно-перестраиваемой системой интерференционных полос, создаваемых перестраиваемым интерферометром Жамена (на основе модернизированного ретинометра АРОЛ-1, НПО «Тантал» г. Саратов) при зондировании непрерывным излучением YAG: Nd микролазерами с диодной накачкой и удвоением частоты с длинами волн 473 и 532 нм для диагностики «синих» и «зеленых» колбочек и полупроводниковым инжекционным гетеролазером с длиной волны 650 нм для «красных».

Исследование спектральных и когерентных свойств излучения таких микролазеров позволило получить максимальную контрастность интерференционных полос (видность равна 1) на сетчатке глаза при управлении и контроле соответствующей длиной когерентности лазеров при изменении параметра неравновесности (тока инжекции). Временная когерентность лазеров измерялась с помощью сканирующего интерферометра Майкельсона. Модовый состав излучения со спектральным разрешением 10^{-3} нм измерялся с помощью модифицированного дифракционного спектрометра ДФС-3. Экспериментально было установлено, что выбором параметра накачки (тока инжекции лазерных диодов) возможно регулирования модового состава излучения твердотельных микролазеров с внутривибрационным генератором второй гармоники на длине волны 532 нм и 474 нм для получения видности интерференционной картины в спектральном лазерном ретинометре достигающей 1. Так как для используемых микролазеров степень пространственной когерентности была максимальной и достигала единицы в пределах всего фокального пятна, то контрастность интерференционных полос была максимальной в пределах отдельных спеклов, что позволяло определять остроту зрения при наличии катаракты, когда традиционные офтальмологические методы определения остроты зрения не работают из-за сильных эффектов рассеяния некогерентного света.

1.Шамшинова А.М., Волков В.В. Функциональные методы исследования в офтальмологии. М.: Медицина, 1999. 410 с.

2.Владимиров Ю.А., Потапенко А.Я. Физико-химические основы фотобиологических процессов. М.:Дрофа, 2006. 285 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ АКУСТИЧЕСКОГО РЕФЛЕКСА ПРИ КОНТРАЛАТЕРАЛЬНОЙ ЗВУКОВОЙ СТИМУЛЯЦИИ**RESEARCH OF ACOUSTIC REFLEX WITH CONTRALATERAL SOUND STIMULATION***Алехин М.Д., Драган С.П.¹, Богомолов А.В.¹, Котляр-Шапиров А.Д.¹, Кондратьева Е.А.¹*

АО «НПО «Электронное приборостроение»;

¹Государственный научный центр РФ – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И.Бурназяна,

К числу наиболее информативных методов объективной диагностики нарушений слуха относят акустическую рефлексомерию. В предлагаемом методе акустический рефлекс определяют при контралатеральной звуковой стимуляции на частоте 1 кГц, по изменению импедансных характеристик барабанной перепонки, являющейся элементом резонансной системы, включающей наружный слуховой проход (НСП), герметично состыкованный с перфорированной панелью, установленной в конце волновода, по которому подается зондирующий полигармонический сигнал. Импедансные характеристики резонансной системы определяются по измерениям звукового давления и разности фаз между сигналами с микрофонов, установленных в двух точках волновода. На основании точного решения уравнения распространения падающей и отраженной от перфорированной панели звуковой волны в волноводе, рассчитывают комплексный коэффициент отражения и компоненты импеданса резонансной системы, установленной в конце волновода.

Экспериментальные исследования проведены на физической модели НСП и барабанной перепонки в виде резонатора Гельмгольца, установленного на окончании волновода. В качестве горла резонатора использована узкая трубка длиной 8 см с внутренним диаметром 3 мм, а в качестве объема – трубка с геометрическими размерами близкими к реальному НСП. Моделью барабанной перепонкой являлась натянутая тонкая упругая резина. При проявлении акустического рефлекса барабанная перепонка натягивается, изменяя тем самым собственную частоту резонатора Гельмгольца. В физической модели изменяли степень натяжения упругой резины. При этом экспериментально исследовали изменение резонанса системы при слабом, среднем и сильном натяжении тонкой упругой резины. В волновод подавали полигармонический сигнал, образованный набором равной амплитуды тональных частот в диапазоне от 275 до 575 Гц с шагом 25 Гц. Измерения свидетельствуют, что резонансная частота системы увеличивается в зависимости от степени натяжения тонкой резины. Для проверки адекватности физической модели, проведен расчет резонансной частоты системы, когда тонкую резину заменили на «жесткое дно», т.е. использовали «классический» резонатора Гельмгольца, его расчетное значение резонансной частоты равно 500 Гц, а результаты измерений составили 518 Гц. Удовлетворительное совпадение результатов позволило сделать вывод об адекватности используемой физической модели.

Исследование акустического рефлекса на основе контралатеральной полигармонической звуковой стимуляции проведено на двух испытуемых – добровольцах. Вначале измеряли импедансные характеристики на обоих ушах в отсутствие стимуляции с использованием полигармонического сигнала в диапазоне частот от 275 до 575 Гц (с шагом 25 Гц) при общем уровне звукового давления (УЗД) 75 дБ – в этом случае барабанная перепонка остается в покое (процедура одного исследования составляет 10 секунд). Затем контралатерально (в наружный слуховой проход второго уха) подавали звуковой стимул на частоте 1 кГц с тремя УЗД: 75, 85 и 95 дБ. Совпадение частоты, на которой отмечен максимум коэффициента поглощения, с частотой, на которой реактанс изменяет знак с отрицательного на положительный свидетельствовало о корректности измерений. Эта частота и является резонансом системы.

Далее на другое ухо подавали звуковой стимул и регистрировали акустический рефлекс, проявления которого при анализе частотных зависимостей реактанса для разных уровней стимула. С увеличением УЗД стимулирующего сигнала кривые реактанса и коэффициента поглощения практически параллельно сдвигаются вправо по частоте. Таким образом, имеется возможность производить прямые измерения акустического рефлекса, определять его порог, в зависимости от уровня контралатеральной стимуляции звукового сигнала и тем самым осуществлять диагностику органа слуха. Результаты измерений свидетельствуют, что при контралатеральной стимуляции обеих ушей, в зависимости от УЗД стимулирующего сигнала, увеличивается резонансная частота и уменьшается резистанс НСП. Отмеченное уменьшение резистанса НСП не было зарегистрировано в физическом моделировании, вероятно, этот факт можно объяснить в изменении кровенаполнения микроциркуляторного русла барабанной перепонки и НСП – для проверки этой гипотезы необходимы клинические исследования. В случае подтверждения сделанного предположения существенно расширяются возможности дифференциальной диагностики патологий органа слуха.

После проведения клинических испытаний и установления четких диагностических критериев, полученные результаты исследования проявлений акустического рефлекса при контралатеральной полигармонической звуковой стимуляции обеспечат существенный прогресс в диагностике профессиональной сенсоневральной тугоухости.

Работа поддержана РФФИ, проект № 18-08-00244.

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ОКСИДА АЗОТА И МЕДИ В ОБОНЯТЕЛЬНЫХ ЛУКОВИЦАХ МОЗГА КРЫС ПОСЛЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ИНТРАНАЗАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

CHANGES IN THE CONTENT OF NITRIC OXIDE AND COPPER IN THE OLFATORY BULBS OF RATS BRAIN AFTER MODELLING OF BRAIN STROKE AND INTRANASAL ADMINISTRATION OF MESENCHYMAL STEM CELLS

Андрянов В.В.^{1,2}, Яфарова Г.Г.^{1,2}, Пашкевич С.Г.³, Досина М.О.³, Замаро А.С.³, Богодвид Т.Х.^{1,4}, Июдин В.С.², Такальчик Ю.П.³, Денисов А.А.³, Кульчицкий В.А.³, Гайнутдинов Х.Л.^{1,2}

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань; E-mail: slava_snail@yahoo.com

²Казанский физико-технический институт – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия;

³Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

⁴Поволжская академия физической культуры, спорта и туризма, Казань, Россия

Функционирование тканей организма зависит от ряда ключевых факторов. Одним из таких факторов является необходимость достаточного количества кислорода, который поставляется с током крови, для поддержания окислительных процессов. Длительная нехватка кислорода ведет к гипоксии мозга, которая при определенных условиях сопровождается развитием ишемии тканей, возникающей при несоответствии снабжения тканей организма кислородом той реальной потребности, в которой нуждаются ткани в силу естественного процесса биологического окисления; это важный компонент патогенеза многих заболеваний [1]. Оксид азота (NO) является важной сигнальной молекулой, которая широко распространена в нервной системе. Показано, что NO играет роль межклеточного мессенджера и сигнальной молекулы. Обнаружено, что при патологических процессах NO играет как протекторную роль, так и деструктивную, что определяется многими факторами, которые в конечном итоге определяют вовлечение в процесс разных форм NO-синтаз [2]. NO выполняет свои физиологические функции, связываясь с ионами железа (Fe) в составе гема, либо через S-нитрозилирование белков, а также принимает участие в целом ряде биохимических реакций. Активируя растворимую гемсодержащую гуанилатциклазу и ADP-рибозилтрансферазу, NO участвует в регуляции внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} , вовлекается в регулирование pH на фоне церебральной ишемии [3].

В жизнедеятельности животных особо значима роль NO в функционировании сердечно-сосудистой и нервной систем [2,4]. В настоящее время развитие ишемии мозга и последующее возникновение инсульта связывают с нарушениями мозгового кровотока, а также с нарушениями его регуляции системой NO [4,5]. Поэтому целью данной работы было исследование методом спектроскопии электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) интенсивности продукции NO в обонятельных луковицах крыс при моделировании ишемического повреждения головного мозга и введении мезенхимальных стволовых клеток.

Для экспериментального нарушения церебрального кровотока проводили моделирование ишемии головного мозга с помощью перевязки общих сонных артерий на уровне бифуркации. Нами был применен метод ЭПР спектроскопии для оценки продукции NO по интегральной интенсивности комплекса $(DETC)_2-Fe^{2+}-NO$. Формирование комплекса $(DETC)_2-Fe^{2+}-NO$ в тканях крыс нами описано ранее [5,6]. Основные измерения проводились на спектрометре ЭПР 3-х сантиметрового диапазона фирмы "Bruker" EMX/plus с температурной приставкой ER 4112HV в X диапазоне (9.50 GHz). Результаты показывают достоверное снижение содержания NO через 1 день после моделирования ишемии, вызванной перевязкой сонных артерий. В обонятельных луковицах крыс, у которых было проведено моделирование ишемии с одновременным интраназальным введением мезенхимальных стволовых клеток, не было обнаружено достоверного отличия содержания NO относительно ишемизированных крыс. Через 2 дня содержание NO в обонятельных луковицах ишемизированных крыс восстановилось, а в случае моделирования ишемии с одновременным интраназальным введением мезенхимальных стволовых клеток, через 2 дня не было обнаружено достоверного отличия содержания NO относительно ишемизированных крыс.

1. Manukhina E.B. et al. Production and storage of nitric oxide in adaptation to hypoxia. Nitric Oxide. 1999. Vol. 3. No 5. P. 393-401.
2. Gainutdinov Kh.L. et al. EPR study of the intensity of the nitric oxide production in rat brain after ischemic stroke // Applied Magnetic Resonance. 2011. Vol. 40. No 3. P. 267-278.
3. Erusalimsky J.D., Moncada S. Nitric oxide and mitochondrial signaling from physiology to pathophysiology // Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2007. Vol. 27. P. 2524-2531.
4. Terpolilli N.A. et al. Nitric oxide: considerations for the treatment of ischemic stroke // J Cereb Blood Flow Metab. 2012. Vol. 32. No 7. P. 1332-1346.
5. Andrianov V.V. et al. Changes of nitric oxide content in the rat hippocampus, heart and liver in acute phase of ischemia // Applied Magnetic Resonance. 2016. Vol. 47. No 9. P. 965-976.
6. Ismailova A.I. et al. ESR study of the nitric oxide production in tissues of animals under the external influence on the functioning of the cardiovascular and nervous systems // Applied Magnetic Resonance. 2005. Vol. 28. P. 421-430.

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ОКСИДА АЗОТА И МЕДИ В ГИППОКАМПЕ КРЫС ПОСЛЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

A CHANGE IN THE CONTENT OF NITRIC OXIDE AND COPPER IN THE HIPPOCAMPUS OF RATS AFTER MODELLING OF BRAIN STROKE

Андреанов В.В.^{1,2}, Яфарова Г.Г.^{1,2}, Паишевич С.Г.⁴, Досина М.О.⁴, Замаро А.С.⁴, Богодвид Т.Х.^{1,3}, Июдин В.С.², Такальчук Ю.П.⁴, Денисов А.А.⁴, Кульчицкий В.А.⁴, Гайнутдинов Х.Л.^{1,2}

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань; E-mail: slava_snail@yahoo.com

²Казанский физико-технический институт – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия;

³Поволжская академия физической культуры, спорта и туризма, Казань, Россия

⁴Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Функционирование тканей организма зависит от ряда ключевых факторов. Одним из таких факторов является необходимость достаточного количества кислорода, который поставляется с током крови, для поддержания окислительных процессов. Длительная нехватка кислорода ведет к гипоксии мозга, которая при определенных условиях сопровождается развитием ишемии тканей, возникающей при несоответствии снабжения тканей организма кислородом той реальной потребности, в которой нуждаются ткани в силу естественного процесса биологического окисления; это важный компонент патогенеза многих заболеваний [1]. Оксид азота (NO) является важной сигнальной молекулой, которая широко распространена в нервной системе. Показано, что NO играет роль межклеточного мессенджера и сигнальной молекулы. Обнаружено, что при патологических процессах NO играет как протекторную роль, так и деструктивную, что определяется многими факторами, которые в конечном итоге определяют вовлечение в процесс разных форм NO-синтаз [2]. NO выполняет свои физиологические функции, связываясь с ионами железа (Fe) в составе гема, либо через S-нитрозилирование белков, а также принимает участие в целом ряде биохимических реакций. Активируя растворимую гемсодержащую гуанилатциклазу и ADP-рибозилтрансферазу, NO участвует в регуляции внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} , вовлекается в регулирование pH на фоне церебральной ишемии [3].

В жизнедеятельности животных особо значима роль NO в функционировании сердечно-сосудистой и нервной систем [2,4]. В настоящее время развитие ишемии мозга и последующее возникновение инсульта связывают с нарушениями мозгового кровотока, а также с нарушениями его регуляции системой NO [4,5]. Поэтому целью данной работы было исследование методом спектроскопии электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) интенсивности продукции NO в тканях гиппокампа крыс при моделировании ишемического повреждения головного мозга.

Для экспериментального нарушения церебрального кровотока проводили моделирование ишемии головного мозга с помощью перевязки общих сонных артерий на уровне бифуркации. Нами был применен метод ЭПР спектроскопии для оценки продукции NO по интегральной интенсивности комплекса $(DETC)_2-Fe^{2+}-NO$ в тканях гиппокампа крыс [6]. Формирование комплекса $(DETC)_2-Fe^{2+}-NO$ в тканях крыс нами описано ранее [5,6]. Основные измерения проводились на спектрометре ЭПР 3-х сантиметрового диапазона фирмы "Bruker" EMX/plus с температурной приставкой ER 4112HV в X диапазоне (9.50 GHz).

Результаты показывают достоверное снижение содержания NO через 1 день после моделирования ишемии, вызванной перевязкой сонных артерий. В гиппокампе крыс, у которых было проведено моделирование ишемии с одновременным интраназальным введением мезенхимальных стволовых клеток, не было обнаружено достоверного отличия содержания NO относительно ишемизированных крыс. Через 2 дня содержание NO в гиппокампе ишемизированных крыс восстановилось. В гиппокампе крыс, у которых было проведено моделирование ишемии с одновременным интраназальным введением мезенхимальных стволовых клеток, через 2 дня не было обнаружено достоверного отличия содержания NO относительно ишемизированных крыс.

Поддержано РФФИ (грант № 18-515-00003) и БРФФИ (грант Б18Р-227).

1. Manukhina E.B. et al. Production and storage of nitric oxide in adaptation to hypoxia. Nitric Oxide. 1999. Vol. 3. No 5. P. 393-401.
2. Gainutdinov Kh.L. et al. EPR study of the intensity of the nitric oxide production in rat brain after ischemic stroke // Applied Magnetic Resonance. 2011. Vol. 40. No 3. P. 267-278.
3. Erusalimsky J.D., Moncada S. Nitric oxide and mitochondrial signaling from physiology to pathophysiology // Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2007. Vol. 27. P. 2524-2531.
4. Terpolilli N.A. et al. Nitric oxide: considerations for the treatment of ischemic stroke // J Cereb Blood Flow Metab. 2012. Vol. 32. No 7. P. 1332-1346.
5. Andrianov V.V. et al. Changes of nitric oxide content in the rat hippocampus, heart and liver in acute phase of ischemia // Applied Magnetic Resonance. 2016. Vol. 47. No 9. P. 965-976.
6. Ismailova A.I. et al. ESR study of the nitric oxide production in tissues of animals under the external influence on the functioning of the cardiovascular and nervous systems // Applied Magnetic Resonance. 2005. Vol. 28. P. 421-430.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА ЭРИБУЛИН С МИКРОТРУБОЧКОЙ МЕТОДАМИ КОМПЬЮТЕРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

COMPUTATIONAL MODELING STUDY OF MICROTUBULE AND ERIBULIN DRUG INTERACTION

Анисимов М.Н.¹, Гудимчук Н.Б.^{1,2}

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, физический факультет, кафедра биофизики, 119992, ул. Ленинские Горы 1, стр. 2, Москва, Email: amih199898@gmail.com

²Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, 119991, ул. Косыгина 4, Москва

Микротрубочки – цитоскелетные полимеры белка тубулина, необходимые для транспорта, подвижности, деления и поддержания структуры клеток. Микротрубочки представляют собой неравновесную систему, они динамически нестабильны, что проявляется как спонтанное переключение между фазами полимеризации и деполимеризации. Это свойство необходимо для разнесения хромосом в митозе и многих других процессах. Из-за важной роли динамики микротрубочек при делении животных клеток, ее подавление противоопухолевыми препаратами-ингибиторами является одной из наиболее успешных стратегий современной химиотерапии.

Препараты-ингибиторы тубулина влияют на жизненный цикл всех клеток организма, но ввиду частого бесконтрольного деления, опухолевые клетки оказываются наиболее подверженными воздействию данных препаратов. Одним из новых и перспективных препаратов-ингибиторов тубулина является эрибулин. Известно, что он замедляет рост микротрубочки и подавляет гидролиз тубулин-связанной молекулы гуанозинтрифосфата (ГТФ). Эрибулин связывается как со свободным тубулином, так и непосредственно с теми концами микротрубочек, которые принято называть плюс-концами, причем всего одной связанной молекулы эрибулина достаточно для оказания сильного эффекта на динамику микротрубочки [1]. Несмотря на то, что препараты-ингибиторы успешно применяются в терапии опухолей, фундаментальные термодинамические и кинетические механизмы действия низких концентраций эрибулина, как и низких концентраций других ингибиторов, непонятны.

Мы поставили перед собой цель теоретически описать возможный механизм воздействия малых концентраций эрибулина на сборку микротрубочек. Для этого мы разработали кинетико-механическую модель динамики микротрубочки в присутствии эрибулина. В нашей модели могли происходить пять видов событий: присоединение и отсоединение димеров тубулина, переключение свойств димеров в результате гидролиза ГТФ в составе тубулина, выпрямление и искривление димеров тубулина, что соответствует недавно полученным структурным данным [2]. Каждое такое событие характеризовалось определенной константой, все события удовлетворяли предложенной нами схеме, а их последовательная реализация во времени описывалась с помощью метода Монте-Карло. Моделирование эрибулина состояло из двух этапов. На первом этапе рассматривались стабильно полимеризующиеся микротрубочки и не принималась во внимание кинетика реакций взаимодействия эрибулина с тубулином и микротрубочкой. Сопоставляя поведение модели в присутствии и отсутствии эрибулина с опубликованными данными [3] с целью провести калибровку параметров модели, нам удалось сформулировать ограничения на возможные константы присоединения тубулина к концу микротрубочки и уточнить значения энергий взаимодействия димеров тубулина в составе микротрубочки. На этом этапе эрибулин в течение всего времени роста микротрубочки моделировался как модификатор свойств димера тубулина в месте его связывания, что приводило к запрету на гидролиз молекулы ГТФ, а также к запрету на присоединение к данному димеру других димеров. Такая постановка симуляции соответствовала одномолекулярным экспериментам, успешное описание которых на первом этапе позволило перейти ко второму этапу. Учет динамической нестабильности микротрубочки и кинетики реакций, связанных с эрибулином, предсказал необходимость существования физического механизма, посредством которого микротрубочка может не испытать катастрофу в течение нескольких секунд после присоединения к ней молекулы эрибулина и продолжить свою сборку. По сравнению с другой моделью [4], которая не учитывает выпрямление и искривление димеров тубулина и качественно описывают экспериментальные данные [1], наша модель показывает лучшее количественное их описание.

Результаты моделирования позволили теоретически обосновать возможность влияния всего одной молекулы ингибитора на динамику всей микротрубочки и предсказать новые свойства системы. Удалось сформулировать ограничения на возможные энергии взаимодействия димеров в микротрубочке и константы присоединения тубулина к концу микротрубочки для последовательного описания экспериментальных данных.

Анисимов М.Н. является стипендиатом Фонда развития теоретической физики и математики «БАЗИС».

1. Doodhi H. et al. Termination of Protofilament Elongation by Eribulin Induces Lattice Defects that Promote Microtubule Catastrophes // *Curr. Biol.* 2016. Vol. 26, № 13. P. 1713–1721.
2. Richard McIntosh J. et al. Microtubules grow by the addition of bent guanosine triphosphate tubulin to the tips of curved protofilaments // *J. Cell Biol.* 2018. Vol. 217, № 8. P. 2691–2708.
3. Walker R.A. et al. Dynamic Instability of Individual Microtubules // *J. Cell Biol.* 1988. Vol. 107, № October. P. 1437–1448.
4. VanBuren V., Odde D.J., Cassimeris L. Estimates of lateral and longitudinal bond energies within the microtubule lattice // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2002. Vol. 99, № 9. P. 6035–6040.

СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ВНУТРИЭРИТРОЦИТАРНОГО ГЕМОГЛОБИНА ЧЕЛОВЕКА, МОДИФИЦИРОВАННОГО NO-СОДЕРЖАЩИМИ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ПРЕПАРАТАМИ

SPECTRAL CHARACTERISTICS OF INTRACELLULAR HUMAN HEMOGLOBIN, MODIFIED WITH NO-CONTAINING DRUGS

Артюхов В.Г., Калаева Е.А., Путинцева О.В., Башмакова Т.Н.

Воронежский государственный университет, Воронеж

В клинической практике для лечения сердечной недостаточности используются вазодилататоры, механизм действия которых основан на способности высвобождать оксид азота. NO-содержащие сосудорасширяющие средства можно условно разделить на несколько групп: органические нитриты, препараты на основе изосорбида, молсидомины и др. Действие нитроглицерина, применяемого в кардиологии более 100 лет и рассматриваемого как эталонный препарат в группе нитратов, хорошо изучено [1]. Молекулярные механизмы вазодилаторной активности сосудорасширяющих средств последующих поколений и их взаимодействие с эритроцитами проанализированы недостаточно.

Целью работы явилось исследование влияния лекарственных средств «Кардикет» (изосорбида динитрат) и «Моночинкве» (изосорбида моонитрат) на спектральные свойства внутриэритроцитарного гемоглобина человека.

Эритроциты трижды отмывали раствором NaCl (0,145 моль/л) и доводили суспензию до концентрации 10^6 клеток/мл ($D_{495}=0,8$). Клетки инкубировали с препаратами «Кардикет» и «Моночинкве» (конечная концентрация – 0,4 мг/мл) в течение 20 мин и 24 ч при 37 °С. Регистрацию электронных спектров поглощения (ЭСП) исследуемых образцов проводили на автоматическом спектрофотометре UV-2401PC (Shimadzu, Япония) в диапазоне длин волн 230 - 750 нм.

Интактные эритроциты характеризовались наличием на ЭСП полос поглощения при 270, 347, 414, 541 и 578 нм. Инкубация суспензии клеток с «Кардикетом» и «Моночинкве» в течение 20 мин не приводила к изменениям положения основных максимумов поглощения и оптической плотности в них.

Увеличение времени инкубации эритроцитов с лекарственными препаратами до 24 ч индуцировало сглаживание полосы поглощения при 347 нм и ее переход в «плечо» полосы Core, максимум которой сдвигался влево до 407 нм. α - (578 нм) и β - (541 нм) полосы были выражены слабее, чем на ЭСП нативных образцов.

После 24-часовой инкубации эритроцитов с «Кардикетом» и «Моночинкве» было зарегистрировано изменение соотношения значений оптической плотности в максимуме полосы Core и при 495 нм. Для интактной суспензии оно составляло $1,33 \pm 0,03$, после 24 ч инкубации повысилось до $3,79 \pm 0,77$, что указывало на частичный гемолиз эритроцитов и выход свободного гемоглобина во внеклеточное пространство. В присутствии «Кардикета» и «Моночинкве» величина анализируемого показателя через 20 мин инкубации не отличалась от контроля и была равна $1,27 \pm 0,02$ и $1,25 \pm 0,03$, соответственно. После 24-часовой модификации она повысилась до $2,10 \pm 0,24$ и $2,40 \pm 0,24$, соответственно, однако, осталась ниже показателя, рассчитанного для образцов, инкубированных 24 ч без лекарственных препаратов. Аналогичный эффект был выявлен нами ранее для нитроглицерина [2, 3].

Таким образом, кратковременное (20 мин) воздействие NO-содержащих лекарственных препаратов на основе изосорбида на эритроциты периферической крови человека не вызывало изменений спектральных свойств внутриэритроцитарного гемоглобина. 24-часовая инкубация клеток с «Кардикетом» и «Моночинкве» приводила к образованию метгемоглобина в образцах. Обнаружено мембранопротекторное действие лекарственных средств «Кардикет» и «Моночинкве» на эритроциты. Зарегистрированные эффекты двух исследуемых лекарственных средств на внутриэритроцитарный гемоглобин и клеточные мембраны были практически идентичны. Мониторинг структурно-функционального состояния эритроцитов и внутриклеточного гемоглобина пациентов, длительное время регулярно принимающих нитратные вазодилататоры, необходим для выявления и своевременной коррекции воздействия лекарственных препаратов на организм в условиях сердечно-сосудистой патологии.

1. Белоусов Ю.Б. и др. Клиническая фармакология: национальное руководство. ГЭОТАР-Медиа, 2013.

2. Артюхов В.Г. и др. Модификация структурно-функциональных свойств гемоглобина человека, индуцированная нитроглицерином, в условиях различного кислородного режима // Биомедицинская химия. 2016. Т. 62, вып. 3. С. 251-258.

3. Калаева Е.А. и др. Влияние нитроглицерина на спектральные и кислородсвязывающие характеристики внутриэритроцитарного гемоглобина человека // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2016.Т. 79, №9. С. 12-17.

ВЛИЯНИЕ УФ-СВЕТА НА УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ CD5 РЕЦЕПТОРОВ В-ЛИМФОЦИТОВ ДОНОРСКОЙ КРОВИ**THE UV-LIGHT INFLUENCE ON THE EXPRESSION OF CD5 MARKERS OF DONOR BLOOD B-LYMPHOCYTES***Башарина О.В., Земченкова О.В.¹, Артюхов В.Г., Коробкина И.А.**Воронежский государственный университет, Воронеж, E-mail: bov-bio@yandex.ru**¹Воронежский государственный медицинский университет им.Н.Н.Бурденко, Воронеж*

Лимфоцитарные клетки способны избирательно распознавать собственные и чужеродные антигены, а затем развивать активную реакцию, направленную на их обезвреживание. За продукцию антител и представление антигенов Т-лимфоцитам отвечают В-клетки. На данный момент среди В-клеток выделяют три основные субпопуляции: В-1, В-2 и В-клетки памяти. При данном делении важная роль отводится молекуле CD5, которая обнаружена на всех зрелых Т-лимфоцитах, CD5 также присутствует на субпопуляции В-1 лимфоцитов, но отсутствует на В-2 лимфоцитах, гранулоцитах и моноцитах. Молекула CD5 является лигандом для CD72 антигена, который присутствует на В-лимфоцитах.

CD5 образуют комплекс с антиген-специфическим рецепторным комплексом как на Т-, так и на В-лимфоцитах, это дает возможность модулировать передачу сигналов через этот комплекс. CD5 может быть посредником негативной регуляции при передаче сигналов для В-клеточных рецепторов. Кроме роли, связанной с передачей сигналов при активации, молекула CD5 является маркером, позволяющим различать их субпопуляции (CD19+CD5+ – В-1 клетки и CD19+CD5- – В-2 клетки). В-1 и В-2 лимфоциты происходят из разных предшественников. Несмотря на то, что В-1 клетки составляют весьма незначительную часть В лимфоцитов, они являются основным источником нормальных АТ, большая часть которых обладает полиреактивностью. Как правило, они реагируют с аутоантигенами и бактериальными липо- и полисахаридами, играя существенную роль в защите от патогенов. С практической точки зрения В-1 клетки привлекают внимание как клетки, обеспечивающие защиту от инфекции, с другой – как участники аутоиммунных и лимфопролиферативных заболеваний.

Применение УФ-излучения в медицине, в частности, при облучении аутокрови, приводит к улучшению иммунологического статуса организма; одну из ключевых ролей в этом процессе играют изменения поверхностных структур моноклеаров. Изменение экспрессии мембранных маркеров может повлечь за собой изменение функционирования иммунной системы в целом.

Ранее нами было показано, что в ходе инкубации УФ-облученных лимфоцитов происходит изменение их популяционного и субпопуляционного состава. Выявлено повышение уровня экспрессии CD3, CD19, CD8, CD16, CD25 и CD95 комплексов, обусловленное, главным образом, их синтезом *de novo* [1].

Данная работа посвящена изучению влияния УФ-света (240-390 нм) в дозах 151 и 755 Дж/м² (терапевтический диапазон доз) на уровень экспрессии мембранных CD5 маркеров В-лимфоцитов методом проточной цитометрии. Соотношение популяций В-клеток составило 13,2±3,0 % В-1 и 85,2±4,0 % В-2 лимфоцитов. Непосредственно после воздействия на суспензию лейкоцитов УФ-света количество В-1 и В-2 клеток, а также уровень экспрессии CD5 маркеров не изменяется по отношению к контролю у всех исследованных доноров.

В ходе 24-часовой инкубации суспензии клеток в питательной среде (5 % CO₂, 37 °С) в отсутствие аутологичной плазмы происходит снижение количества CD5+-клеток, что может быть связано с их гибелью, обусловленной отсутствием в среде инкубации факторов роста и антиоксидантов, содержащихся в плазме. Количество CD5+-клеток, инкубируемых в присутствии аутологичной плазмы, статистически значимо не отличалось от исходного. Полученные нами данные позволяют предполагать, что медиаторами изменения экспрессии молекул клеточной поверхности при действии УФ-света являются, по-видимому, активные формы кислорода, механизм действия которых может включать в себя как прямое взаимодействие с мембраной, так и регуляцию путей сигнальной трансдукции и факторов транскрипции.

После суточной инкубации в отсутствие плазмы крови УФ-облученных лимфоцитов уровень экспрессии CD5 маркеров понижался на 14 и 23 % соответственно дозам облучения. В случае инкубации клеток в присутствии плазмы крови снижение параметра было менее выраженным и составило 8 и 17 % в зависимости от дозы облучения. Таким образом, воздействие УФ-света приводит к снижению популяции В-1 клеток.

Известно, что УФ-излучение в рассматриваемом диапазоне доз индуцирует протекание в мембранах лимфоцитарных клеток пероксидного фотоокисления липидов (ПФОЛ), в результате чего происходят изменения структурного состояния мембран лимфоцитов, следствием которых является удаление маркерных молекул с клеточной поверхности. Кроме того, можно предположить, что УФ-свет приводит к необратимым структурным перестройкам (денатурации) данных маркеров, и CD5 уже не выявляются в эксперименте.

1. Артюхов В.Г., Башарина О.В., Земченкова О.В., Рязанцев С.В. Влияние УФ-света на субпопуляционный состав и экспрессию мембранных маркеров лимфоцитов крови человека // Радиационная биология. Радиоэкология, 2016, Т. 56. № 1. С. 73-80.

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА VDAC ЭРАСТИНА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ МРТР ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

THE EFFECT OF VDAC INHIBITOR ERASTIN ON THE MPTP OPENING AT CHRONIC ETHANOL TREATMENT

Бабурин Ю.Л.¹, Одиноква И.В.¹, Круглов А.Г.^{1,2}, Сотникова Л.Д.¹, Крестинин Р.Р.^{1,2}, Крестинина О.В.^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино 142290 Пушкино, Московской обл.; факс: (4967)33-0553,

²Пушинский государственный естественно-научный институт, 141290 Пушкино, Московской обл.; электронная почта: byul@rambler.ru

Хроническое употребление алкоголя приводит к множественным поражениям печени, включая стеатоз и цирроз печени. Механизм действия хронического потребления этанола на функцию печени остается неясным и, следовательно, является предметом интенсивных исследований и дискуссий. Предполагается включение нарушений митохондриальных функций и механизмов антистрессовой защиты и активации проапоптотических сигнальных путей [1]. Митохондрии играют центральную роль в инициации запрограммированной гибели клеток, поэтому после хронического употребления алкоголя наблюдается увеличение гибели клеток (апоптоз или некроз). Предполагается, что действие этанола приводит к изменению активности VDAC каналов и нарушению проницаемости митохондриальных мембран [2]. Вследствие изменения проницаемости мембран формируется неспецифическая митохондриальная пора (mitochondrial permeability transition pore, мРТР). До недавнего времени VDAC считался структурным компонентом мРТР, но в настоящее время не вызывает сомнений его роль в качестве модулятора/регулятора мРТР [3].

Изменение проницаемости митохондриальных мембран является первоначальным показателем алкогольной интоксикации. В связи с этим важно изучить взаимодействие VDAC с мРТР, чтобы найти новые мишени воздействия алкоголя и способы защиты от последствий отравления алкоголем. Для выполнения этой работы был использован блокатор каналов порина - эрастин - VDAC-связывающая небольшая молекула, которая снижает скорость окисления NADH в изолированных митохондриальных дрожжах, экспрессирующих одну изоформу VDAC2. В качестве объекта исследования использовали митохондрии, выделенные из самцов крыс линии Вистар, которых кормили диетой по методу Либера-ДеКарли [4]. Мы показали, что эрастин стимулирует Ca²⁺-зависимое набухание, полученное у контрольных животных и животных с хронической алкогольной интоксикацией, и, таким образом, инициирует открытие мРТР. Кроме того, мы обнаружили, что эрастин изменяет уровень регуляторов мРТР, таких как CNPаз, VDAC, TSPO и субъединицы *c*. Исследования показали, что эрастин способен вызывать открытие мРТР у животных с хронической алкогольной интоксикацией и может изменять уровень белка в регуляторах мРТР. Эти результаты предполагают наличие комплекса этих белков в митохондриях и тот факт, что этот комплекс играет ключевую роль в регуляции проводимости каналов VDAC в митохондриях печени крыс при хронической алкогольной интоксикации и, следовательно, в регуляции проницаемости мембран митохондрий и запрограммированной гибели клеток при поражении алкоголем.

Работа поддержана грантом РФФИ № 19-75-10005

1. Cunningham CC. et al. The effects of chronic ethanol consumption on hepatic mitochondrial energy metabolism // *Alcohol*. 1990. Vol. 25. P. 127–136.
2. Tikunov A. et al. Closure of VDAC causes oxidative stress and accelerates the Ca(2+)-induced mitochondrial permeability transition in rat liver mitochondria // *Arch Biochem Biophys*. 2010. Vol. 495(2). P. 174-181.
3. Baines C.P. et al. Voltage-dependent anion channels are dispensable for mitochondrial-dependent cell death // *Nat. Cell Biol*. 2007. Vol. 9. P. 550–555.
4. Lieber C. S., DeCarli L. M. Liquid diet technique of ethanol administration: 1989 update // *Alcohol Alcohol*. 1989. Vol. 24(3). P. 197-211.

ВЛИЯНИЕ ШИРОКОПОЛОСНОГО КРАСНОГО СВЕТА НА АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗЫ

EFFECT OF BROADBAND RED LIGHT ON GLUTATHION TRANSFERASE ACTIVITY

Баврина А.П., Малиновская С.Л.

ФГБОУ ВО ПИМУ Минздрава России, Нижний Новгород, annabavr@rambler.ru

В настоящее время накоплен многочисленный экспериментальный и клинический материал, посвященный влиянию низкоинтенсивных светодиодных и лазерных излучений на клетки, ткани, органы и организм в целом. В то же время, в медицине наиболее широко используется низкоинтенсивный свет красного диапазона, способный проникать на наибольшую глубину и влиять на функциональное состояние клеток, тканей и

органов. Несмотря на многообразие работ, представленных в литературе, многие вопросы, касающиеся влияния низкоинтенсивного красного света, остаются малоизученным или неизученными вовсе; существующая информация разрознена и факты часто не связаны между собой. Большинство имеющихся работ представляют положительное воздействие красного света на поврежденные органы, как факт, совершенно не уделяя внимания механизмам подобного восстанавливающего эффекта. По нашему мнению, можно выделить три основных, заслуживающих внимания, акцептора низкоинтенсивного красного света: СОД, цитохром *c*-оксидаза и нитрозильные комплексы. Однако до сегодняшнего времени не существует единой теории воздействия низкоинтенсивного электромагнитного излучения на живой организм. Поэтому поиск ранее неизвестных компонент системы реагирования живых тканей на низкоинтенсивные электромагнитные излучения представляется чрезвычайно важным в связи с перспективой не только расширить и углубить общие представления о механизмах фотобиологического действия низкоинтенсивного света, но и связать существующие на данный момент теории в единое целое.

Моделирование развития радиационно-индуцированной болезни сердца и легких осуществляли путем локального облучения области сердца крыс ($n=67$) ионизирующей радиацией в дозе 9 Гр. Животные были разделены на 5 групп: «интактная группа» - не подвергалась воздействию ни гамма-излучения, ни широкополосного красного света; «контроль» - облучение области сердца гамма-излучением, забор материала через 24 часа; «опыт» - облучение области сердца гамма-излучением, затем один сеанс облучения широкополосным красным светом, забор материала через 24 часа; «хронический контроль» - облучение области сердца гамма-излучением, забор материала через 72 часа; «хронический опыт» - облучение области сердца гамма-излучением, затем четыре ежедневных сеанса облучения широкополосным красным светом, забор материала через 72 часа. В эксперименте использовался широкополосный свет сверхъяркого светодиода ($\lambda=630$ нм), интенсивность света в зоне светового пятна 5 мВт/см². Каждый сеанс облучения широкополосным красным светом длился 20 минут.

При исследовании активности глутатион-S-трансферазы (GST) в сыворотке крови контрольных групп животных наблюдалось значительное снижение активности фермента, в группе «хронический контроль» происходило уменьшение активности GST в 5,7 раза по сравнению с нормой. В то же время, в сыворотке крови животных опытных групп наблюдалось статистически значимое восстановление активности фермента по сравнению с контрольными группами, что свидетельствует о полной нормализации активности антиоксидантного фермента после коррекции нарушений низкоинтенсивным красным светом. В сердечной и легочной тканях крыс изменение активности фермента имело несколько иной характер. В первые часы после облучения ионизирующей радиацией в этих тканях происходило статистически значимое увеличение активности GST выше нормальных значений. Такое повышение активности может быть связано с разрушением клеточ под действием гамма-излучения и выходом цитозольной GST за пределы клетки. Затем при развитии лучевой патологии наблюдалось заметное угнетение активности антиоксидантного фермента. Животные группы «хронический опыт» показали полное восстановление активности GST во всех исследуемых тканях. Результаты по группам (моль/л•мин): «интактная группа» – сыворотка $24,5 \pm 3,6$, сердечная ткань $44,6 \pm 2,8$, легочная ткань $54,5 \pm 1,8$; «контроль» - сыворотка $10,6 \pm 5,9^*$, сердечная ткань $49,2 \pm 1,8^*$, легочная ткань $60,2 \pm 2,1^*$; «хронический контроль» - сыворотка $4,28 \pm 1,59^*$, сердечная ткань $35,3 \pm 3,3^*$, легочная ткань $35,2 \pm 3,0^*$; «опыт» - сыворотка $20,6 \pm 5,52$, сердечная ткань $45,1 \pm 0,33$, легочная ткань $51,6 \pm 1,5^*$; «хронический опыт» - сыворотка $23,9 \pm 0,59$, сердечная ткань $43,3 \pm 0,5$, легочная ткань $53,8 \pm 2,0$ (* - статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) в сравнении с интактной группой). Важным является факт, что активность фермента ни в одной из опытных групп не поднималась выше нормальных значений, что свидетельствует об отсутствии повреждающего эффекта, исходящего от низкоинтенсивного красного света.

Таким образом, полученные результаты, показавшие возможность реактивации GST широкополосным низкоинтенсивным красным светом, свидетельствуют о возможном радиопротекторном действии света данного диапазона. Кроме того, опираясь на полученные данные, удалось связать ранее существующие гипотезы действия низкоинтенсивного красного света на живые ткани в единое целое и предложить дополненный механизм влияния света данного диапазона на биообъекты.

ОЦЕНКА РЕОЛОГИЧЕСКИХ ДЕТЕРМИНАНТ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА С ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИЕЙ В СРАВНЕНИИ С АНАЛОГИЧНЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ

EVALUATION OF THE RHEOLOGICAL DETERMINANTS OF HUMAN BLOOD WITH IRON DEFICIENCY ANEMIA IN COMPARASION WITH SIMILAR BLOOD PARAMETERS OF HEALTHY PEOPLE

Белкин А.В., Дубровский В.Н., Елифанов А.В., Маслакова К.Ю., Нагорнова П.В., Шалабодов А.Д.
Институт Биологии, г. Тюмень, a.v.belkin@utmn.ru, blatedrane@gmail.com

Одним из важнейших функциональных показателей крови является способность эритроцитов к упругой деформации, что позволяет им доставлять кислород по сосудистой системе капилляров, диаметр которых

значительно меньше диаметра самих эритроцитов. Изменения деформабильности является одной из наиболее лабильных характеристик крови, а также она зависит от воздействия различных факторов и ряда патологий. Нами было исследовано влияние железодефицитной анемии на способность эритроцитов человека к упругой деформации.

Оценивалась деформабильность эритроцитов пациентов с железодефицитной анемией методом лазерной дифрактометрии в сравнении с деформабильностью эритроцитов здоровых людей. Кроме того, проводилась оценка различий в флуоресцеин-зависимой флуоресценции цельной крови больных ЖДА.

Показатель деформабильности объективно оценивается с помощью специального прибора - лазерного дифрактометра, в основе которого заложен принцип дифракции лучей гелий-неонового лазера на эритроцитах, выступающих в качестве взвешенных в вязкой среде рассеивателей. Далее видеосигнал выводится на монитор компьютера и программно анализируется в специально разработанной программе.

Всего было обследовано 60 человек обоего пола в возрасте от 20 до 65 лет (26 мужчин и 34 женщины) в период с апреля по май 2019 года. Из них 30 испытуемых были здоровыми, и 30 с железодефицитной анемией.

Исследование проводилось следующим образом: 100 мкл цельной крови помещались в 3 мл 20% раствора Ficoll-400. Далее эта суспензия помещалась при помощи катетера в зазор между вращающейся и неподвижной пластинами ($t=36,6^{\circ}\text{C}$). Изменяя скорость вращения нижней пластины мы на основании закона вязкого трения Ньютона, моделировали различные деформирующие условия, возникающие в зазоре между пластинами. Эритроциты под действием деформирующего воздействия вытягиваются, о чем можно судить, анализируя дифракционную картину, полученную при прохождении луча лазера через суспензию эритроцитов, взвешенных в вязкой среде.

Дифракционная картина отражает форму взвешенных в вязкой среде рассеивателей, а форма зависит от степени напряжения деформирующего воздействия.

Как показали результаты нашего исследования, у больных ЖДА деформабильность эритроцитов достоверно снижалась по сравнению с контрольными показателями, что свидетельствовало об изменении реологических свойств самого эритроцита.

Индекс деформабильности эритроцитов на максимальном усилии сдвига (порядка 15 Н/м^2) для пациентов с железодефицитной анемией (ЖДА) составляет **$0,16 \pm 0,02$**

В норме индекс деформабильности эритроцитов на максимальном усилии сдвига для здоровых людей составляет **$0,27 \pm 0,02$**

Способность эритроцитов противостоять такому воздействию, т.е. есть реологические свойства клеток, заложены в особенностях структурной организации мембраны. Снижение уровня деформабильности эритроцитов у пациентов в ЖДА является следствием снижения гематокрита.

Дополнительно мы измерили интенсивность свечения цельной крови в реакции флуоресцеин-зависимой флуоресценции. Диапазон излучения для больных ЖДА находился в пределах от 511 до 530 нм. Для здоровых людей был характерен диапазон от 573 нм до 585 нм.

Приведенные в работе методы могут способствовать более корректной оценке изменчивости реологических характеристик при различных патологиях, более оптимальному влиянию на формирование количественных характеристик реологических свойств и одновременно служить источником новых знаний о морфофункциональном состоянии эритрона.

МЕХАНИЗМЫ ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ ПАКСИЛЛИНА ПРОТИВ Cd^{2+} -ИНДУЦИРОВАННОЙ ТОКСИЧНОСТИ И КЛЕТочНОЙ СМЕРТИ

MECHANISM(S) OF PROTECTIVE ACTION OF PAXILLINE AGAINST Cd^{2+} -INDUCED TOXICITY AND CELL DEATH

Беляева Е.А.

ИЭФБ РАН, Санкт-Петербург, alenab61@mail.ru

Используя в качестве экспериментальной модели две клеточные линии крысы - PC12 и AS-30D, а также изолированные митохондрии печени крысы (МПК), мы исследовали механизмы защитного действия паксиллина (блокатора Ca^{2+} -активируемых калиевых каналов большой проводимости, BK(Ca)) против токсических эффектов Cd^{2+} , являющегося одним из важнейших и наиболее опасных загрязнителей окружающей среды. Как было выяснено нами ранее и подтверждено в настоящей работе, паксиллин (1 мкМ) снижал на 15-20% и 10-15%, соответственно, некроз PC12 [1] и AS-30D [2] клеток, вызываемый Cd^{2+} . В то же время, нами было обнаружено, что паксиллин не влиял достоверно на Cd^{2+} -индуцированный апоптоз AS-30D клеток. Кроме того, паксиллин, взятый в той же концентрации, достоверно снижал внутриклеточную продукцию активных форм кислорода (АФК) PC12 клетками, усиленную в присутствии Cd^{2+} , и увеличивал внутриклеточную продукцию АФК AS-30D клетками в контроле. Та же концентрация паксиллина вызывала временное снижение скорости максимального, т.е. полностью разобщенного дыхания как AS-30D, так и PC12 клеток. В частности, этот BK(Ca) ингибитор уменьшал скорость разобщенного дыхания обоих типов клеток после непродолжительной инкубации с ним (3-5 часов), которая затем восстанавливалась до контрольных

уровней при увеличении продолжительности инкубации до 24–48 часов. Однако паксиллин не оказывал существенного влияния на изменения митохондриального мембранного потенциала изучаемых клеток и не противодействовал индуцированным Cd^{2+} изменениям скоростей дыхания и мембранной проницаемости изолированных МПК. Молекулярные механизмы защитного действия паксиллина обсуждаются. Работа была проведена в соответствии с Программой фундаментальных научных исследований государственных академий наук по теме «Физиологические и биохимические механизмы гомеостаза и их эволюция», регистрационный номер: АААА-А18-118012290371-3.

1. Belyaeva E.A., Sokolova T.V. Cd(II)-induced cytotoxicity is attenuated by K(+) channels modulators // in: L. Pele, J.J. Powell, S. Kinrade, R. Jugdaohsingh, P. Collery, I. Maynard, A. Badawi (Eds.), Metal ions in biology and medicine, John Libbey Eurotext (Paris) 2011. Vol. 11. P. 133.

2. Беляева Е.А. О влиянии модуляторов Ca^{2+} -активируемых K^+ каналов большой проводимости на клетки AS-30D асцитной гепатомы и изолированные митохондрии печени крыс, подвергавшиеся действию Cd^{2+} // Ж Эвол Биохим Физиол. 2015. Т. 51. С. 225.

ГИПОФРАКЦИОНИРОВАННОЕ ПРОТОННОЕ ОБЛУЧЕНИЕ СОЛИДНОЙ ФОРМЫ АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА У МЫШЕЙ

HYPOFRACTIONATED PROTON IRRADIATION OF THE SOLID FORM OF EHRLICH ASCITES CARCINOMA IN MICE

Белякова Т.А., Балакин В.Е., Заичкина С.И.¹, Розанова О.М.¹, Смирнова Е.Н.¹, Стрельникова Н.С., Шемяков А.Е., Сорокина С.С.¹

Физико-технический центр Физического института им. П.Н.Лебедева РАН, Протвино
¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино

Наиболее перспективным направлением в протонной терапии является апробация режимов гиподифракционирования и даже применения 1–2 фракций, что приводит к повышению разовой дозы облучения опухоли и позволяет сократить продолжительность лечения, что дает возможность преодоления радиорезистентности опухолей и снижения частоты рецидивирования. Технология тонкого сканирующего пучка позволяет снизить интегральную лучевую нагрузку на тело пациента в сравнении с другими методами протонной терапии, а также с современными методами фотонной лучевой терапии. Целью настоящей работы было исследование действия двукратного облучения тонким сканирующим пучком протонов (ТСПП) в суммарной дозе 60 и 80 Гр на рост солидной формы АКЭ и его отдаленных последствий (продолжительность ремиссии, частота рецидивов, лучевые реакции кожи, средняя продолжительность жизни) у мышей-опухоленосителей.

Эксперименты проводили на самцах мышей колонии SHK с массой тела 24–28 г, которых содержали в стандартных условиях вивария ИТЭБ РАН. В каждой группе было по 30 животных. В качестве модели опухолевого роста была использована солидная форма АКЭ, которая является радиорезистентной, быстрорастущей, неместазирующей опухолью мышей. Локальное облучение конечности проводили в водном фантоме на 5-й день после инокуляции, когда опухолевый узел сформировался у всех мышей, на отечественном терапевтическом комплексе протонной терапии «Прометеус» (ФТЦ ФИАН, Протвино) ТСПП с двух встречных направлений сканированием по заданному объему ткани в пике Брэгга. Для определения объема облучаемой мишени получали томограмму мышцы в водном фантоме и с помощью планирующей системы задавали определяемый объем опухоли (GTV), равный среднему размеру 0.47 см³. GTV-объем облучали двумя фракциями по 30 Гр и 40 Гр за фракцию с интервалом 24 ч. После облучения регистрировали показатели противоопухолевой эффективности, характеризующие ранние и отдаленные лучевые последствия: динамику роста АКЭ путем определения объема опухолевого узла еженедельно в течение месяца, ранние лучевые реакции кожи согласно рекомендациям RTOG/EORTC-95, длительность ремиссии, частоту рецидивов АКЭ, среднюю продолжительность жизни (СПЖ).

При сравнении облучения опухоли в суммарных дозах 60 и 80 Гр на скорость роста АКЭ в течение месяца различий выявлено не было. В группе 60 Гр наблюдали регресс опухолевого узла у 77 % мышей, а в группе 80 Гр – у 100 %. В обеих группах облученных мышей значимых различий в динамике гибели не наблюдалось, но максимальная продолжительность жизни для группы 80 Гр составила 21 мес по сравнению с 15 мес в группе 60 Гр. Медиана продолжительности жизни (время, в течение которого погибает 50 % мышей) для группы 40+40 Гр составила 154 сут, а для 30+30 Гр – 114 сут. Облучение по схеме 40+40 Гр оказалось намного эффективнее в отношении рецидивов: 60 % мышей с 8 до 21 мес были без опухолей по сравнению с 30 % в группе с облучением 60 Гр. Первые случаи рецидивов наблюдались на 35 сут, а самые поздние регистрировались через 150 сут после облучения, срок появления и скорость роста рецидивных опухолей была одинакова в обеих группах. Средняя продолжительность безрецидивного периода в группах 30+30 Гр и 40+40 Гр составляла 62 и 85 сут соответственно. Поскольку СПЖ в обеих группах была примерно одинаковой, мы

получили средний суммарный показатель СПЖ для мышей с рецидивами – 108 сут, а без рецидивов – 270 сут. Так как пальпируемый объем опухоли был соизмерим с размером лапы животного, и опухолевый узел примыкал к кожным покровам, то при облучении кожа получала значительную дозу. Лучевые реакции кожи у мышей получивших 80 Гр начали проявляться на 12 сут после облучения, при этом у 67 % мышей они были 1-й степени (умеренная эритема, эпиляция, сухой эпидермит); у 4,2 % – 2-й степени лучевых поражений (яркая эритема, островковый влажный эпидермит, умеренный отек). Далее тяжесть лучевых поражений нарастала: к 16 сут у 83 % мышей наблюдалась 3-я степень лучевых реакций (сливной влажный эпидермит, отек с вдавливанием), а к 19 сут у 46 % наблюдалась 4-я степень поражений, характеризуемая появлением язв и некрозов. Острые лучевые реакции быстро регрессировали и шерстяной покров восстанавливался к 37 сут у 45 % мышей, а к 3 мес после облучения полностью отсутствовали какие-либо изменения кожи. По сравнению группой 60 Гр, эти реакции были выражены значительно сильнее как по частоте встречаемости, так и по тяжести протекания.

В результате проведенных экспериментов получены характеристики противоопухолевой эффективности режима двукратного облучения ТСПП суммарно в дозе 80 Гр GTV-объема для модели солидной формы АКЭ: возможность полной регрессии первичных опухолей, в два раза снижение частоты рецидивов, увеличение медианы продолжительности жизни на 35 %, отсутствие влияния на СПЖ мышей с рецидивами и без рецидивов по сравнению с группой 60 Гр. Полученные закономерности важны для понимания перспектив развития протонной терапии.

ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОЙ И ЛОКОМОТОРНОЙ ФУНКЦИИ ОБОНЯТЕЛЬНОГО АНАЛИЗАТОРА

POWER SUPPLY OF CHEMICAL AND LOCOMOTOR FUNCTIONS OF THE OLFACTORY ANALYZER

Бигдай Е.В., Самойлов В.О.

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, г. Санкт-Петербург, E-mail: bygdai50@mail.ru

Обонятельные клетки принадлежат клеткам жгутикового типа. Их апикальный полюс увенчан обонятельными жгутиками (ОЖ). Они представляют собой тонкие выросты плазматической мембраны ольфакторных клеток диаметром около 0.2 – 0.3 мкм и длиной до 150 мкм. Обонятельные жгутики проявляют хемосенсорные свойства. Именно с ними связан процесс обонятельного восприятия. Оно начинается с взаимодействия молекулы пахучего вещества с мембранным рецептором локализованным в дистальном отделе ОЖ. Помимо обонятельных рецепторов (ОР) в обонятельных жгутиках сосредоточены компоненты внутриклеточных сигнальных систем. Как только ОР связывается с пахучей молекулой, инициируется каскад событий, который преобразует химическую энергию связывания в рецепторный потенциал. Если при этом мембранный потенциал деполяризуется на 20 мВ в аксоне обонятельной клетки генерируется потенциал действия, который затем распространяется вдоль аксона до обонятельной луковицы. Лучшее понимание механизма обонятельной трансдукции изучена внутриклеточная сигнальная система cAMP. Однако посредством прижизненной флуоресцентной микроскопии с применением фармакологического анализа нами было показано, что процесс обонятельной трансдукции присущи гетерогенные свойства. Это означает, что в восприятии каждого из исследуемых нами пахучих веществ принимает участие присущая ему внутриклеточная сигнальная система. Механизм обонятельной трансдукции сопровождается гидролизом АТФ. Хемотрансдукция требует значительного содержания этого макроэрга особенно при длительной стимуляции. В режимах интенсивного воздействия одорантов, как это происходит в природе, потребление АТФ увеличивается. Этот макроэрг генерируется в результате окислительного фосфорилирования в митохондриях обонятельной булавки и гликолиза в цитозоле дистальных отделов жгутиков с использованием глюкозы, усваиваемой из обонятельной слизи. Вместе с тем, АТФ необходим не только для хемотрансдукции. Этот макроэрг обеспечивает энергией и вторую функцию обонятельных жгутиков — механорецепторную. У всех позвоночных животных, включая человека, в отсутствие в среде пахучих стимулов ОЖ движутся. Они совершают неупорядоченные движения в режиме рыскания, сканируя обширную область пространства словно в поиске пахучих веществ. Вероятно, именно рыскающие движения представляют собой один из механизмов высокой чувствительности обонятельного анализатора, так как при рыскании повышается вероятность их встречи с молекулами пахучего вещества. Обонятельным жгутикам присуща способность активировать гидролиз АТФ и повышать содержание цАМФ в цитозоле благодаря своей локомоции. В результате на мембране ОЖ возникает не стимулируемая одорантами электрическая активность в обонятельных клетках, что совместно с функционированием хемотрансдукции обеспечивает высокую чувствительность обонятельного анализатора. Как показали наши исследования, стимуляция одорантами упорядочивает жгутиковые движения. По данным наших экспериментов, источником энергии для локомоторной, также как и для хемосенсорной активности жгутиков, служит АТФ, поскольку на фоне ингибиторов клеточного дыхания они останавливаются. Следует отметить, что синтез АТФ в митохондриях обонятельных клеток, необходимый для обеспечения обоих видов двигательной

активности ОЖ, осуществляется разными путями. Движения ОЖ вне действия стимула снабжаются энергией АТФ, синтезируемой в митохондриях, тогда как под действием пахучих молекул включается дополнительный путь синтеза макроэрга — переход на окисление сукцината. Таким образом, для хемосенсорной и механосенсорной функций ОЖ необходим АТФ, генерируемый в результате окислительного фосфорилирования в обонятельной булаве и гликолиза в дистальном отделе жгутика с использованием глюкозы из обонятельной слизи.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2014 — 2020 годы (ГП-14, раздел 63).

СОКРАТИТЕЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК СОСУДОВ ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ

CONTRACTILE REACTIONS OF VASCULAR SMOOTH MUSCLE CELLS IN METABOLIC SYNDROME

Бирулина Ю.Г., Смазлий Л.В., Светлякова А.В., Ефремкина Е.П., Носарев А.В.
ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, г. Томск, birulina20@yandex.ru

Метаболический синдром (МС) является одной из наиболее актуальных проблем современной медицины и представляет собой кластер факторов повышенного риска развития сердечно-сосудистых заболеваний и сахарного диабета 2 типа [1]. Дисбаланс выработки адипокинов, инсулинорезистентность, дисрегуляция метаболизма липидов, окислительный стресс и системное воспаление при МС способствуют развитию эндотелиальной дисфункции и повреждению гладкомышечных клеток (ГМК) кровеносных сосудов. ГМК занимают центральное место в регуляции просвета сосудов, а, следовательно, системного артериального давления. В результате альтернации их сократительной функции, диспропорциональности эффектов вазоконстрикторных и вазодилатационных эндотелиальных факторов нарушается регуляция сосудистого тонуса, повышается внутрисосудистое сопротивление, увеличивается чувствительность сосудистой стенки к прессорным воздействиям, что в конечном итоге приводит к развитию артериальной гипертензии [2]. Цель исследования – изучить сократительную активность гладкомышечных сегментов аорты крыс с метаболическим синдромом.

В качестве объекта исследования использовали 10 крыс-самцов линии Wistar, которых случайным образом распределили на контрольную и опытную группу (по 5 животных в каждой группе). Крысы контрольной группы содержали на стандартной диете с калорийностью 250 ккал/100 г пищи. Крысы опытной группы в течение 12 недель находились на комбинированной высокожировой диете с повышенным содержанием углеводов (high fat and high fructose (HFHF) diet): 22% жиров (лярд) и 17% фруктозы добавлены к стандартному корму вместе с 20% фруктозы в питьевой воде [3]. Потребление пищи и жидкостей давали *ad libitum* и контролировали еженедельно. Изучение сократительной активности изолированных гладкомышечных сегментов аорты крыс контрольной и опытной групп выполняли методом механографии. Механическое напряжение гладкомышечных клеток сосудов в условиях, близких к изометрическим, регистрировали с помощью четырехканальной системы Myobath II (Германия). В качестве предсокращающих факторов использовали калия хлорид (КСl, 30 мМ) и фенилэфрин (1 мкМ). Амплитуду сократительных ответов сосудистых сегментов рассчитывают в процентах от амплитуды контрольного (100%) гиперкалиевого или ФЭ-индуцированного ответа.

В ответ на добавление холиномиметика ацетилхолина, натрия нитропруссид (донор NO) в концентрациях от 10 нМ до 1 мМ происходило снижение сократительных реакций интактных изолированных сегментов аорты крыс контрольной и опытной группы, вызванных калия хлоридом и фенилэфрином. Однако у крыс с метаболическим синдромом наблюдалось подавление релаксирующего действия на ГМК ацетилхолина и натрия нитропруссид ($p < 0,05$). Дозозависимый констрикторный эффект альфа1-адреномиметика фенилэфрина (10 нМ до 100 мкМ) сосудистых сегментов крыс с метаболическим синдромом незначительно усиливался по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Полученные результаты свидетельствуют о нарушении сократительной функции ГМК сосудов крыс с метаболическим синдромом.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Томской области в рамках научного проекта № 19-415-703015.

1. Potenza M.V. Mechanick J.I. The metabolic syndrome: definition, global impact, and pathophysiology // *Nutr. Clin. Pract.* 2009. Vol. 24(5). P. 560–577.
2. Panchal S.K. et al. High-carbohydrate High-fat Diet-induced Metabolic Syndrome and Cardiovascular Remodeling in Rats // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2011. Vol. 57. P. 51–64.
3. Gancheva S. et al. Experimental models of metabolic syndrome in rats // **Scripta Scientifica Medica. 2015. Vol. 47, N. 2. P. 23–30.**

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ ВНОВЬ СИНТЕЗИРОВАННОГО СОЕДИНЕНИЯ ФС-ГИПОКАРД (НИТРОКСИМЕКСИДОЛ) И ПРЕПАРАТОВ СРАВНЕНИЯ МЕКСИДОЛ И НИКОРАНДИЛ НА ДЫХАТЕЛЬНУЮ ЦЕПЬ МИТОХОНДРИЙ СЕРДЦА, ПЕЧЕНИ И МОЗГА И ПРОДУКЦИЮ ОКСИДА АЗОТА В ЭТИХ КЛЕТКАХ

ACOMPARATIVE STUDY OF THE EFFECT OF THE NEWLY SYNTHESIZED COMPOUND NITROXYMEXIDOL AND THE COMPARISON DRUGS MEXIDOL AND NICORANDIL ON THE RESPIRATORY CHAIN OF THE MITOCHONDRIA OF THE HEART, LIVER AND BRAIN AND THE PRODUCTION OF NITRIC OXIDE IN THESE CELLS

Богатыренко Т.Н.^{1,3}, Куроптева З.В.², Байдер Л.М.², Богатыренко В.Р.¹, Мищенко Д.В.^{1,3}

¹Институт Проблем химической физики РАН, Моск. обл.,Черноголовка. E-mail: btn@icp.ac.ru

²Институт Биохимической физики им. Н.Н.Эмануэля РАН, Москва.

³Научно-образовательный центр Московского государственного областного университета в г.Черноголовка, Мытищи.

К настоящему времени показано, что окислительный стресс лежит в основе многих патологических состояний в организме. Интенсификация свободно-радикальных (СР) процессов инициирует цепные реакции перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мембранах, повреждая их, что приводит к нарушению энергетического обмена в тканях и возникновению гипоксии. Повреждающее действие гипоксии лежит в основе таких заболеваний как ишемическая болезнь сердца (ИБС). Ишемия сопровождается снижением активности эндогенной антиоксидантной системы. Для ослабления патологических последствий, вызванных СР процессами ПОЛ, одной из действенных мер является введение экзогенных соединений, ингибирующих эти свободно-радикальные процессы. Ими являются экзогенные антиоксиданты (АО). Одним из таких АО является мексидол (2-этил-6-метил гидроксипиридина сукцинат). Это комплексное соединение, содержащее в своем составе сукцинат с антигипоксическими свойствами и этилгидроксипиридин с антиоксидантными свойствами. Значимым последствием СРО липидов при гипоксии, вызывающей ИБС, является сокращение гладкой мускулатуры, нарушение проницаемости сосудов и возникновение коронарораспазма, так как окисленные липиды обладают и вазоконстрикторным действием. Известно также, что оксид азота (NO) играет важную роль в регуляции тонуса сосудов, но окисленные липиды снижают синтез NO в организме и уменьшают эндотелийзависимую вазодилатацию. Поэтому в медицине в комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний антиоксидантные препараты часто используют на фоне терапии нитратами, активность которых связана со способностью *in vivo* высвобождать NO. К этой же группе относится и такой известный донор NO как никорандил.

Новым направлением создания эффективных кардиопротекторов является синтез полифункциональных веществ, в состав которых входит известное вещество, к которому присоединяется фрагмент, способный осуществлять NO-донорную функцию. К веществам такого типа и относится синтезированное в ИПХФ РАН соединение ФС-гипокард (фармакологическая субстанция 2-нитроксисукцинат-3-окси-6-метил-2-этилпиридин). Это известный гипоксант мексидол, к которому присоединена нитрогруппа.

В задачу наших исследований входило сравнительное изучение методом ЭПР его влияния (в сравнении с мексидолом и никорандилом) на ткани сердца, печени и мозга экспериментальных животных.

Методом ЭПР исследовано влияние ФС-гипокард на ткани сердца, мозга и печени экспериментальных животных (мышей линии VDF1). Показано, что ФС-гипокард приводит к увеличению продукции оксида азота в клетках, как никорандил и, как мексидол, защищает железосерные центры дыхательной цепи митохондрий сердца, мозга и печени в составе целостных тканей животных от окислительного повреждения, повышает степень оксигенации гемоглобина. Приведены экспериментальные данные, что наблюдаемое поддержание железосерных центров митохондрий в восстановленном рабочем состоянии (в условиях окисления) обусловлено присутствием в составе ФС-гипокард метаболита цикла трикарбоновых кислот - сукцината (в форме нитроксияблочной кислоты).

Таким образом, ФС-гипокард проявляет многоплановое положительное действие.

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ПАРАМЕТРОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ КРОВИ КРЫС СО СПОНТАННОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ (SHR)

AGE RELATED CHANGES IN SOME MARKERS OF ANTIOXIDANT DEFENSE SYSTEM IN BLOOD OF SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS

Бочкова Ж.В., Байжуманов А.А., Браже Н.А., Никельшпарг Э.И., Трофимова Л.К.

МГУ им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра биофизики, zh.bo4kova@yandex.ru

Эссенциальная гипертензия до настоящего времени является одной из нерешённых медицинских проблем. При несвоевременном лечении стойкое повышение артериального давления приводит к развитию таких опасных заболеваний как инфаркт миокарда, сердечная или почечная недостаточность, нарушения мозгового кровообращения. В настоящем исследовании в качестве модели развития эссенциальной гипертензии была использована линия крыс со спонтанной гипертензией (SHR), которую считают наиболее адекватной моделью развития этой патологии у человека [1]. Целью исследования было изучить, как длительное стойкое повышение артериального давления влияет на параметры, являющиеся маркерами антиоксидантной защиты.

В экспериментах использовали 15 и 28 недельных самцов инбредных белых крыс линии SHR, контролем к ним служили самцы этого же возраста линии Wistar-Kyoto (WKY), выращенные в питомнике лабораторных животных «Пушино». В каждой контрольной и экспериментальной группе было по 6 животных. Животных содержали в стандартных условиях вивария (температура воздуха $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 12-часовое искусственное освещение) при свободном доступе к воде и корму. Все эксперименты проводили в соответствии с этическими принципами и нормативными документами, рекомендованными Европейским научным фондом (ESF) и Хельсинской декларацией о гуманном отношении к животным.

Состояние антиоксидантной системы оценивали, измеряя в крови и плазме крови супероксиддисмутазную и глутатионпероксидазную активности, количество небелковых тиолов, церулоплазмина и ТБК-активных продуктов. При обработке результатов применяли непараметрический критерий Вилкоксона.

Известно, что у крыс SHR наблюдается стойкое повышение артериального давления уже с 6 недели жизни [2]. У 15 недельных крыс нами было обнаружено почти 1,5 кратное увеличение артериального давления по сравнению с контрольными животными. Однако длительное повышение артериального давления никак не влияло на такие параметры антиоксидантной защиты, как супероксиддисмутазную и глутатионпероксидазную активности плазмы крови и количество небелковых тиолов в крови на всем протяжении эксперимента.

Количество ТБК-активных продуктов достоверное не отличалось у контрольных и опытных крыс одного возраста, однако оно почти в 1,5-1,8 раза отличалось у 15 и 28 недельных животных, что по видимому связано с интенсификацией процессов перекисного окисления липидов у более взрослых животных.

Было показано, что в плазме крови крыс линии SHR с возрастом повышается общая антиоксидантная активность, которую определяли по способности образцов плазмы крови восстанавливать железо. Одними из основных неферментных антиоксидантов плазмы крови являются ураты. Известно, что уровень уратов может повышаться при развитии почечной недостаточности, что в свою очередь видимо и является причиной повышения общей антиоксидантной активности плазмы крыс SHR [3].

Обнаружено, что в плазме крови крыс линии SHR уровень церулоплазмина выше по сравнению с контролем, причем с возрастом уровень церулоплазмина возрастает в обеих группах животных. Церулоплазмин в последнее время рассматривают как перспективный маркер кардиоваскулярных заболеваний. С одной стороны это антиоксидантный белок, так как он обладает супероксиддисмутазной, а также ферроксидазной активностью, благодаря чему способен окислять двухвалентное железо до его менее токсичной трехвалентной формы. С другой стороны, было показано, что он обладает NO-оксидазной активностью и снижает биодоступность NO в крови, а также способен инициировать окисление липопротеидов, приводя к повышению уровня липопротеидов низкой плотности и, как следствие, к развитию атеросклероза [4,5]. Оба этих фактора могут вносить свой вклад в развитие сердечно-сосудистых патологий.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант 18-34-00503 мол_a).

1. Doris P.A. Genetics of hypertension: an assessment of progress in the spontaneously hypertensive rat //Physiological genomics. 2017. Vol. 49 № 11 P. 601-617
2. Сидехменова А.В., и другие. Тромбоциты у крыс линии SHR в различные периоды формирования артериальной гипертензии // Фундаментальные исследования. 2015. № 1-7. С. 1439-1442.
3. Xue H-Y, et al. Resveratrol ameliorates renal injury in spontaneously hypertensive rats by inhibiting renal micro-inflammation // Bioscience Reports. 2016. Vol. 36(3):e00339.
4. Yifei Xu, et al. Ceruloplasmin and the Extent of Heart Failure in Ischemic and Nonischemic Cardiomyopathy Patients // Mediators of Inflammation. Vol. 2013, Article ID 348145, 7 pages, 2013.
5. Dadu RT, et al. Ceruloplasmin and Heart Failure in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study //Circulation. Heart failure. 2013. Vol 6(5). P. 936-943.

ПРИРОДНЫЕ И СИНТЕТИЧЕСКИЕ ВИТАМИНЫ.

NATURAL AND SYNTHETIC VITAMINS

Бубнова И.В.

ООО “Амвей”, Санкт-Петербург, E-mail: bubnova_1944@mail.ru

В 21 веке – веке технического прогресса и новых технологий, миллионы людей испытывают дефицит витаминов и минералов, необходимых для сохранения здоровья. Современная фармацевтическая промышленность предлагает огромное количество синтетических витаминов, призванных обогатить пищевой рацион человека. Но аналогичны ли они природным и насколько они безопасны? Цель данного сообщения – акцентирование внимания медицинского сообщества на этом вопросе.

В организме человека витамины и минералы поступают с пищей в виде комплексов, содружеств, которые сохраняют их стабильность, предотвращая окисление.

В качестве примера возьмём витамин С. Это комплекс из 6 изомеров аскорбиновой кислоты, которые взаимодействуют с 8 изомерами токоферола (витамин Е) и каротином. Кроме того, этот комплекс включает фитонутриенты – пигменты с антиоксидантными свойствами и минералы. Взаимоотношения в этом комплексе являются синергетическими. Природные витамины не вступают в химические реакции с образованием свободных радикалов, имеют правовращающие формы (хиральность), как все элементы человеческого организма, поэтому хорошо усваиваются и являются безопасными [1, 2]. Например, все семь витаминов группы В полноценно функционируют только вместе, иначе нарушается гармония и снижается синергетический эффект.

Любой производитель, поставивший перед собой задачу максимального сохранения свойств натуральных витаминов и биологических веществ, сталкивается с дорогостоящими и трудоёмкими технологиями, включающими процессы холодного высушивания, холодного отжима и замораживания, которые сохраняют структуру, свойства и безопасность природных витаминов. Современные технологии производства синтетических витаминов даже из природных материалов позволяют получить только химическую формулу вещества, лишённого изомеров, фитонутриентов, а также взаимосвязей с другими витаминами, пигментами и минералами. Разрушается природный комплекс, исчезает природная синергия. Кроме того, появляются левовращающие формы, которые организмом не усваиваются. Искусственно синтезированная форма является химически активной, способной образовывать новые вещества, являющиеся свободными радикалами, опасными для жизнедеятельности человека. Присутствие нескольких синтетических витаминов в одной среде не приводит к восстановлению природных взаимосвязей, но увеличивает возможность опасной полипрагмазии.

Таким образом, синтетические витамины и синтетические биологические добавки в отличие от природных могут провоцировать целый ряд неблагоприятных побочных явлений, не являются безопасными и не способны устранить существующий дефицит жизненно необходимых витаминов, минералов и фитонутриентов для сохранения здоровья человека.

1. Atkins R.C. New Diet Revolution. New York, 2002. 253 p.

2. Твердислов В.А. Хиральность как первичный переключатель иерархических уровней в молекулярно-биологических системах // Биофизика. 2013. Т. 58, Вып. 1. С. 159–164.

ВЛИЯНИЕ АДЕНИЛОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ НА ПРОЦЕСС ФИБРИЛЛОБРАЗОВАНИЯ МОЛЕКУЛ ИНСУЛИНА

INFLUENCE OF ADENYL NUCLEOTIDES ON THE FIBRILLATION PROCESS OF INSULIN MOLECULES

Буланова К.Я., Шубенок Е.А., Богданова Н.В., Белявская К.А., Лобанок Л.М., Квасюк Е.И.

Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А.Д. Сахарова, г. Минск, bulanova_home@tut.by

Важнейшей проблемой сахарного диабета (СД) является необходимость заместительной терапии, для которой изначально использовали инсулин, выделенный из поджелудочной железы свиней, либо крупного рогатого скота, аминокислотный состав которых имеет незначительные отличия от человеческого (по 1-ой аминокислоте со свиным и по 3-м с бычьим). Однако при длительном использовании чужеродного инсулина у человека появлялись антитела, развивалась резистентность к вводимому препарату, что усугубляло положение больных людей. Переход на рекомбинантный человеческий инсулин позволил решить проблему видовой несовместимости. Однако инъекционный инсулин при действии средовых факторов, термических и механических факторов оказался способным приобретать структурные изменения вследствие преобразования α -цепей в β -цепи - складчатые структуры, при которых глобулы инсулина приобретают способность к спонтанной самоассоциации, что приводит к потере их функциональной активности. Аналогичные процессы

возникают в местах подкожных инъекций растворов рекомбинантного человеческого инсулина, что увеличивает риск выработки антител, стимуляции аллергических реакций [1]. Самоассоциаты инсулина также обнаруживаются на внутренних поверхностях сосудов больных СД. Таким образом, потребности инсулинотерапии при СД вызывают необходимость поиска соединений, способных в условиях *in vitro* и *in vivo* (из-за отсутствия шаперона 72 при СД2) стабилизировать структуру инъекционного инсулина.

Цель исследований – выявить и испытать в экспериментах соединения, способные ингибировать процессы самоассоциации молекул инсулина, что позволит подойти к решению проблемы сохранности нативных свойств молекул инсулина в препаратах, выпускаемых в Беларуси.

Среди соединений, кандидатов для использования в качестве стабилизаторов структуры молекул инсулина, препятствующих их самоассоциации, особое внимание привлекают те из них, которые в норме или в стрессовых ситуациях участвуют в стабилизации или исправлении конформации инсулина, но их недостаток четко обнаруживается у больных СД. К таким молекулам можно отнести ионы Ca^{2+} , Zn^{2+} , а также АТР и диаденозин-5',5'''-Р1,Р4-тетрафосфат (Ar_4A) – алармон, одна из функций которого состоит в сохранении нативной структуры белковых молекул в стрессовых ситуациях за счет аллостерических влияний [2].

Фибриллы инсулина были получены путем инкубирования суспензии препарата (1 мг/мл) при температуре 50°. Дополнительное механическое воздействие на молекулы осуществляли при перемешивании с помощью магнитных мешалок. Для контроля за процессом образования амилоидных фибрилл из инсулина был использован флуоресцентный зонд тиофлавин Т (ThT). Инкубирование проводили в течение 24 часов с периодическим измерением интенсивности флуоресценции ThT.

Обнаружено, что Ar_4A в концентрации 10^{-3}M оказался способным снизить величину максимальной интенсивности флуоресценции по сравнению с контролем в 2,02 раза. Учитывая возможности взаимодействия Ar_4A с молекулами белков, как в виде цельного соединения, так и в форме продуктов его распада на АТР и АМР или на две молекулы АДР, то следующим этапом исследований было изучение влияния АТР, АДР, АМФ и аденозина на процессы фибриллообразования молекул инсулина.

Известно, что АТР-магниевая соль является функционально необходимой для регуляции и активации внутриклеточных процессов. Но натриевая соль АТФ используется при инъекциях для восполнения дефицита данного макроэрга. Обнаружено, что Mg-ATP и $\text{Na}_2\text{-ATP}$ в одинаковой мере влияли на процесс ингибирования фибриллообразования молекул инсулина, достигая снижения максимума интенсивности флуоресценции в 2,85 раза по сравнению с контролем. То есть, ионы металлов, входящие в состав АТФ, очевидно, не являются решающими для влияния на процессы ингибирования фибриллообразования молекул инсулина. Отдельное введение ионов, включая Ca^{2+} и Zn^{2+} подтвердили эти предположения.

АДР в концентрации 10^{-3}M , вызвал снижение интенсивности флуоресценции в 1,24 раза, по сравнению с контролем. АМФ и аденозин не влияли на процесс фибриллообразования молекул инсулина. Несмотря на то, что основными структурами молекул нуклеотидов, взаимодействующими с гидрофобными частями белков, являются сахара и адениновое кольцо, уменьшение количества фосфатов приводит к изменению влияния на процесс фибриллообразования.

В ходе проведенного эксперимента было показано, что адениловые мононуклеотиды и динуклеотид оказывают влияние на процесс самоассоциации молекул инсулина, но в разной степени в зависимости от структуры молекулы: $\text{ATP} < \text{Ar}_4\text{A} < \text{AMP} = \text{аденозин}$.

1. Westermarck P. Islet amyloid polypeptide, islet amyloid, and diabetes mellitus // *Physiological reviews*, 2011, Vol. 91, № 3, P. 795–826.
2. Nekipelova V.O. Агрегация инсулина в растворах // *Биофармацевтический Журнал*, 2009, Т. 1, № 3, С. 3–9.

ОЦЕНКА СРОДСТВА ОКСИДА АЗОТА(II) К ГЕМОГЛОБИНУ И МИТОХОНДРИАЛЬНЫМ КОМПЛЕКСАМ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ

EVALUATION OF THE AFFINITY OF NITRIC OXIDE(II) TO HEMOGLOBIN AND MITOCHONDRIAL ELECTRON TRANSPORT COMPLEXES

Буравлев Е.А.¹, Владимиров Ю.А., Осипов Ю.А.

РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, evgenii.sci@gmail.com

¹Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

Среди многочисленных реакций оксида азота(II) (NO) наиболее важными являются реакции с кислородом, SH-группами и металлами переменной валентности, которые входят в состав гемовых и негемовых белков. На молекулярном уровне физиологические эффекты оксида азота(II) реализуются, обычно, через взаимодействие с гемовыми и негемовыми белками [1]. Ранее в наших работах было показано, что нитрозильные комплексы гемового железа могут подвергаться фотолизу при действии на них лазерного излучения [2].

Основной целью нашей работы является изучить воздействие низкоинтенсивного лазерного излучения (442 нм) и гемоглобина на нитрозильные комплексы негемового железа митохондрий.

Работа проводилась на митохондриях печени крыс [3]. Для регистрации функционирования дыхательной цепи митохондрий использовали электрохимическую ячейку с кислородным электродом. В качестве субстратов дыхания митохондрий использовали сукцинат натрия и АДФ в конечной концентрации 10 и 0,2 мМ соответственно. В качестве источника гемоглобина использовали лизированные эритроциты крови крыс. Для регистрации спектров ЭПР использовали ЭПР-спектрометр Varian E4 (США). Параметры измерения: центр поля – 0,33 Тл; диапазон сканирования – 40 мТл; постоянная времени – 3,0 с; амплитуда модуляции – $4 \cdot 10^{-4}$ Тл; мощность – 20 мВт.

Результатом действия лазерного облучения 442 нм (в дозах 24, 60 и 120 Дж/см²) или добавления гемоглобина к митохондриям, содержащим оксида азота(II), является фотолиз нитрозильных комплексов негемового железа(II) в митохондриях. В результате добавления гемоглобина к нитрозильным комплексам FeS-белков митохондрий происходит процесс *транс*-нитрозилирования. Этот процесс можно рассматривать как альтернативный путь разрушения нитрозильных комплексов митохондрий. Оксид азота(II) ингибирует работу дыхательной цепи митохондрий и снижает коэффициент дыхательного контроля до 1. После добавления к митохондриям гемоглобина происходит восстановление уровня дыхания до прежнего уровня. Коэффициент дыхательного контроля становится 3,7 (в контрольной группе – 4,0). Облучение лазером с длиной волны 442 нм и дозой 30 Дж/см² на систему NO-митохондрии-гемоглобин значимого эффекта не дало. Коэффициент дыхательного контроля митохондрий при этом увеличился до 3,8

Из приведенных результатов можно предположить, что гемоглобин оказывает положительное воздействие на функционирование митохондрий в присутствии оксида азота(II). Большое сродство оксида азота(II) к гемоглобину способствует его переносу от митохондрий к гему и образованию нитрозогемоглобина, что было нами так же показано методом ЭПР-спектроскопии. С большой долей вероятности можно сказать, что происходит перенос оксида азота(II) от S-нитрозотиолов I и/или II комплексов электроно-транспортной цепи митохондрий к гему эритроцитов. Можно также предположить, что гем имеет большее сродство к оксиду азота(II), чем SH-группы в митохондриях.

1. Vanin A.F. EPR Characterization of Dinitrosyl Iron Complexes with Thiol-Containing Ligands as an Approach to Their Identification in Biological Objects: An Overview // Cell Biochem Biophys. 2018. Vol. 76(1-2). P. 3-17.
2. Dungal P. et al. Illumination with blue light reactivates respiratory activity of mitochondria inhibited by nitric oxide, but not by glycerol trinitrate // Arch Biochem Biophys. 2008. Vol. 471(2) P. 109-115.
3. Lampl T. et al. Isolation and functional analysis of mitochondria from cultured cells and mouse tissue // J Vis Exp. 2015. Vol. 97. P. 1-9.

ЗАВИСИМОСТЬ СКОРОСТИ РАСПРОСТРАНЕНИЯ УПРУГИХ ВОЛН НА ПОВЕРХНОСТИ ГРУДНОЙ КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА ОТ НАПРАВЛЕНИЯ РАСПРОСТРАНЕНИЯ

THE DEPENDENCE OF THE ELASTIC WAVES PROPAGATION SPEED ON THE SURFACE OF THE HUMAN CHEST WALL FROM THE DIRECTION OF PROPAGATION

Веремьева М.В.¹, Дьяченко А.И.^{1,2}, Фомина Е.С.³

¹Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва

²ГНЦ РФ - Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

³ООО «МегаМед Корпорэйшн», Москва

Введение. В медицине для исследования механических свойств биологических тканей и диагностики заболеваний используются виброакустические методы, основанные на возбуждении и регистрации вибраций органов и тканей. При вибрационном воздействии размеры и форма вибрирующего участка поверхности тела зависят от скорости и затухания волн. Поэтому знание особенностей распространения волн на поверхности тела важно для развития виброакустических методов.

В данной работе изучали вопрос об анизотропности распространения волн по поверхности грудной клетки, который ранее не рассматривался. Этот вопрос связан с тем, что грудная клетка анатомически не изотропна: есть выделенные направления распространения волн вдоль и поперёк ориентации рёбер.

Целью работы являлось экспериментальное определение скорости упругих волн, распространяющихся по поверхности грудной клетки человека вдоль и поперёк ориентации рёбер.

Материалы и методы. Эксперимент проводился с использованием макета аппаратно-программного комплекса для создания и регистрации вибраций поверхности грудной клетки [1]. Макет включал: 1) программно управляемый ударник-вибратор (далее «ударник») со встроенным акселерометром, 2) приёмный акселерометр, 3) электронный блок для обработки сигнала, 4) звуковую карту SB Creative Connect.

В эксперименте принимали участие 10 здоровых мужчин-добровольцев в возрасте от 19 до 22 лет.

Место крепления ударника у каждого испытуемого было фиксировано, и находилось в передней правой части грудной клетки, в межреберье. Приёмный акселерометр последовательно крепили в четырёх различных точках на поверхности грудной клетки, в межреберьях, на расстоянии 5 см от ударника. Вдоль того же межреберья, где был расположен ударник, выше и ниже ударника находились соответственно точки «вверх вдоль» и «вниз вдоль». Перпендикулярно к межреберью, где был расположен ударник, выше и ниже него – точки «вверх поперёк» и «вниз поперёк».

В каждом исследовании ударник в течение 15 с постукивал по поверхности грудной клетки. Ускорения ударника и приёмного акселерометра записывались. Для каждой полученной записи находили спектры сигналов обоих акселерометров и передаточную функцию сигналов от ударника к приёмному акселерометру.

Результаты. С помощью фазового метода [1] были найдены скорости распространения упругих волн в направлениях «вверх вдоль» и «вниз вдоль», «вверх поперёк» и «вниз поперёк» ориентации рёбер. Фазовый метод в большинстве исследований выявлял скорости волн в диапазоне до 200 Гц, а на частотах выше 200 Гц – только в отдельных исследованиях. Поэтому оценку влияния направления ограничили частотами до 200 Гц и сгруппировали скорости в двух диапазонах частот: 27-100 Гц и 100-200 Гц.

Согласно критериям Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка, распределение скоростей не является нормальным – уровень статистической значимости p для обоих критериев меньше 0,01. Значения скоростей для разных направлений в диапазоне частот 27-100 Гц: «вверх вдоль» 4,75; 3,18; 5,86 м/с, «вверх поперёк» 3,73; 3,62; 3,96 м/с, «вниз вдоль» 4,14; 3,26; 4,91 м/с, «вниз поперёк» 3,45; 2,73; 4,10 м/с; значения скоростей в диапазоне 100-200 Гц: «вверх вдоль» 9,86; 5,90; 11,32 м/с, «вверх поперёк» 5,54; 4,16; 6,73 м/с, «вниз вдоль» 6,70; 5,32; 7,71 м/с, «вниз поперёк» 6,47; 3,63; 8,83 м/с (медиана; нижний квартиль; верхний квартиль).

При использовании критерия Краскела-Уоллиса обнаружены значимые различия между значениями скоростей во всех направлениях распространения волны для обоих диапазонов частот: в диапазоне 27-100 Гц уровень значимости $p=0,0286$, и в диапазоне 100-200 Гц – $p=0,0021$. Парное сравнение скоростей в каждом из четырёх направлений проведено с использованием U -критерия Манна-Уитни. Эффект множественных сравнений учитывали введением поправки Бонферрони: различия считались статистически значимыми, если $p < 0,05/6 = 0,008$. Для диапазона частот 27-100 Гц обнаружены значимые различия между значениями скоростей в направлениях «вниз вдоль» и «вниз поперёк» с $p=0,005$; для диапазона 100-200 Гц – между следующими направлениями: «вверх вдоль» и «вверх поперёк» с $p=0,001$; «вверх вдоль» и «вниз вдоль» с $p=0,006$.

Заключение. С использованием фазового метода найдены величины скоростей в направлениях вверх и вниз, вдоль и поперёк ориентации рёбер. Проведены сравнения величин скоростей между собой с использованием непараметрических статистических методов. Обнаружены значимые различия между величинами скоростей, полученными в четырёх разных направлениях на поверхности грудной клетки человека.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 15-01-06246.

1. Дьяченко А.И., Тиманин Е.М., Васильев В.Н., Михайловская А.Н., Семенов Ю.С. Разработка метода для исследования грудной клетки с помощью низкочастотных упругих волн // Медицинская техника, 2013, № 2, Стр. 45-47.

РЕДОКС-ФАКТОРЫ В СИНОВИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ И КРОВИ В МЕХАНИЗМАХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И АПОПТОЗА ПРИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ ГОНАРТРОЗЕ

REDOX FACTORS IN SYNOVIAL FLUID AND BLOOD IN MECHANISMS OF OXIDATIVE STRESS AND APOPTOSIS IN POST-TRAUMATIC ARTHROSIS OF THE KNEE

Внуков В.В., Кролевец И.В.¹, Милютин Н.П., Ананян А.А., Плотников А.А., Забродин М.А.¹

ФГАОУ ВПО "Южный федеральный университет", Академия биологии и биотехнологии им. Д.И.Ивановского,
Ростов-на-Дону, e-mail: npmilutina@sfedu.ru

¹ГБОУ ВПО "Ростовский государственный медицинский университет" Минздрава РФ, Ростов-на-Дону

В основе развития артроза лежат такие патологические процессы, как потеря функциональности тканей сустава, воспаление, митохондриальная дисфункция, окислительный стресс и апоптоз клеток сустава. Посттравматический гонартроз (ПТГА) инициируется макротравмой сустава и прогрессирует через последовательность острых и хронических изменений в метаболизме и составе хряща и синовия.

Цель работы - исследование роли редокс-факторов в синовиальной жидкости (СЖ) и крови в молекулярно-клеточных механизмах посттравматического гонартроза.

Обследовано 95 пациентов с ПТГА (50 мужчин/45 женщин), которые были разделены на 3 группы в зависимости от стадии по шкале Kellgren/Lawrence: 1 группа - I стадия, 2 группа - II стадия, 3 группа - III-IV стадии. В качестве контроля исследована СЖ и кровь доноров. Свободно-радикальное окисление (СРО) оценивали по интенсивности люминол-зависимой H_2O_2 -индуцированной хемилюминесценции (ЛХЛ), концентрации стабильных метаболитов оксида азота - нитритов/нитратов (NO_x^-) и содержанию малонового диальдегида (МДА) в СЖ и плазме крови при ПТГА. Состояние прооксидантной системы характеризовали по

активности НАДФН-оксидазы, миелопероксидазы (МПО) и ксантинооксидазы (КО) в мононуклеарной фракции крови. Общий антиоксидантный потенциал (ОАП) плазмы и СЖ определяли в системе гемоглобин-пероксид водорода-люминол. Апоптоз лимфоцитов крови оценивали методом проточной лазерной цитофлуориметрии с использованием набора AnnexinV-FITC apoptosis detection kit 1 (BD Pharmingen, USA).

Установлено, что развитие дегенеративного процесса в тканях сустава при ПТГА сопровождается нарушением свободнорадикального гомеостаза как в синовиальной среде сустава, так и в крови. Это подтверждается повышением высоты медленной вспышки и светосуммы ЛХЛ в СЖ и плазме крови, демонстрируя повышенную способность липидов к перекисному окислению. Изменение параметров ЛХЛ сопровождается повышением интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазме, эритроцитах и СЖ пациентов с ПТГА, что подтверждается возрастанием уровня молекулярного продукта ПОЛ - МДА в обследованных группах пациентов. При этом показана положительная корреляция содержания МДА в СЖ и плазме крови ($R=0,443$; $p=0,008$). При ПТГА содержание стабильных метаболитов оксида азота – нитритов/нитратов (NO_x^-) – в плазме крови в 1-3 группах пациентов увеличивается на 51-61 % относительно нормы, в СЖ возрастает на 40-59 % при сравнении с плазмой крови здоровых людей. В ходе исследования обнаружена корреляционная зависимость между уровнем нитритов/нитратов в плазме и СЖ пациентов с ПТГА 1-3 групп ($R=0,64-0,87$; $p<0,05$). Высокие локальные концентрации $\text{NO}\cdot$ негативно влияют на функции хондроцитов, ингибируя синтез компонентов матрикса – коллагена и протеогликанов, активируя металлопротеиназы, уменьшая экспрессию антагониста рецептора $\text{IL-1}\beta$, ингибируя пролиферацию хондроцитов.

Установлено, что развитие ПТГА сопровождалось снижением общего антиокислительного потенциала (ОАП) плазмы и СЖ в обследованных клинических группах пациентов по сравнению с контролем, что обусловлено сдвигом равновесия в системе прооксиданты \leftrightarrow антиоксиданты в сторону усиления СРО.

Проведенное исследование свидетельствует о повышении активности прооксидантных ферментов: НАДФН-оксидазы, миелопероксидазы, ксантинооксидазы в мононуклеарах пациентов с ПТГА. Активность НАДФН-оксидазы в мононуклеарах крови (лимфоциты, моноциты) возрастает у пациентов с ПТГА трех групп относительно контроля. Обнаружена корреляционная взаимосвязь между активностью НАДФН-оксидазы, степенью деградации хряща и тяжестью патологического процесса. Активность миелопероксидазы, являющейся маркером воспалительной реакции, в мононуклеарной фракции крови трех групп больных ПТГА возрастает на 102-130 % относительно контроля. В СЖ активность МПО возрастает на 268-347 % относительно плазмы крови в норме. Обнаружена корреляционная взаимосвязь между активностью МПО в мононуклеарной фракции крови и синовиальной жидкости 1-3 групп ($R=0,63-0,77$; $p<0,05$) пациентов с ПТГА.

Нарушение редокс-равновесия в крови и, в том числе, в мононуклеарах больных ПТГА приводит к повышению более, чем вдвое количества лимфоцитов в периферической крови, находящихся на стадии раннего апоптоза. Одновременно проведенное электронно-микроскопическое исследование показало, что дегенеративный процесс в суставе при ПТГА характеризуется наличием в хрящевой ткани хондроцитов на различных стадиях апоптоза и некроза, что согласуется с развитием как локального, так и системного окислительного стресса.

Исследование выполнено на оборудовании ЦКП "Высокие технологии" ЮФУ в рамках базовой части госзадания Минобрнауки РФ (проект №6.6762.2017/БЧ).

РЕГУЛЯЦИЯ РЕДОКС-МЕТАБОЛИЗМА КЛЕТОК КАК НОВАЯ СТРАТЕГИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ

REGULATION OF CELL REDOX METABOLISM AS A NEW STRATEGY OF ANTITUMOR THERAPY

*Мартинович Г.Г., Мартинович И.В., Вчерашняя А.В., Зенков¹ Н.К.,
Меньщикова¹ Е.Б., Черенкевич С.Н.*

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь, e-mail: martinovichGG@bsu.by

¹Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины, Новосибирск, РФ

Лекарственная устойчивость опухолевых клеток к действию химиотерапевтических агентов является одним из ключевых факторов недостаточной эффективности современной противоопухолевой терапии. Изучение механизмов адаптации опухолевых клеток к стрессу и разработка способов снижения их резистентности к действию физических, химических и биологических повреждающих факторов является актуальной задачей современной медицинской биофизики. Поскольку в качестве ключевых характеристик трансформированных тканей выделяют нарушения клеточного редокс-гомеостаза [1, 2], коррекция редокс-свойств опухолевых клеток является перспективным подходом для модуляции их химиорезистентности. Однако регуляция редокс-метаболизма с помощью фармакологических препаратов является сложной и до конца не решенной задачей.

Одной из ключевых функций редокс-метаболизма является поддержание окислительно-восстановительного гомеостаза в клетках, для количественной характеристики которого обоснованы новые физико-химические параметры – эффективный редокс-потенциал и редокс-буферная емкость. Регуляция концентрации внутриклеточных окислителей и восстановителей осуществляется в результате сопряженного функционирования специализированных белков, включая комплексы электрон-транспортной цепи митохондрий, НАДФН-оксидазы, супероксиддисмутазы, пероксидазы и др. Кратковременное повышение внутриклеточной концентрации окислителей служит необходимым этапом передачи сигнала в регуляции широкого спектра биохимических и физиологических процессов, включая регенеративные и адаптационные процессы, дифференцировку клеток и апоптоз [3]. Длительный рост концентрации окислителей в результате нарушения редокс-метаболизма вызывает целый комплекс патологических процессов и ответных реакций клетки, ведущих к развитию окислительного стресса и патологии [4]. Важным аспектом современного понимания проблемы редокс-регуляции в биологических системах является обоснование того факта, что нарушение редокс-сигнальных процессов может происходить в результате повышения внутриклеточной концентрации не только окислителей, но и восстановителей, последнее характеризуется как восстановительный стресс.

В опухолевых клетках в сравнении с нетрансформированными клетками наблюдается значительное повышение концентрации восстановителей, в результате которого функциональный ответ трансформированных клеток на внеклеточные сигналы отличается от реакции нормальных клеток. Полученные нами результаты позволяют предположить, что одним из ключевых механизмов, ответственных за формирование устойчивости опухолевых клеток к действию противоопухолевых соединений, является ингибирование программы клеточной гибели вследствие повышения суммарной внутриклеточной концентрации восстановителей, количественно характеризуемой редокс-буферной емкостью [5]. Нами также показано, что синтетические монофенольные серосодержащие антиоксиданты с различной структурой боковых радикалов могут разнонаправлено регулировать редокс-свойства и химиорезистентность опухолевых клеток. Установлено, что при использовании 3,5-диметил-4-гидроксibenзилтиозаноата калия редокс-буферная емкость и резистентность опухолевых клеток к доксорубину увеличивается. При действии 3-(3'-трет-бутил-4'-гидроксибензил)-пропилтиосульфата натрия наблюдается уменьшение редокс-буферной емкости, что приводит к снижению лекарственной устойчивости опухолевых клеток. Таким образом, направленная коррекция редокс-свойств опухолевых клеток приводит к снижению химиорезистентности опухолевых клеток, что открывает новые возможности в разработке новых методов противоопухолевой терапии. В сравнении с другими хемосенсибилизаторами важным преимуществом монофенольных серосодержащих антиоксидантов являются протекторные свойства этих соединений, проявляемые по отношению к нетрансформированным клеткам в условиях патологии и стресса.

1. Trachootham D. et al. Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach? *Nat. Rev. Drug Discov.* 2009. Vol. 8. P. 579-591.
2. Мартинович Г.Г. и др. Редокс-биотехнологии как основа для новой стратегии в противоопухолевой терапии // *Известия НАН Беларуси. Сер. мед. наук.* 2012. №2. С. 85-104.
3. Roy J. et al. Physiological role of reactive oxygen species as promoters of natural defenses // *The FASEB Journal.* 2017. Vol. 31. №. 9. P. 3729-3745.
4. Sies H., Berndt C., Jones D.P. Oxidative stress // *Annu. Rev. Biochem.* 2017. Vol. 86. P. 715-748.
5. Martinovich G.G. et al. Mechanisms of redox regulation of chemoresistance in tumor cells by phenolic antioxidants // *Biophysics.* 2017. Vol. 62. N.6. P. 942-949.

ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ АКТИВАЦИИ КАСПАЗЫ-3, ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО PH И ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА ПРИ АПОПТОЗЕ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ С ВРЕМЕННЫМ РАЗРЕШЕНИЕМ

RELATIONSHIP BETWEEN ACTIVATION OF CASPASE-3, CYTOPLASMATIC PH AND ENERGY METABOLISM IN APOPTOSIS OF TUMOR CELLS BY THE METHOD OF FLUORESCENT LIFETIME MICROSCOPY

А.И. Гаврина^{1,2}, Т.Ф. Ковалева¹, Е.Е. Зеленова¹, В.В. Дуденкова¹, М.В. Ширманова¹, К.А. Лукьянов^{1,3}, Е.В. Загайнова^{1,2}

¹ ФБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, 603005, Нижний Новгород

² Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 603950, Нижний Новгород

³ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва

Апоптоз представляет собой сложный каскад молекулярных событий. В результате его происходит фрагментация клетки без развития воспалительной реакции, поэтому данный тип клеточной гибели наиболее предпочтителен в противоопухолевой терапии. Однако лишь ограниченное количество исследований направлено на изучение взаимосвязей между различными процессами, что предоставило бы более развёрнутые

данные для понимания механизмов апоптоза и поиска новых мишеней различных видов противоопухолевой терапии.

Целью данной работы был мультипараметрический анализ активации каспазы-3, цитоплазматического pH и энергетического метаболизма в живых раковых клетках CT26 *in vitro* и *in vivo* методами флуоресцентного биоимиджинга.

Была использована клеточная линия CT26, стабильно экспрессирующая FRET-сенсор активации каспазы-3 mKate2-DEVD-iRFP, и клеточная линия CT26, стабильно экспрессирующая mKate2-DEVD-iRFP и pH-сенсор SypHer1 [1]. Клетки высевали в стеклянные чашки для флуоресцентной микроскопии по 100 тысяч клеток и культивировали в прозрачной среде DMEM. Для получения микроскопических изображений использовали лазерный сканирующий микроскоп LSM 880 (Carl Zeiss, Германия), укомплектованный FLIM системой (Becker&Hickl GmbH, Германия). Так же опухолевые клетки прививали мышам линии Balb/C подкожно и проводили *in vivo* FLIM-макроимиджинг с использованием конфокального макросканера (Becker & Hickl GmbH, Германия), а также флуоресцентный имиджинг на установке IVIS Spectrum (Caliper Life Sciences, США). Метаболизм оценивали по времени жизни флуоресценции метаболического кофактора НАД(Ф)Н. Апоптоз индуцировали стауроспорином (STS).

В экспериментах *in vitro* было установлено, что изменения цитоплазматического pH и метаболического статуса предшествуют активации каспазы-3 при индукции апоптоза STS [2]. Апоптоз детектировали по увеличению времени жизни флуоресценции донорного белка mKate2 вследствие потери FRET-реакции при активации каспазы-3 через 4-24 часа после воздействия стауроспорином. Относительная амплитуда свободного НАД(Ф)Н (a1) после обработки STS снизилась с $88.14 \pm 1,51\%$ до $57,28 \pm 6,35\%$ уже спустя 15 минут и оставалась на сниженном уровне, что указывает на переход энергетического метаболизма к окислительному фосфорилированию. Так же наблюдалось снижение pH на 0,3 – 0,4 в течении первого часа после воздействия STS во всех клетках вне зависимости от запуска в них, в дальнейшем, апоптоза.

Мы визуализировали флуоресценцию НАД(Ф)Н [3], детектировали активацию каспазы-3 и изменения pH на уровне целых опухолей мышей *in vivo*. После стимуляции процесса апоптоза STS в опухолях мышей наблюдали увеличение времени жизни флуоресценции донорного белка mKate2 с 1.59 ± 0.05 нс до 1.74 ± 0.02 нс, что свидетельствует об активации каспазы-3 и запуске процесса апоптоза. Отмечены изменения pH в сторону закисления у 4 из 6 животных опытной группы. При этом не наблюдалось значимых сдвигов в энергетическом метаболизме через 2 часа после индукции апоптоза. Патоморфологический анализ подтвердил наличие обширных апоптотических полей в опухолях после индукции апоптоза и их отсутствие в опухолях контрольных животных.

Таким образом нами показана возможность мультипараметрического имиджинга активации каспазы-3, цитоплазматического pH и энергетического метаболизма в раковых клетках *in vitro* и *in vivo* при индукции апоптоза. Разработанные методики перспективны для исследования механизмов апоптотической гибели клеток и оценки функционального состояния клеток опухоли при лечении.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (грант № 14.W03.31.0005).

1. O.A. Zlobovskaya, T.F. Sergeeva, M.V. Shirmanova, V.V. Dudenkova, G.V. Sharonov, E.V. Zagaynova, K.A. Lukyanov. *BioTechniques* 60 (2016) 62-68
2. T.F. Sergeeva, M.V. Shirmanova, O.A. Zlobovskaya, A. I. Gavrina, V.V. Dudenkova, M.M. Lukina, K.A. Lukyanov, E. V. Zagaynova. *Biochim, Biophys. Acta* 1864 (2017) 604–611;
3. V.I. Shcheslavskiy, M.V. Shirmanova, V.V. Dudenkova, K.A. Lukyanov, A.I. Gavrina, A.V. Shumilova, E.V. Zagaynova and W. Becker. *Optics Letters* Vol.43, No.13 (2018) 3151-55.

ПРЕДЕЛЬНЫЕ ВРЕМЕННЫЕ ГРАНИЦЫ ОБРАТИМОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ СМЕРТИ КРЫС ПРИ СВЕРХГЛУБОКОЙ ГИПОТЕРМИИ TIME LIMITING

BOUNDARIES OF REVERSIBLE APPARENT DEATH OF RATS DURING ULTRA DEEP HYPOTHERMIA

Гагаринский Е.Л., Аверин А.С., Утешев В.К., Фесенко Е.Е. (мл.)

Институт биофизики клетки Российской академии наук ФИЦ ПНЦБИ РАН, 142290, Пущино, Московской обл., ул. Институтская, 3, E-mail: e.l.gagarinskiy@yandex.ru

В настоящее время накоплен значительный клинический опыт использования небольшого общего переохлаждения организма, т.н. мягкой (32-35°C) и умеренной (28-32°C) гипотермии, для снижения риска возникновения нежелательных осложнений после периода недостаточного кровоснабжения [1,2]. Однако литературные данные о временных и температурных границах сверхглубокой гипотермии (ниже 20°C) носят фрагментарный характер. Вместе с тем сверхглубокая гипотермия актуальна при проведении операций с циркуляторным арестом в качестве основного инструмента защиты от гипоксических повреждений.

Нами исследована выживаемость крыс при сверхглубокой гипотермии ниже 20°C с нижней точкой охлаждения в диапазоне от 1°C до 8°C. Охлаждение проводили путем полного погружения животного в камеру с проточной водой, температура которой регулировалась термостатом. В процессе эксперимента поддерживали искусственную вентиляцию лёгких (ИВЛ) вплоть до прекращения сердечной деятельности при 10°C. Велось отслеживание показателей ректальной температуры животного и электрокардиограммы. В дальнейшем, для восстановления жизнедеятельности крыс отогревали до 36°C с подключением аппарата ИВЛ при появлении первых признаков электрической активности миокарда (при 10°C-12°C).

Проведенное исследование показало, что выживаемость крыс напрямую зависит от длительности периода «клинической смерти» характеризуемого полным отсутствием электрической активности миокарда. В том случае, если период «клинической смерти» не превышал 35-40 минут, животные восстанавливали жизнеспособность. Если же этот показатель превышал 40 минут животные погибали. Такие параметры как нижняя точка охлаждения и скорость отогрева не оказывали определяющего влияния на выживаемость животных.

1. Fox J.L., et al. Prophylactic hypothermia for traumatic brain injury: a quantitative systematic review. // CJEM. 2010. 12, №4:355-64
2. Testori C., et al. Mild therapeutic hypothermia is associated with favorable outcome in patients after cardiac arrest with non-shockable rhythms. // Resuscitation. 2010. 82 №9:1162-7

¹H ЯМР ИССЛЕДОВАНИЕ ХОЛЕСТЕРИНА В МЕТАБОЛИЧЕСКОМ ПРОФИЛЕ СИНОВИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ

¹H NMR INVESTIGATION OF CHOLESTEROL IN THE METABOLIC PROFILE OF SYNOVIAL FLUID

Гайсина А.И.¹, Сурхаев Р.С.¹, Халиуллина А.В.^{1,2}, Юльметов А.Р.², Гиматдинов Р.С.¹

¹Казанский государственный медицинский университет, Казань, rsg2004@mail.ru

²Казанский федеральный университет, Казань, aliya_syl@mail.ru

Повседневная жизнь людей и животных немыслима без постоянного движения и неразрывно связана с нормальной деятельностью синовиальных суставов. При этом каждое третье обращение к врачу связано с болями при движении [1]. Исключительно высокая надежность и долговечность суставов как природных элементов трения прямым образом зависит не только от их строения, но и от свойств синовиальной жидкости, выполняющей метаболические и биомеханические функции в суставах. Нарушение свойств жидкости может быть одним из факторов развития суставной патологии.

В ряде исследований [2] было показано наличие в синовиальной жидкости эфиров холестерина (3,8±0,4 ммоль/л), которые в области физиологических температур (25—41 °С) могут образовывать термотропные мезоморфные холестерические жидкие кристаллы (ХЖК). Считается, что ХЖК размещаются длинными осями параллельно микрорельефу хряща, образуя ЖК планарно ориентированную структуру, состоящую из множества спирально закрученных нематических слоев, обеспечивая низкое сопротивление сдвигу и высокую несущую способность. Исчезновение анизотропии микрорельефа поверхности хряща при повышенном изнашивании препятствует образованию устойчивых ЖК смазочных слоев, что приводит к нарушению смазочных параметров суставной среды и может играть существенную роль в патогенезе деструкции хряща.

Целью данной работы являлось исследование метаболического профиля образцов синовиальной жидкости животных методом ЯМР высокого разрешения для соотнесения холестерина содержащих метаболитов с характерными линиями спектра. Спектры ЯМР были получены на импульсном ЯМР спектрометре с Фурье-преобразованием Bruker Avance 500 с частотой ¹H 500,13 МГц.

Сигналы в полученных ¹H спектрах ядерного магнитного резонанса были соотнесены с метаболитами синовиальной жидкости, в том числе на основании литературных данных [3,4]. Обнаружены резонансные линии групп ассоциируемых с холестерином. Интенсивность линий соответствует ожидаемой концентрации холестерина в образце. Установленные ЯМР характеристики содержащих холестерин метаболитов синовиальной жидкости могут служить дальнейшему изучению влияния специфических физических факторов на свойства ХЖК, формированию биофизического взгляда на механизм физиотерапевтического воздействия и клинические перспективы.

1. Материалы Третьего Всероссийского конгресса с международным участием «Медицинская помощь при травмах мирного и военного времени. Новое в организации и технологиях», Санкт-Петербург, 16-17 февраля 2018г.
2. Ермаков С.Ф., Роденков В.Г., Белоенко Е.Д., Купчинов Б.И. Жидкие кристаллы в технике и медицине. - Минск: Асар, 2002.

3. Галиуллина Л.Ф., Блохин Д.С., Аганов А.В., Клочков В.В. Прямое наблюдение образования комплекса «холестерин – модель биологической мембраны» методами ЯМР-спектроскопии // *Гены & Клетки*, 2012, Том 7, №3, Стр. 41-48.
4. Durgesh D. et al. Metabolite assignment of ultrafiltered synovial fluid extracted from knee joints of reactive arthritis patients using high resolution NMR spectroscopy // *Magn Reson Chem.*, 2019, Vol. 57, P.30-43.

ОПТИЧЕСКАЯ КОГЕРЕНТНАЯ ТОМОГРАФИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ СТРУКТУРЫ, МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ И ЭЛАСТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ТКАНЕЙ ЧЕЛОВЕКА

OPTICAL COHERENT TOMOGRAPHY FOR DIAGNOSTICS OF STRUCTURE, MICROCIRCULATION AND ELASTIC PROPERTIES OF HUMAN TISSUES

Гладкова Н.Д.¹, Губарькова Е.В.¹, Киселева Е.Б.¹, Сироткина М.А.¹, Яшин К.С.¹, Воронцов Д.А.³, Плеханов А.А.¹, Кузнецов С.С.¹, Геликонов Г.В.², Мусеев А.А.², Зайцев В.Ю.², Матвеев Л.А.² и Загайнова Е.В.¹

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород;

²Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород;

³Областной онкологический диспансер, Нижний Новгород.

Оптическая когерентная томография (ОКТ) – это малоинвазивная визуализация, позволяющая получать объемные изображения подповерхностных тканей с пространственным разрешением в несколько микрометров на глубину 1-3 мм. ОКТ основана на низкокогерентной интерферометрии в ближнем ИК диапазоне длин волн (700–1300 нм). В последние годы успешное развитие получили сами принципы формирования ОКТ изображений, разработаны новые методы обработки, которые визуализируют принципиально новые характеристики тканей. Одновременное картирование нескольких функционально различных характеристик биологических тканей значительно увеличивает информативность и улучшает специфичность диагностики, основанной на принципе ОКТ. Такие функционально различные типы визуализации на основе ОКТ включают поляризационно-чувствительные изображения, эластографические изображения, которые характеризуют механические свойства тканей (жесткость), и основанное на ОКТ картирование микроциркуляции крови (то есть ангиографическое изображение).

Разработан ряд методов поляризационно-чувствительной ОКТ, основанный на измерении изменений поляризации на разных глубинах относительно поляризации падающей волны. Это позволяют определить такие свойства, как деполяризация, двулучепреломление, дихроизм и ориентация осей поляризации. Метод кросс-поляризационной ОКТ (КП ОКТ) является многообещающим конкурентным методом для обнаружения зон с признаками малигнизации благодаря возможности отдельного анализа анизотропных структур, проявляющих свойства перекрестного рассеяния и двулучепреломления и структур со свойствами обратного рассеяния. Расчет оптических коэффициентов и построение на их основе карт с цветовой кодировкой является одним из методов улучшения ОКТ контраста различных типов тканей. Он может быть применен для обнаружения краев глиальной опухоли, когда неравномерный характер роста опухоли создает трудности в поиске истинных краев с нормальной тканью мозга. Нами были рассчитаны два оптических коэффициента (затухания и разностного коэффициента затухания), построены карты с цветовой кодировкой, которые демонстрируют, как оптические коэффициенты увеличивают контраст тканей, которые необходимо отличить [2]. Тот же способ использован для поиска чистого края резекции рака молочной железы.

Контрастирование сосудов методом ОКТ осуществляли путем высокочастотной фильтрации вдоль медленной оси в сигнальной области. Можно ожидать, что области, испытывающие движение во время сканирования, будут создавать более высокочастотный сигнал. Наблюдение за динамикой изменения сосудистой сети опухоли в ходе фотодинамической терапии (ФДТ) может быть использовано в качестве предиктора ответа опухоли на ФДТ. Установлено, что полное необратимое исчезновение кровеносных сосудов на ОКТ ангиограммах через 24 часа после ФДТ отражает хороший клинический исход лечения.

Эластичные свойства тканей могут отражать их функциональное состояние и быть чувствительным индикатором важнейших патологических процессов (в том числе опухолей). Использование компрессионной оптической когерентной эластографии (ОКЭ) показало существенные различия не только в значении модуля Юнга, а также по характеру эластических реакций неопухолевых и опухолевых тканей молочной железы [3]. Граница между нормальной и опухолевой тканями молочной железы отчетливо демонстрируется на ОКЭ изображениях. Точность границы может быть определена с точностью 40-50 мкм в реальном времени, что может быть использовано для интраоперационной диагностики чистого края резекции при раке молочной железы.

Современная мультимодальная ОКТ-система позволяет исследовать интересующую ткань с разных точек зрения, предоставляя информацию о ее физиологическом состоянии, а также о механических и оптических характеристиках. Объединяя полученную информацию, можно получить полезные клинические сведения о детальном морфологическом состоянии ткани. Сбор большего количества информации в нескольких

модальностях может потенциально привести к методам машинного обучения для анализа этих данных, что позволит быстрее распространять технологию ОКТ в повседневной клинической практике.

Работа выполнена в рамках гранта, финансируемого РФФИ-мк 18-29-01049.

1. Yashin K.S., et al. Quantitative nontumorous and tumorous human brain tissue assessment using microstructural co- and cross-polarized optical coherence tomography // *Scientific Reports*, 2019, v. 9, 2024.

2. Gubarkova E. et al. OCT-elastography-based optical biopsy for breast cancer delineation and express assessment of morphological/molecular subtypes // *Biomedical Optics Express*. 2019, 6.

ЗАЩИТНЫЙ ЭФФЕКТ ХИМЕРНОГО ФЕРМЕНТА-АНТИОКСИДАНТА PSH ПРИ ИШЕМИЧЕСКИ – РЕПЕРФУЗИОННОМ ПОРАЖЕНИИ ПОЧЕК

PROTECTIVE EFFECT OF CHIMERIC ENZYME ANTIOXIDANT PSH DURING ISCHEMIA-REPERFUSION KIDNEY DAMAGE

Гончаров Р.Г., Новоселов В.И., Шаранов М.Г.

ОП ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия, Email: GonRusGeo@gmail.com

На сегодняшний день неоднократно показано, что окислительный стресс является неотъемлемой частью многих патологических состояний организма одним из которых является ишемически – реперфузионное (И-Р) поражение. И-Р характеризуется быстрым развитием сложных взаимосвязанных патобиохимических каскадов в клетке, ключевым из которых является образование избыточного количества активных форм кислорода (АФК), способные повреждать структурно-функциональную целостность метаболических активных тканей. Одним из перспективных подходов в терапии И-Р повреждений, является использование ферментов-антиоксидантов, эффективность которых в нейтрализации АФК на несколько порядков превосходит эффективность широко используемых в настоящее время в медицине низкомолекулярных соединений. Терапевтическую эффективность ферментов – антиоксидантов можно увеличить в результате создания модифицированной «химерной» формы фермента. В качестве такого фермента предлагается использовать химерный фермент-антиоксидант PSH полученный методами генно-инженерии. Данный фермент совмещает в себе активности Mn-SOD *E.coli* и Pгх6 человека, позволяя нейтрализовать все основные типы АФК образующиеся в период И-Р.

На модели И-Р поражения обеих почек мыши проведено исследование защитных свойств химерного фермента-антиоксиданта PSH. Животным внутривенно вводился раствор PSH (20 мкг/г веса) за 15 мин до 30-ти мин ишемии, с последующей реперфузией в течении 24 ч. В работе было использовано 3 группы мышей: №1-интактные животные; №2-И-Р; №3-И-Р+PSH. В ходе биохимического анализа крови (мочевина; креатинин) обнаружено, что в группе №2 через 24 ч наблюдается увеличение уровня мочевины в 5 раз, а креатинина в 6 раз. В группе №3 уровень мочевины увеличен в 4 раза, а креатинина в 5 раз по сравнению с группой №1. Исследование конечных продуктов перекисного окисления липидов в почечной ткани преимущественно малонового диальдегида (МДА) через 24 ч после И-Р показало, что в группе №2 МДА увеличен в 8 раз, а в группе №3 в 2,5 раза по сравнению с группой №1. Гистологический анализ почечной ткани через 24 ч после И-Р показал, что в группе №2 отмечается гипертрофия клубочков и полнокровие их капиллярных петель, а также дистрофические изменения в эпителии почечных канальцев. В группе №3 отмечены аналогичные изменения характеризуются меньшей степенью выраженности, чем в группе №2. С помощью метода ОТ-ПЦР, было проведено исследование уровня экспрессии некоторых маркерных генов через 24 ч после И-Р. Выбраны гены маркеры: повреждения почек (KIM, IL-18), воспаления (IL-6, iNOS, eNOS), окислительного стресса (NRF-2, NF-kB), апоптоза (Casp-3; AP-1). В группе №1 уровень экспрессии генов практически не меняется. В группе №2 значительный рост экспрессии (раз) показан для: KIM (106), eNOS (22), iNOS (14), AP-1 (7,5), IL-18 (7), NF-kB (5,5), Casp-3 (3,5). В группе №3 значительный рост экспрессии (раз) показан для: KIM (60), eNOS (2,5), iNOS (2,0), AP-1 (3,5), NF-kB (3,5), Casp-3 (2,5). Иммуноблоттинг почечной ткани спустя 24 ч после И-Р показал, что уровень индукции casp-3 в группе №2 увеличен в ~2,7 раза, а в группе №3 в ~2,1 раза по сравнению с группой №1. Также была проведена оценка выживаемости животных в течении 120 ч после 30-ти мин ишемии. В группе №2 оставалось в живых ~20% животных, а в группе №3 >34%. Таким образом, применение химерного фермента-антиоксиданта PSH при И-Р поражении обеих почек мыши способствует нормализации биохимических, физиологических, гистологических показателей и способствует росту выживаемости животных. Работа поддержана грантами РФФИ 17-04-00356-а, 19-04-00080-а.

ПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ПЕПТИДНОГО ИНГИБИТОРА КИНАЗЫ ЛЕГКИХ ЦЕПЕЙ МИОЗИНА ПРИ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОМ ПОРАЖЕНИИ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА

THE PROTECTIVE EFFECT OF THE PEPTIDE INHIBITOR OF MYOSIN LIGHT CHAIN KINASE IN ISCHEMIC-REPERFUSION INJURY OF THE SMALL INTESTINE

Гордеева А.Е., Ширинский В.П.¹, Новоселов В.И.²

Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, gordeeva1310@yandex.ru

¹Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии МЗ РФ, г. Москва, shirinsky@gmail.com

²Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, novoselov-vi@rambler.ru

Ишемически-реперфузионного поражение (И-РП) – комплекс патологических изменений, который приводит к нарушению морфо-функционального состояния органа. Для тонкого кишечника как огромного сосудистого региона с особой микроциркуляторной архитектурой, детерминантом в проявлении И-Р травмы является повреждение системы микроциркуляции. Так как эндотелий сосудов первый встречается с измененными условиями при И-Р поражении, необходимо использовать эндотелий-протекторные агенты для укрепления эндотелиального барьера и снижения патологических изменений в структурах тонкого кишечника. В настоящей работе в качестве эндотелий-протекторного агента используется пептидный ингибитор киназы легких цепей миозина (РІК7), который был получен в Национальном медицинском исследовательском центре кардиологии МЗ РФ и обладает противоотечными свойствами. РІК7 вводился внутривенно до И-Рпоражения кишечника.

Было показано, что использование РІК7 в условиях ишемии-реперфузии тонкого кишечника оказывает влияние на патофизиологическую картину повреждения кишечной и сосудистой тканей. В условиях применения РІК7 при И-Р поражении отмечается изменение формы ворсинок тонкого кишечника в сторону их укорочения и утолщения без утраты целостности покровного эпителия, с тенденцией к снижению поражения энтероцитов, отмечается десквамация энтероцитов преимущественно в апикальной части ворсинки. Снижения общей воспалительной реакции стромы не отмечено. Наличие протекторного эффекта РІК7 было также выявлено для сосудистой ткани. При применении РІК7 в условиях И-Р поражения для мезентеральных сосудов отмечен высокий процент сохраненных эндотелиоцитов и адаптационное изменение миогенного тонуса в сторону вазодилатации. Однако стоит отметить наличие очагов поражения в венозной стенке, что объясняется высокой чувствительностью вен к И-Р поражению даже на фоне применения РІК7. При применении РІК7 в условиях И-Р поражения происходит снижение поражения сосудов микроциркуляторного русла, характер повреждения носит мозаичный характер с тенденцией к увеличению участков с сохранением архитектуры микрососудистого русла в раннем реперфузионном периоде.

Степень сохранности микроциркуляторного русла в кишечнике при И-Р поражении при использовании РІК7 определяли методом лазерной доплеровской флуометрии, используя показатель микроциркуляции (ПМ). С началом ишемии происходит снижение ПМ в среднем на 72% относительно контроля. В течение всего 60 мин периода ишемии ПМ остается на минимальном уровне. С началом реперфузии отмечается адаптационный период сроком до 4-5 минут, когда показатель микроциркуляции увеличивается, но остается низким, несмотря на возобновление кровотока в кишечнике, что коррелирует с поражением апикальной части ворсинок в этот период. К концу реперфузионного периода (через 120 мин) ПМ выходит на стационарный уровень и составляет 77% от контрольных значений для пораженного кишечника, в случае использования РІК7 составляет 84%. Такой уровень перфузии кишечной ткани кровью близок к показателям микроциркуляции здорового животного.

Интересно отметить, что при применении РІК в условиях И-Р поражения происходит нормализация уровня метаболитов оксида азота в крови, что напрямую указывает на сохранение естественных механизмов, регулирующих просвет сосуда. Внимание привлекает тот факт, что при применении РІК7 в условиях И-Р поражения не происходит снижение степени окислительного стресса в слизистой тонкого кишечника. Так, концентрация МДА в здоровом слизистой тонкого кишечника находится на уровне $1,68 \pm 0,05$ нмоль/мг белка, а при применении РІК7 - $5,8 \pm 1,3$ нмоль/мг белка, что недостоверно отличается от контрольного поражения. Несмотря на отсутствие влияния РІК7 на окислительный стресс отмечается выраженное снижение поражения сосудистой и кишечной ткани, что указывает на прямой эндотелий-протекторный эффект препарата. Механизм защитного действия РІК7 при И-Р поражении тонкого кишечника требует дальнейшего изучения.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ МОНОМЕРНОЙ И ДИМЕРНОЙ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ НА СИГНАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В КЛЕТКАХ КРОВИ

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE EFFECT OF MONOMERIC AND DIMERIC MYELOPEROXIDASE ON SIGNAL PROCESSES IN BLOOD CELLS

***Горудко И.В.¹, Григорьева Д.В.¹, Шамова Е.В.¹, Кохан А.Ю.¹,
Соколов А.В.^{2,3,4}, Васильев В.Б.^{2,4}, Панасенко О.М.³, Черенкевич С.Н.¹***

¹Белорусский государственный университет, Минск, irinagorudko@gmail.com

²ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, biochemsokolov@gmail.com

³ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА России, Москва

⁴Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

Миелопероксидаза (МПО) – фермент, секретируемый лейкоцитами в очагах воспаления, катализирующий образование гипогалоидных кислот. В нормальных зрелых лейкоцитах МПО присутствует в виде димера (~145 кДа), состоящего из идентичных гем-содержащих протомеров, соединенных дисульфидной связью. Каждый протомер (мономер) содержит легкую цепь, тяжелую цепь и гем. Однако известно, что кроме димерной МПО *in vivo* и *in vitro* возможно образование мономерной МПО. МПО кодируется единственным геном, который в норме экспрессируется исключительно в миелоидных клетках, так что во время дифференцировки гранулоцитов в костном мозге только промиелоциты и промиелоциты активно синтезируют МПО. Как предшественники миелоидных клеток, так и клеточная линия промиелоцитарной лейкемии (клетки HL-60) секретируют конститутивную мономерную проМПО, где ее присутствие обусловлено незавершенным процессингом созревающей МПО. Недавно нами было продемонстрировано, что мономерная форма МПО, совпадающая по молекулярной массе (~75 кДа) с мономером, полученным из клеток HL-60, содержится также в плазме крови больных с воспалительными заболеваниями [1].

В условиях *in vitro* инициировать распад димера на протомеры можно путем восстановления либо окисления дисульфидной связи, соединяющей два протомера в нативной МПО [2,3]. Также следует отметить, что МПО, получаемая методами генной инженерии, в ряде случаев является мономерным белком. Так, рекомбинантная МПО человека, экспрессированная в клеточной линии, полученной на материале клеток яичников китайского хомячка СНО (Chinese Hamster Ovary), является мономерной [4].

Ранее нами и другими авторами установлено, что димерная МПО, связываясь с клетками крови, индуцирует в них активацию сигнальных процессов, приводящих к изменению ряда структурно-функциональных свойств клеток. Однако остается неясным, сохраняется ли эта способность у мономерной МПО. Целью данной работы явился сравнительный анализ влияния димерной и мономерной форм МПО на структурно-функциональные свойства тромбоцитов, нейтрофилов и эритроцитов крови человека.

Гомодимер МПО и мономер МПО были выделены с помощью аффинной, гидрофобной и ионообменной хроматографии из клеток линии HL-60 и разделены с помощью гель-фильтрации.

В результате исследований установлено, что в присутствии как мономерной МПО, так и димерной МПО происходит реорганизация актинового цитоскелета тромбоцитов и нейтрофилов, однако эффект мономерной МПО выражен слабее. Влияние мономерной МПО на увеличение концентрации свободных ионов кальция в цитозоле нейтрофилов, а также экзоцитоз лизоцима и эластазы было также значительно ниже, чем в случае димерной МПО. Мономерная МПО, в отличие от димерной МПО, практически полностью теряет способность усиливать индуцированную агрегацию тромбоцитов и инициировать образование гетероагрегатов тромбоцитов с нейтрофилами.

Было обнаружено, что мономерная МПО также как и димерная МПО связывается с гликофоринами А/В и белком полосы 3 на плазматической мембране эритроцитов, что приводит к уменьшению эластичности клеток, снижению их устойчивости к осмотическому и кислотному гемолизу. Также были выявлены значительные изменения объема клеток, морфологии и проводимости ионных каналов плазматической мембраны эритроцитов. Кроме того, впервые удалось показать, что в присутствии как димерной, так и мономерной МПО происходит экспонирование фосфатидилсерина на внешней поверхности мембраны эритроцитов. Тем не менее, оказалось, что эффект мономерной МПО на структурно-функциональные свойства эритроцитов был значительно ниже по сравнению с димерной МПО.

Таким образом, появление в крови мономерной МПО может служить регуляторным механизмом уменьшения провоспалительных эффектов этого фермента.

Работа поддержана грантами БРФФИ (Б18Р-058, Б19РМ-024) и РФФИ (18-515-00004).

1. Gorudko I.V. et al. Neutrophil activation in response to monomeric myeloperoxidase // *Biochem. Cell. Biol.* – 2018. – Vol. 96, № 5. – P. 592–601.
2. Andrews P.C., and Krinsky N.I. 1981. The reductive cleavage of myeloperoxidase in half, producing enzymically active hemi-myeloperoxidase // *J. Biol. Chem.* – Vol. 256. –P. 4211–4218.
3. Горудко И.В. и др. Продукция активных форм кислорода и галогенов нейтрофилами при действии мономерных форм миелопероксидазы // *Биофизика.* – 2017. – Т. 62, вып. 6.– С. 1114–1122.
4. Hansson M., Olsson I., and Nauseef W.M. Biosynthesis, processing, and sorting of human myeloperoxidase // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2006. – Vol. 445. – P. 214–224.

ОБРАЗОВАНИЕ И РАЗРУШЕНИЕ НИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА В УСЛОВИЯХ, МОДЕЛИРУЮЩИХ ГАЛОГЕНИРУЮЩИЙ СТРЕСС

FORMATION AND DESTRUCTION OF NITROSYL COMPLEXES OF IRON IN CONDITIONS SIMULATING A HALOGENATING STRESS

Грачёв Д.И.¹, Шумаев К.Б.², Титов В.Н., Рууге Э.К.¹

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

¹Физический факультет Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова, Москва

²Институт биохимии имени А.Н.Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва

Дыхательный или респираторный взрыв фагоцитирующих клеток является важнейшим компонентом воспалительной реакции и связанных с ней патологических процессов. При этом фагоциты продуцируют активные формы кислорода, азота и галогенов. Взаимодействие этих реакционноспособных соединений может быть весьма неоднозначным. К активным формам галогенов относятся хлорноватистая и другие гипогалоидные кислоты. Они синтезируются в реакциях анионов галогенов с перекисью водорода, которые катализируются ферментами, относящимися к семейству пероксидаз млекопитающих [1]. Известно, что оксид азота (NO) и его метаболиты могут проявлять как прооксидантные, так и антиоксидантные свойства. Среди метаболитов NO особое место занимают нитрозильные комплексы с гемовым и негемовым железом, в том числе динитрозильные комплексы железа с тиольными лигандами (ДНКЖ) [2, 3].

В данной работе с помощью спектроскопии ЭПР исследовалось действие NO и его метаболитов на гемоглобин и суспензию эритроцитов в условиях, моделирующих галогенирующий стресс при дыхательном взрыве. Добавление к суспензии эритроцитов из крови человека синтетического донора NO (Diethylamine NONOate, DEA/NO) моделировало продукцию оксида азота NO синтазой. В этих условиях, регистрировался широкий сигнал ЭПР, характерный для гемоглобина, нитрозилированного по железу гемовой группы (HbNO). Формирование HbNO происходило также в присутствии физиологического донора оксида азота S-нитрозоглутатиона. Интенсивность сигнала ЭПР цистеиновых ДНКЖ в суспензии эритроцитов быстро снижалась, тогда как комплексы с глутатионом были более стабильны. В реакционной смеси, содержащей эритроциты, хлорноватистую кислоту (HOCl) и глутатионовые ДНКЖ, наблюдалось уменьшение сигнала последних, сопровождавшееся ростом сигнала ДНКЖ, связанных с белком, причём добавление DEA/NO замедляло этот процесс. Вместе с тем, аналогичное превращение ДНКЖ с цистеиновыми лигандами происходило значительно быстрее. В наших экспериментах большая часть ассоциированных с белком ДНКЖ, по-видимому, связана с Cys93 β-субъединицы гемоглобина. Следует отметить, что изолированные гемоглобиновые ДНКЖ разрушаются под действием HOCl. Обнаружено также, что HOCl может влиять на лигандное окружение в ДНКЖ, связанных с альбумином.

Ранее было показано, что глутатионовые ДНКЖ защищают эритроциты от лизиса вызванного HOCl [4]. В то же время, гемоглобиновые ДНКЖ могут быть маркерами окислительного стресса [2]. Полученные нами результаты позволяют предположить, что HOCl реагирует с низкомолекулярными тиольными ДНКЖ. При этом Fe(NO)₂ группа ДНКЖ может переноситься на белковые молекулы. Уровень образующихся гемоглобиновых ДНКЖ коррелирует со степенью гемолиза. В отличие от ДНКЖ, свободный NO проникает в эритроциты, где реагирует с дезоксигемоглобином с образованием HbNO. Представляется вероятным, что формирование разных комплексов NO может определять функционирование этой сигнальной молекулы в условиях галогенирующего стресса.

Работа поддержана РФФИ (гранты № 18-015-00125 и 19-015-00444).

1. Панасенко О.В. и др. Хлорноватистая кислота как предшественник свободных радикалов в живых системах // Усп биол хим. 2013 Т. 53 С. 195-244
2. Vanin A.F. Dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands as a “working form” of endogenous nitric oxide // Nitric Oxide. 2016 Vol. 54 P. 15–29
3. Shumaev K.B. et al. Dinitrosyl iron complexes bound with haemoglobin as markers of oxidative stress // Methods Enzymol. 2008 Vol. 436 P. 441–457
4. Shumaev K.B. et al. Protective Effect of Dinitrosyl Iron Complexes with Glutathione in Red Blood Cell Lysis Induced by Hypochlorous Acid // Oxid Med Cell Longev. 2019 Vol. 2019 P. 1-12

ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ ФОРМ NO МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ ЭПР

PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF PHYSIOLOGICAL NO FORMS AND STUDY OF THEIR BIOLOGICAL ACTIVITY BY EPR SPECTROSCOPY

Тимошин А.А., Грачёв Д.И.¹, Лакомкин В.Л., Абрамов А.А., Рууже Э.К.¹

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава России, Москва, E-mail: timoshin_a_a@mail.ru

¹Физический факультет Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова, Москва.

Известно, что динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) с тиол-содержащими лигандами являются одной из основных стабилизированных форм NO в организме животных и человека. Как было показано нами ранее, в результате внутривенного введения ДНКЖ с лигандом глутатионом (ДНКЖ-Глт) инициируется медленный распад этих комплексов с белковыми лигандами с высвобождением NO, вследствие чего регистрируется существенный и пролонгированный гипотензивный эффект, сопровождающийся значительно более слабым увеличением уровня свободного NO в организме, по сравнению с другими препаратами-донорами NO. Целью работы являлось выяснение механизмов действия этих комплексов в организме в различных физиологических условиях. В ходе работы содержание связанных с белками ДНКЖ в крови и ткани органов после инъекции данного препарата определялось исходя из их сигналов ЭПР при $g=2,03$. Для оценки уровня NO, включая его стабилизированные формы, применялась спиновая ловушка на основе комплексов ионов железа и диэтилдитиокарбамата, а для регистрации спиновых аддуктов использовался метод ЭПР.

В работе показано, что гипотензивное действие ДНКЖ-Глт регистрируется при его введении путём внутривенной, внутрибрюшинной, внутримышечной и подкожной инъекций, причём характер данного эффекта ДНКЖ зависит от способа его введения в организм. При этом во всех случаях в крови происходит формирование ДНКЖ с белковыми лигандами [1]. Установлено, что наиболее существенный и продолжительный эффект ДНКЖ-Глт наблюдается в результате внутривенного и подкожного введения данного препарата, причём при подкожной инъекции ДНКЖ-Глт снижение АДср и накопление связанных с белками ДНКЖ в крови и ткани органов происходит более медленно, по сравнению с внутривенным введением, а также регистрируется более эффективное накопление этих форм депонирования NO в ткани лёгких. Кроме того, показано, что комплексы ДНКЖ с гидрофобным лигандом (L-ацетил-цистеин) могут проникать в организм через кожный покров, в результате чего регистрируется снижение АДср и повышение общего уровня NO в ткани органов животного.

Установлено, что ДНКЖ-Глт могут оказывать защитное действие в условиях гиперпродукции NO, когда эти комплексы действуют, как регуляторы уровня NO. Эксперименты проводились при естественном кровоснабжении организма в условиях воспаления, вызванного инъекцией липополисахаридов (ЛПС), в результате чего регистрировалось существенное увеличение общего уровня NO в сердце, лёгких, печени и почках, причём наиболее заметный эффект наблюдался в печени животного. Нами показано, что введение ДНКЖ-Глт в этих условиях не приводит к увеличению уровня общего NO в органах крыс, и даже оказывает противовоспалительное действие, подавляя гиперпродукцию NO в лёгких и печени животных [2].

Кроме того, защитное действие ДНКЖ-Глт было показано на модели изолированного сердца крысы в условиях перфузии, а также тотальной ишемии и постишемической реперфузии. Установлено, что во время ишемии происходит увеличение содержания связанных с белками ДНКЖ вследствие образования новых комплексов в условиях высокого содержания NO, а в ходе реперфузии инициируется эффективный распад этих комплексов, сопряжённый с их перехватом короткоживущих кислородных радикалов [3].

В другой части работы методом ЭПР с применением таких спиновых зондов, как 5- и 16-доксилстеариновая кислота, исследовалось действие ДНКЖ-Глт, вводимых внутривенно, на структурно-конформационные характеристики альбумина, как основного лиганда этих комплексов в плазме, и молекул липидной фазы мембран эритроцитов, составляющих микроокружение ДНКЖ в эритроцитах. Установлено, что введение ДНКЖ-Глт не приводит к изменениям молекулярного движения в гидрофобных областях альбумина в плазме крови и мембран эритроцитов, но при этом стимулируется встраивание в их мембрану заряженных спиновых зондов, что может быть следствием изменения заряда внешней поверхности этих клеток [4].

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ, грант № 18-015-00027.

1 Timoshin A.A. et al. The hypotensive effect of the nitric monoxide donor Oxacom at different routs of its administration to experimental animals. // European Journal of Pharmacology. 2015 Vol. 765 P. 525

2 Тимошин А.А. и др. Исследование биологического действия динитрозильных комплексов железа с глутатионом в условиях гиперпродукции NO, вызванной эндотоксическим шоком. // Биофизика. 2019 Т.64 С.108

3 Pisarenko O., Studneva I., Timoshin A. et al. Protective efficacy of dinitrosyl iron complexes with reduced glutathione in cardioplegia and reperfusion. // Pflugers Archiv – European Journal of Physiology. 2019 Vol. 471 P. 583

4 Тимошин А.А. и др. Влияние динитрозильных комплексов железа на физико-химические характеристики компонентов крови крыс. // Биофизика. 2019 Т. 64 С. 494.

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА ПРОТИВ НОСЛ-МОДИФИЦИРОВАННОГО АЛЬБУМИНА КАК ИНСТРУМЕНТ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВАЦИИ НЕЙТРОФИЛОВ

MONOCLONAL ANTIBODIES AGAINST НОСЛ-MODIFIED ALBUMIN AS APPROACH FOR REGULATION OF THE NEUTROPHIL ACTIVATION

Григорьева Д.В.¹, Соколов А.В.^{2,3,4,5}, Костевич В.А.^{2,3}, Горбунов Н.П.², Елизарова А.Ю.², Панасенко О.М.³, Горудко И.В.¹

¹Белорусский государственный университет, Минск, dargr@tut.by

²ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, biochemsokolov@gmail.com

³ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА России, Москва

⁴Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

⁵Центр доклинических трансляционных исследований ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург

К настоящему времени хорошо известно, что активные формы кислорода (АФК) и галогенов (АФГ) вовлечены в регуляцию функциональной активности клеток посредством модификации ряда белков и липидов плазмы крови, в результате которой последние изменяют свои свойства таким образом, что приобретают способность модулировать функциональные ответы клеток крови. Недавно нами было показано, что сывороточный альбумин человека (HSA), модифицированный хлорноватистой/бромноватистой кислотой (НОСl/НОBr), образуя комплекс в реакциях, катализируемых ферментом азурофильных гранул нейтрофилов – миелопероксидазой (МПО), активирует продукцию АФК и вызывает экзоцитоз содержимого азурофильных и специфической гранул нейтрофилов, усиливая тем самым течение воспалительного процесса [1]. Поэтому актуальной задачей является поиск соединений, способных ингибировать провоспалительные эффекты галогенированного HSA. Целью данной работы явилось изучение влияния антител против модифицированного хлорноватистой кислотой HSA (HSA-Cl) на активацию респираторного взрыва и дегрануляцию нейтрофилов HSA-Cl.

С помощью иммунизации мышей HSA-Cl и последующей гибридизации лимфоцитов по Мильштейну-Келлеру, были получены специфические моноклональные антитела против HSA-Cl (клон 1H2, класс IgM). Нейтрофилы выделяли из стабилизированной 109 mM раствором цитратом натрия венозной крови здоровых доноров по стандартной методике в градиенте плотности гистобака-1077. Респираторный взрыв нейтрофилов оценивали по продукции клетками H₂O₂ флуоресцентным методом с использованием скополетина. Тушение флуоресценции последнего ($\lambda_{\text{возб.}} = 350$ нм, $\lambda_{\text{регистр.}} = 460$ нм) при добавлении пероксидазы хрена пропорционально концентрации H₂O₂ в суспензии клеток, находившихся при 37 °С и постоянном перемешивании [2]. Дегрануляцию нейтрофилов оценивали по экзоцитозу МПО, активность которой в супернатантах нейтрофилов определяли спектрофотометрически по окислению ее хромогенного субстрата – о-дианизидина. После добавления экзогенного H₂O₂ регистрировали увеличение оптической плотности суспензии на длине волны 460 нм [3]. Статистическая обработка данных выполнена с использованием пакета программ Origin 7.0.

После добавления в суспензию нейтрофилов HSA-Cl (500 мкг/мл) скорость окисления скополетина увеличилась ~ в 7 раз по сравнению со скоростью окисления скополетина в присутствии нативного HSA в той же концентрации (с $1,6 \pm 0,3$ пМ/с/10⁶ клеток до $8,3 \pm 0,1$ пМ/с/10⁶ клеток, n=3, p<0,01). Однако предварительное внесение в суспензию нейтрофилов антител 1H2 (168 мкг/мл) отменяло эффект HSA-Cl (скорость окисления скополетина составляла $1,7 \pm 0,2$ пМ/с/10⁶ клеток). Что касается дегрануляции, при действии HSA-Cl (500 мкг/мл) экзоцитоз МПО из азурофильных гранул нейтрофилов достоверно увеличивался с $140,5 \pm 39,2$ пМ (в контроле) до $297,7 \pm 38,0$ пМ (при активации HSA-Cl) (n=5, p<0,05). В присутствии антител 1H2 (168 мкг/мл) данный показатель снижался до $150,6 \pm 34,4$ пМ.

На основе полученных экспериментальных данных можно сделать вывод о том, что моноклональные антитела против HSA-Cl (клон 1H2) могут быть использованы для создания на их основе лекарственных средств, направленных на терапию заболеваний, ассоциированных с прогрессированием воспаления.

Работа поддержана грантами БРФФИ (Б18Р-058, Б19РМ-024) и РФФИ (18-515-00004, 19-54-04004).

1. Gorudko I.V. et al. Hypochalous acid-modified human serum albumin induces neutrophil NADPH oxidase activation, degranulation, and shape change // Free Radic. Biol. Med. 2014. Vol. 68. P. 326-334.
2. Gorudko I.V. et al. Lectin-induced activation of plasma membrane NADPH oxidase in cholesterol-depleted human neutrophils // Arch. Biochem. Biophys. 2011. Vol. 516(2). P. 173-181.
3. Горудко И.В. и др. Новые подходы к определению концентрации и пероксидазной активности миелопероксидазы в плазме крови человека // Биоорг. химия. 2009. Т. 35, № 5. С. 629-639.

КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ СПЕКТРАЛЬНЫМИ КОМПОНЕНТАМИ КОЛЕБАНИЙ КОЖНОГО КРОВОТОКА ЧЕЛОВЕКА

CORRELATION RELATIONSHIPS BETWEEN THE SPECTRAL COMPONENTS OF THE HUMAN SKIN BLOOD FLOW OSCILLATIONS

Гриневиц А.А., Танканаг А.В., Тихонова И.В., Чемерис Н.К.

Институт биофизики клетки Российской академии наук - обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» РАН, Пушкино, Россия, E-mail: grin_aa@mail.ru

Известно, что кровотоки в микрососудистом русле кожи человека колеблется из-за воздействий различной природы. Принято считать, что колебания кожного кровотока включают шесть неперекрывающихся частотных интервалов в диапазоне 0.005 – 2 Гц с постоянными границами: NO-независимый и NO-зависимый эндотелиальный (E), нейрогенный (N), миогенный (M), дыхательный (R) и сердечный (C). Эти интервалы соответствуют различным механизмам регуляции микрогемодинамики и были получены при помощи спектрального анализа сигналов, зарегистрированных с использованием лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ). При этом E, N и M интервалы принято считать локальными, связанными с низкочастотными колебаниями кожного кровотока, а R и C – центральными, связанными с высокочастотными колебаниями кожного кровотока.

К настоящему времени показано, что возрастные изменения происходят во всех системах организма, включая микрогемодинамику. Ранее было обнаружено возрастное снижение амплитуд колебаний кровотока в ответ на кратковременную ишемию во всех анализируемых частотных интервалах (E, N, M, R и C), а также выявлены возрастные изменения спектральных компонентов колебаний кожного кровотока в разных частотных интервалах.

Известно, что механизмы низкочастотной регуляции кожного кровотока связаны на клеточном уровне. Такая связь формируется за счет того, что гладкомышечные клетки сосудов являются общими эффекторами в процессах эндотелиальной и нейрогенной регуляции. Кроме того, есть прямое взаимодействие между процессами эндотелиальной и нейрогенной регуляции посредством оксида азота и кальцитонин генеродного пептида. Однако остается неясным, связаны ли между собой колебательные компоненты сигнала ЛДФ, которые соответствуют низкочастотным механизмам регуляции периферического кровотока. Если такая связь существует, то может ли она меняться в зависимости от возрастных изменений организма. Мы предполагаем, что между колебательными компонентами ЛДФ-сигнала существует линейная статистическая связь, которая может меняться с возрастом.

Целью настоящего исследования было оценить корреляционные взаимосвязи между спектральными компонентами колебаний кожного кровотока для двух возрастных групп.

В исследовании приняли участие 105 здоровых добровольцев в возрасте от 20 до 65 лет без сердечно-сосудистых и других заболеваний на момент исследования. Все добровольцы были разделены на 2 возрастные группы. Участники подтверждали, что не курили, и воздерживались от употребления алкогольных и кофеин содержащих напитков за 12 часов до регистрации. Перфузию кожи кровью регистрировали с помощью лазерного доплеровского анализатора ЛАКК-01 (НПП «ЛАЗМА», Россия, длина волны 630 нм, мощность излучения 0,5 мВт). ЛДФ-зонд фиксировали на наружной поверхности правого предплечья вблизи лучезапястного сустава. Перфузию кожи регистрировали в течение 10 минут. Во время регистрации добровольцы находились в положении лежа в состоянии физического и психологического покоя в комнате с температурой $23 \pm 1^\circ \text{C}$. Период адаптации составил 20 мин. Статистическую линейную зависимость оценивали путем расчета ранговых коэффициентов корреляции Спирмена между спектральными компонентами ЛДФ-сигналов для всех возможных пар частот во всем диапазоне (0.005 – 2 Гц).

В результате были получены контурные диаграммы коэффициентов корреляции для двух групп добровольцев. На контурных диаграммах обнаружены области с высокими (> 0.7), средними (0.5 – 0.7) и низкими (< 0.5) коэффициентами корреляции. Было показано, что области с высокими коэффициентами корреляции между колебаниями кожного кровотока часто шире, чем общепринятые частотные интервалы. Это свидетельствует о том, что процессы, которые определяют колебания кровотока кожи в различных частотных интервалах, могут быть статистически связаны. Обнаружено, что области с высокой корреляцией расширяются с возрастом. Мы предполагаем, что этот эффект может быть связан с возрастными изменениями гемодинамических характеристик микрососудистого русла, а также с изменениями в соотношении системных и локальных механизмов регуляции кровотока. Полученные результаты позволяют предположить, что корреляционные взаимосвязи между колебательными компонентами кожного кровотока являются фундаментальным свойством микрогемодинамики, которое необходимо учитывать при изучении кожного кровотока и интерпретации получаемых результатов.

Работа поддержана Российским научным фондом (грант РНФ № 16-15-00248).

УЛУЧШЕНИЕ КАЧЕСТВА ДНЕВНОГО СНА ПРИ ДИСТАНТНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ СЛАБЫМИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫМИ ПОЛЯМИ СВЕРХНИЗКОЙ ЧАСТОТЫ

IMPACT OF WEAK EXTREMELY LOW FREQUENCY PULSED ELECTROMAGNETIC FIELD ON THE DAYTIME SLEEP QUALITY

Дорохов В.Б.,¹ Таранов А.О.,¹ Нарбут А.М.,^{1,3} Тиунова Е.В.,^{1,2} Пилецкая И.А.,^{1,2} Сахаров Д.С.,¹ Груздева С.С.,¹ Ткаченко О.А.,¹ Шумов Д.Е.,¹ Блохин И.С.¹

¹ Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

² ФГБОУВО Московский педагогический государственный университет, Москва

³ Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва

Большинство исследователей полагают, что основным фактором, действующим на биологические объекты, являются низкочастотные вариации геомагнитного поля (геомагнитные возмущения), модулируемые солнечной активностью. Рядом авторов показана возможность действия на живые системы слабых электромагнитных полей сверхнизкой частоты (ЭМП СНЧ), сравнимых по параметрам с вариациями геомагнитного поля (0,2-5 Гц). Задачей исследования было проверка возможности улучшения качества дневного сна путем экспозиции слабых ЭМП СНЧ с частотой 1 Гц.

В экспериментах участвовали 22 здоровых добровольца обоего пола, средний возраст 22 года. Испытуемые находились в заглушенной, затемненной, экранированной экспериментальной камере, лежа на кровати. Для экспозиции ЭМП СНЧ использовали генератор «ECO Sleep» (сертификат соответствия ГОСТ Р 0159555 от 15.12.2017), формирующий прямоугольные импульсы тока, подаваемые на плоскую катушку индуктивности, играющую роль излучателя магнитного поля. Частота ЭМП СНЧ составляла 1 Гц. На поверхности прибора напряженность магнитного поля была 20 мкТл, а на расстоянии 70 см в области головы испытуемого напряженность поля — менее 0,2 мкТл, что значительно меньше допустимых гигиенических норм. Стадии сна определялись визуально по стандартным критериям AASM. Эксперименты проводились в дневные часы (13-15 часов), каждый испытуемый участвовал в двух экспериментах: ЭМ воздействие и контроль (sham — псевдовключение прибора). Длительность экспозиции ЭМП СНЧ — 40 минут. Эксперимент проводился по следующей схеме: 1) фоновая регистрация электрофизиологических показателей — 10 мин, 2) стимуляция или sham — 40 мин, 3) фоновое последствие — 10 мин (с выключенным генератором). На протяжении опыта регистрировались полисомнографические показатели: электроэнцефалограмма (ЭЭГ), электромиограмма, электроокулограмма. Использовался миниатюрный беспроводной биоусилитель «Нейрополиграф 24» с частотой дискретизации 500 Гц (фирма «Нейротех», Таганрог). Стадии сна определялись визуально по стандартным критериям AASM. Для статистического анализа качества сна мы использовали регрессионную логистическую нелинейную модель, определяемую логистическим уравнением Ферхюльста: $P(t) = A / (1 + \exp(B - C \cdot t))$, где «P» — количество заснувших испытуемых (находящихся на 2-й и 3-й стадиях сна) к моменту времени t, A — максимально возможное количество заснувших испытуемых в данных условиях опыта; C — скорость засыпания; B — уровень сонливости испытуемых на момент начала опыта. Коэффициенты нелинейной регрессии A, B и C уравнения оценивали по методу наименьших квадратов Левенберга–Марквардта. В соответствии с этой моделью на каждой 30-секундной эпохе сна в интервале с 1-й по 50-ю минуту подсчитывали суммарное количество испытуемых P, находившихся на 2-й или 3-й стадии сна (т.е. количество черных клеток в каждой строке рисунка 1). Коэффициенты нелинейной регрессии A, B и C уравнения оценивали по методу наименьших квадратов Левенберга–Марквардта. Показано, что при воздействии ЭМП СНЧ по сравнению с контролем (sham) достоверно улучшалось качество сна, оцениваемого по показателю непрерывности сна: наблюдалось меньше переходов от второй стадии сна, к первой стадии сна и к состоянию бодрствования, что выражалось в достоверном увеличении коэффициента A при стимуляции ($p < 0.0001$).

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант №17-36-00025-ОГН-МОЛ-А1).

ПЕРИОДИЧНОСТЬ В ДИНАМИКЕ ГАЗОВОГО СОСТАВА ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА

PERIODICITY IN DYNAMICS OF GAS COMPOSITION OF EXHALED AIR

Дроздов А.В., Кузьмин А.Г., Титов Ю.А.

Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, E-mail: da@biophys.ru

Изучение периодических изменений интенсивности биологических процессов и явлений как на уровне функционирования отдельных клеток [1], так и на уровне целостных организмов [2, 3] в настоящее время представлено очень обширно. Упомянутые литературные данные позволяют утверждать, что временную организацию биологических систем можно характеризовать как результат процессов с целым спектром периодов различной длительности. Среди возможных факторов, обсуждаемых в качестве причин, вызывающих колебания в биологических системах, указываются: колебания магнитного поля Земли, ритмы солнечной

активности и т.д. [4]. Выявление таких ритмов в целостной биологической системе, позволило бы в дальнейшем использовать эту систему в экспериментах по изучению механизма/механизмов влияния внешних факторов низкой интенсивности на динамику биологических процессов.

В работе были проведены эксперименты, в которых анализировалась динамика изменения состава выдыхаемого волонтером Д. (50 лет) воздуха. Измерялись динамика концентрации углекислого газа (CO_2) и кислорода (O_2) в режиме непрерывного мониторинга с частотой 3 раза в секунду по обоим компонентам.

Измерение состав выдыхаемого воздуха волонтера, означенных выше компонент, проводилось с помощью масс-спектрометра MS7-100, оборудованного системой капиллярного прямого ввода пробы [5]. Конец капилляра фиксировался внутри маски одетой на лицо волонтера. Параллельно с концентрацией CO_2 и O_2 измерялось атмосферное давление в месте проведения эксперимента. Измерение давления проводилось с помощью датчика атмосферного давления MPX4115A (диапазон измерений 15-115 кПа, максимальная погрешность 1,5 % в диапазоне температур 0-85 °C) и 16 разрядного АЦП LabJack U6Pro (USA).

На рис.1 представлен вейвлет-анализ динамики концентрации кислорода (O_2) в выдыхаемом волонтером Д. воздухе. Анализ концентрации углекислого газа (CO_2) в выдохе волонтера показал синхронность обоих измеряемых параметров. Для удаления из спектра высокочастотных шумов, постоянной составляющей и линейных трендов сигналы предварительно пропускались через полосовой фильтр с окном Блэкума-Харриса в программной среде MATLAB R2017a. Полоса фильтрации составляла 0,5 сек – 40 мин. Из анализа атмосферного давления за время эксперимента следует, что динамика атмосферного давления не оказывает влияние на результаты измерения концентраций.

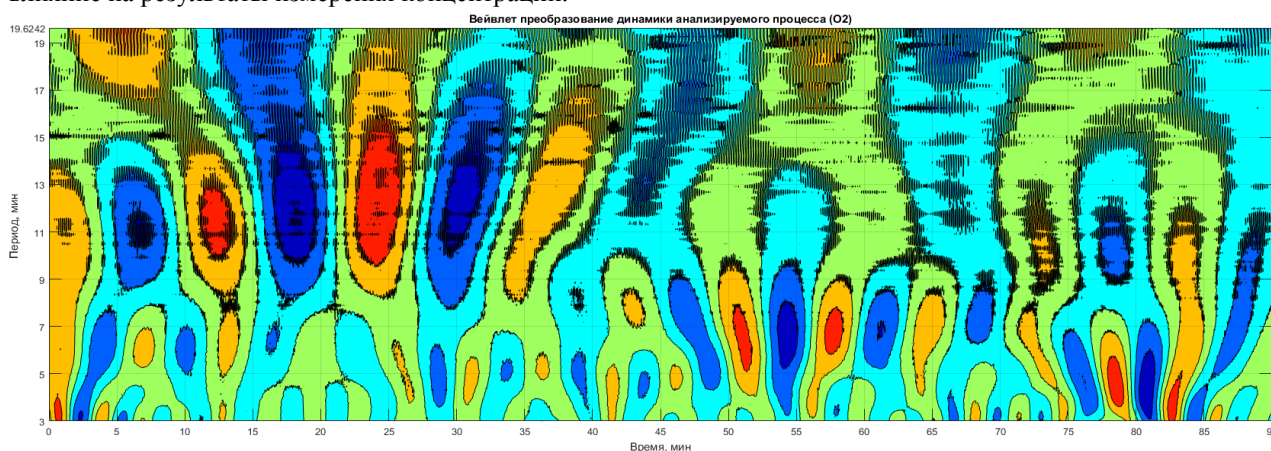


Рис.1 Вейвлет анализ динамики концентрации кислорода (O_2) в выдыхаемом волонтером Д. воздухе.

Полученных данных свидетельствует о ритмичности биологических процессов, проходящих в организме человека. Обнаруженные в ходе проведения работы периоды изменения концентрации состава выдыхаемого воздуха (~7 мин, ~13-14 мин) хорошо совпадают с периодами, обнаруженными ранее [2, 3].

Наблюдаемая квазипериодичность концентраций составляющих выдыхаемого волонтером воздуха указывает на возможность использования этого параметра/ов для изучения механизма/механизмов влияния факторов низкой интенсивности на целостные биологические системы.

1. Morré D.J., Chueh P.J., Pletcher J. *et al*, Biochemistry 40, 11941 (2002).
2. Зенченко Т.А. и др. Биофизика 59 (6) 1186 (2014), www.biophys.ru/archive/rhythm-00002.pdf
3. Дроздов А.В., Нагорская Т.П., Биофизика 60 (2) 316 (2015) <http://www.biophys.ru/archive/rhythm-00005.pdf>
4. Владимирский Б.М. и др., Уч. зап. Тавр. нац. унив. Серия «Биол., химия» 20 (59), № 1, 92 (2007).
5. Кузьмин А.Г. Квадрупольный масс-спектрометр. Патент на полезн. мод. №94763 РФ, 27.05.2010г.

МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БИОМЕТРИЧЕСКОГО ПОДХОДА К СРАВНЕНИЮ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЯ, ВЫПОЛНЕННЫХ ДВУМЯ МЕТОДАМИ ИССЛЕДОВАНИЯ**METHODICAL ASPECTS OF A BIOMETRIC APPROACH TO COMPARISON OF MEASUREMENT RESULTS PERFORMED BY TWO RESEARCH METHODS***Еркудов В.О., Пуговкин А.П.*¹ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет»
Минздрава России, г. Санкт-Петербург, verkudov@gmail.com

В острых опытах на животных нами была апробирована возможность регистрации сердечного выброса (СВ) [1,5] и системного артериального давления (САД) [1-5] по данным анализа формы пульсовой волны в периферических сосудах с применением передаточных функций (ПФ) в условиях стабильной гемодинамики [1] и при различных сдвигах системы кровообращения [2-5]. При этом сравнение значений СВ и САД, полученных с применением «золотого стандарта», то есть инвазивного способа регистрации, и рассчитанных с применением ПФ производили только скрининговым способом – по наличию или отсутствию статистически значимых отличий между ними. Целью данной работы является обоснование протокола сравнения двух методов исследования ударного объема левого желудочка (УОЛЖ): «опытного», полученного в результате расчета с ПФ и «золотого стандарта» – ультразвуковой регистрации данного показателя. Тридцати четырем добровольцам проводили регистрацию М-модальной эхокардиограммы на аппарате марки «SA 9900» производства Samsung Medison с датчиком в диапазоне испускаемых частот 2-5 мГц с расчетом значений УОЛЖ по способу Тейхольца синхронно с регистрацией пульсовой кривой с применением прибора САКР-2 [5] с последующем расчётом значений УОЛЖ с применением ПФ.

Для выявления возможности внедрения и разработки «опытного» метода необходимо биометрическими способами выявить его отличия от «золотого стандарта». Для этого предложен следующий протокол [6]:

1. Проверка наличия статистически значимых отличий значений, полученных двумя методами регистрации, рассматриваемыми как две независимые выборки. Для этого использован U-критерий Манна-Уитни, применяли программу статистической обработки данных Past version 2.17, Norway, Oslo, 2012.
2. Расчет и анализ 95% доверительных интервалов (95% ДИ) для разницы средних значений УОЛЖ, полученных разными способами. Для этого использовали приложение для Excel из прикладного пакета Microsoft Office 2010 Exploratory Software for Confidence Intervals (ESCI-JSMS), Melbourne, Australia, 2001.
3. Проверка силы статистической связи между значениями УОЛЖ, полученными разными способами – расчет коэффициента корреляции Спирмена с применением программы статистической обработки данных Past version 2.17, Norway, Oslo, 2012.
4. Анализ пропорциональности методов при допущении, что данные, полученные с применением «золотого стандарта» не имеют варьирования, то есть создаются условия, близкие к калибровочным. Расчет выполнялся с применением программы статистической обработки данных Past version 2.17, Norway, Oslo, 2012.
5. Применение метода Бланда-Альтмана: вычисление средней разности между значениями, полученными разными методами, для анализа систематического расхождения данных и стандартного отклонения для средней разности, а также сравнение стандартного отклонения и значений УОЛЖ, полученных «опытным» способом. Вычисления производились в программе Statistica 10 (StatSoft Inc, USA, 2010)
6. Анализ погрешности (1): вычисление среднего значения погрешности, доли погрешности менее 10%, от 10% до 19%, от 20 до 39% и 50% до 99% и более 100% по отношению к общему числу пар данных, измеренных разными способами. Кроме этого, вычислялась доля пар данных с положительной (недооценка результатов) и отрицательной (переоценка результатов) погрешностью по отношению к общему их числу. Вычисления проводились с помощью StatXact-8 с программной оболочкой Cytel Studio version 8.0.0.

$$ОП\% = \frac{УОЛЖ_{\text{прям}} - УОЛЖ_{\text{пф}}}{УОЛЖ_{\text{прям}}} \times 100 \quad (1),$$
 где: ОП – относительная погрешность; УОЛЖ_{прям} – значения АД, полученные в результате прямого измерения; УОЛЖ_{пф} – значения АД, рассчитанные с применением ПФ.

Значения, полученные прямым способом (μ ; 95%ДИ) 72,4647 (65,359; 79,57) мл/мин и рассчитанные с применением ПФ 74,0719 (62,165; 85,979) мл/мин, статистически значимо не отличаются друг от друга, так как $p=0,8297$. Это означает, что получить наблюдаемые значения, если верна нулевая гипотеза (значения не отличаются), составляет более 80%. 95% ДИ для разницы средних составляет от -16,08 мл/мин (нижняя граница) до 19,68 мл/мин (верхняя граница). В полученный 95% ДИ для разницы средних величин УОЛЖ входит значение «0», значит, оцениваемые этим интервалом случайные величины разницы средних статистически не отличаются от «0», на этом основании мы можем принять нулевую гипотезу о равенстве величин УОЛЖ и отклонить альтернативную. Коэффициент корреляции Спирмена составил 0,74, $p=5,0633 \times 10^{-7}$. Вероятностная мера связи между данными умеренная, положительная. Получено, что значения, полученные «опытным» способом измерения УОЛЖ и «золотым стандартом» пропорциональны друг другу (2).

$$y = -7,38 \text{ (96\%ДИ: } -34,32; 20,81) + 1,12 \text{ (95\%ДИ: } 0,72; 1,50)x, R^2=0,67, p=0,000014155 \text{ (2)}$$

Анализ Бланда-Альтмана показал, что средняя разность между парами измерений составляет 1,6 мл/мин, это означает, что «опытный» метод в среднем переоценивает результаты на данную величину и отсутствует систематическое расхождение. Стандартное отклонение для средней разности составило 25,43 мл/мин, что сравнительно невелико по отношению к величине УОЛЖ, измеренных неинвазивным способом. Значение

погрешности (μ ; 95%ДИ): 14,92 (-5,45; 35,29) %. Доли погрешности (μ ; 95%ДИ для доли) менее 10% составило 0,32 (0,14; 0,54), от 10% до 19% и от 20 до 39% по 0,21 (0,07; 0,41), от 50% до 99% – 0,14 (0,04; 0,36), более 100% – 0,12 (0,03; 0,31). Значения положительной погрешности составили (μ ; 95%ДИ) 63,41 (21,55; 105,28)%, доля пар данных с положительной погрешностью (μ ; 95%ДИ для доли) 0,41 (0,22; 0,62). Значения отрицательной погрешности составили (μ ; 95%ДИ): -17,49 (-24,89; -10,08), доля пар данных с отрицательной погрешностью (μ ; 95%ДИ для доли) 0,59 (0,38; 0,78).

Таким образом, показано, что в данном случае значения, полученные «опытным» способом статистически значимо не отличаются друг от друга, что проверено как минимум, двумя статистическими критериями, имеют умеренную силу статистической связи и пропорциональны значениям, полученным в результате прямого измерения. Также показано отсутствие систематического расхождения между обсуждаемыми методами исследования и рассчитана погрешность измерения.

В заключение необходимо отметить, что ни один из способов оценки согласованности методов исследования не претендует на то, чтобы являться критерием абсолютной взаимозаменяемости способов исследования. Вместе и по отдельности они представляют лишь совокупность биометрических «маркеров», сообщающих о целесообразности дальнейшего физиологического и клинического обоснования, апробации, внедрения данного метода в рутинную практику. Только после такой апробации, а также получении практических сведений об их «поведении» в реальных ситуациях, возможно его рекомендовать для широкого применения.

1. Балужева Т.В., Верлов Н.А., Еркудов В.О., Ланда С.Б., Пуговкин А.П., Сергеев И.В. Оценка параметров системной гемодинамики по данным исследования периферических сосудов. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2011. Т. 10. № 2 (38). С. 79-84.

2. Балужева Т.В., Верлов Н.А., Еркудов В.О., Ланда С.Б., Пуговкин А.П., Сергеев И.В., Федосенко Н.Г. Оценка параметров системной гемодинамики по данным исследования периферических сосудов после введения вазоактивных препаратов. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2012. Т. 11. № 3 (43). С. 57-63.

3. Балужева Т.В., Верлов Н.А., Еркудов В.О., Ланда С.Б., Пуговкин А.П., Сергеев И.В., Федосенко Н.Г. Оценка системного артериального давления по данным исследования периферических сосудов после нагрузки объемом и моделирования острой кровопотери. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2013. Т. 12. № 2 (46). С. 74-82.

4. Еркудов В.О., Пуговкин А.П., Верлов Н.А., Сергеев И.В., Иевков С.А. Погрешность расчёта системного артериального давления с применением передаточных функций при изменении объема циркулирующей крови в остром эксперименте. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2016. Т. 60. № 1. С. 45-49.

5. Пуговкин А.П., Еркудов В.О., Верлов Н.А. Неинвазивные методы исследования в физиологии кровообращения.– Санкт-Петербург: «СпецЛит», 2018. 199 стр.

6. Ludbrook J. Confidence in Altman-Bland plots: a critical review of the method of differences // Clin Exp Pharmacol Physiol. 2010. Vol 37. № 2. P. 143-1499

МОНИТОРИНГ ВЕГЕТАТИВНОЙ СОСТАВЛЯЮЩЕЙ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО НАПРЯЖЕНИЯ У ДЕТЕЙ ПРИ АДАПТАЦИИ К ШКОЛЬНОЙ СРЕДЕ

MONITORING THE VEGETATIVE COMPONENT OF MENTAL AND EMOTIONAL STRESS IN CHILDREN DURING ADAPTATION TO THE SCHOOL ENVIRONMENT

Еркудов В.О.¹, Пуговкин А.П.¹, Огородникова Е.А.², Сергеев И.В.²

¹ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, verkudov@gmail.com

²ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук, г. Санкт-Петербург

Процесс адаптации детей к образовательной среде в современных условиях нередко сопровождается формированием у них тревожных состояний, сочетающихся с изменением вегетативной регуляции сердечной деятельности. Увеличение тонуса симпатической нервной системы в отношении сердца и, как следствие, изменение кардиоритма при развитии психоэмоционального напряжения у ребенка в условиях школы открывает возможность использования скринингового анализа вариабельности сердечного ритма (ВСР) в качестве маркера данного состояния. Стрессогенность школьной среды, особенно при возрастании информационной нагрузки в условиях увеличения требований к уровню подготовленности ребенка, является одной из причин формирования неврозов и неврозоподобных состояний в подростковом возрасте. Поэтому целью данной работы являлось выявление закономерностей изменения и характеристик тонуса вегетативной нервной системы у подростков в условиях подготовки к основному государственному экзамену (ОГЭ) и единому государственному экзамену (ЕГЭ).

Исследование выполнено в рамках договора о сотрудничестве между Санкт-Петербургским педиатрическим медицинским университетом и средней общеобразовательной школой № 225 Адмиралтейского района Санкт-Петербурга, на базе которой проводилась работа. В обследовании приняли участие 67 подростков обоего пола от 13 до 16 лет – ученики данной школы. Всем добровольцам в течение урока по подготовке к ОГЭ или ЕГЭ в положении сидя проводили регистрацию фотоплетизмограммы на I пальце правой руки с применением программно-аппаратного комплекса BioMouse («Биомышь исследовательская КПФ-01b», ЗАО «Нейролаб», Россия, Москва, 2008 год) с целью последующего анализа кардиоинтервалограммы в течение 5 минут. С помощью компьютерной системы сбора и анализа данных «Комплекс BioMouse», версия 3.1, сборка 4120 (редакция 2733), ЗАО «Нейролаб», Москва, Россия, 2008 год рассчитывались основные показатели ВСР. На основании анализа параметров ВСР осуществляли отбор испытуемых в экспериментальные группы согласно общепринятой методике. На первом этапе отбора критерием включения испытуемого в группу детей с преобладанием тонуса симпатической системы (ПТСНС) являлась одна из двух комбинаций у данного испытуемого: либо ИН больше 100 усл. ед. и VLF больше 240 мс², либо ИН больше 100 усл. ед. и VLF больше 240 мс². Критерием включения испытуемого в группу детей с преобладанием тонуса парасимпатической нервной системы (ПТПНС) была одна из двух комбинаций у данного испытуемого: либо ИН больше 25 и меньше 100 усл. ед. и VLF больше 240 мс², либо ИН меньше 25 усл. ед. и VLF больше 500 мс². Критерием исключения испытуемого из обследования являлось непопадание полученных ИН и (или) VLF в указанные диапазоны. На втором этапе проводилось сравнение всех показателей ВСР с целью выявления их отличительных особенностей в группах детей с ПТСНС и ПТПНС с применением U-критерия Манна-Уитни.

В результате проведенного исследования выявлено долевое соотношение (среднее значение доли и 95% доверительный интервал для доли) испытуемых с ПТСНС 0,16 (0,08; 0,28) и ПТПНС 0,84 (0,72; 0,92), по отношению к общему числу обследованных детей. Показано, что у детей с ПТСНС имеют место статистически значимо большие значения АМо,% и ИН и меньшие значения RR, МхDMn, RMSSD, рNN50%, SDNN, TP и HF. Преобладание ПТПНС характеризуется статистически значимым возрастанием значений RR, МхDMn, RMSSD, рNN50%, SDNN, TP и HF и снижением АМо,% и ИН.

Таким образом, от 10% до 30% (округлено) подростков предэкзаменационный период при подготовке к государственным экзаменам имеют выраженную стрессорную реакцию, сопровождающуюся через повышенный тонус симпатической нервной системы. В работе показана эффективная и доступная в данных условиях, неинвазивная, технически несложная, недорогая и доступная методика регистрации показателей ВСР с применением программно-аппаратного комплекса отечественного производства, использование которой не предполагает создание серьезных помех для проведения урока.

ИЗМЕРЕНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ПАССИВНОЙ АКУСТИЧЕСКОЙ ТЕРМОМЕТРИИ

MEASUREMENT OF THE HUMAN BODY TEMPERATURE BY MEANS OF PASSIVE ACOUSTIC THERMOMETRY

Ерофеев А.В., Аносов А.А., Мансфельд А.Д.¹, Шаракианэ А.А.², Щербаков М.И.²

Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, г.Москва¹ ИПФ РАН, г.Нижний Новгород.

² ИРЭ им. В.А.Котельникова РАН, г.Москва.

astroragat@gmail.com

Цель исследования. Измерение температуры внутренних органов в норме и при воздействии на организм человека активных физических и химических средств.

Материалы и методы. Тепловое акустическое излучение измерялось многоканальным акустотермограф, разработанный в ИПФ РАН (полоса пропускания 1.6-2.5 МГц, пороговая чувствительность при времени интегрирования 10 с – 0.2 К). Принимаемые акустические сигналы преобразовывались в электрические, которые усиливались, проходили через квадратичный детектор и усреднялись в течение 30 мс. С выходов многоканального акустотермографа сигналы подавались на 14-ти разрядный многоканальный АЦП E14-140 (ЗАО «L-Card», Москва, Россия) с частотой дискретизации 1 кГц на один канал. Разработанная программа проводила дальнейшее усреднение данных. Для измерения поверхностной температуры использовался портативный компьютерный термограф ИРТИС-2000 (ООО "Иртис", Москва, Россия) с чувствительностью к перепаду температур (на уровне 30°C) 0.05 К, регистрировавший тепловое электромагнитное излучение в инфракрасном (ИК) диапазоне 3-5 мкм.

Результаты исследования. 1. Измерения теплового акустического излучения правого подреберья проводились до и после приема испытуемым сахара. Одновременно проводились измерения концентрации глюкозы в крови. В течение часа содержание глюкозы выросло от 4 до 8 ммоль/л, после чего начало снижаться. С задержкой в полчаса после увеличения концентрации глюкозы измеряемая акустотермическая температура увеличилась на 2,5°C. 2. Измерения теплового акустического излучения верхней трети левого предплечья

проводилось до и после втирания в кожу разогревающих мазей (Капсикам, Феналгон); одновременно измерялась поверхностная температура портативным компьютерным термографом ИРТИС-2000. В первые 5-10 минут зарегистрировано уменьшение акустояростной температуры на 3-6°C, после чего значения акустояростной температуры постепенно превышало уровень, который был до нанесения мази. Тепловые эффекты были рассчитаны по уравнению теплопроводности с кровотоком с изменением такого параметра, как температуры притекающей крови. Рассчитанная с использованием уравнения теплопроводности временная зависимость акустояростной температуры согласуется с экспериментальными данными.

Заключение. Экспериментально было показано, что пассивную акустическую термометрию эффективно использовать для измерения температуры внутренних органов тела человека.

О СХОДСТВЕ ИММУННЫХ «МИШЕНИЙ» ПРИ РЕАЛИЗАЦИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЭФФЕКТОВ НИЗКОИНТЕНСИВНЫХ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ И НАНОЧАСТИЦ МАГНЕТИТА

ABOUT THE SIMILITY OF IMMUNE “TARGETS” DURING THE IMPLEMENTATION OF THE ANTITUMOR EFFECTS OF LOW-INTENSITY ELECTROMAGNETIC IMPACTS AND MAGNETITE NANOPARTICLES

Жукова Г.В., Шихлярова А.И., Гудцова Т.Н., Протасова Т.П., Ткачев С.Ю., Триандафилиди Е.И., Быкадорова О.В., Шапкина Л.Ю.

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» МЗ РФ, Ростов-на-Дону,
galya_57@mail.ru

В фундаментальной и клинической медицине остается актуальным вопрос о разработке нетоксичных воздействий, направленных на активизацию иммунных противоопухолевых процессов. Ранее была показана возможность торможения роста экспериментальных опухолей в 1.5 - 4 раза и даже достижения их полной регрессии у части животных с помощью слабых электромагнитных излучений (ЭМИ) различных диапазонов – от инфранизкочастотного (ИНЧ) до крайне высокочастотного (КВЧ) – применяемых в режимах активационной терапии [1]. При этом низкая интенсивность ЭМИ и локализация воздействия на структуры мозга исключали возможность прямого повреждающего эффекта на клетки опухоли. Особого внимания заслуживали случаи регрессии крупных опухолей. У части белых беспородных крыс (33-39%) с перевивной лимфосаркомой Плисса, отличающейся быстрым ростом и устойчивостью к химиотерапии и лучевой терапии, была получена частичная (на 40-50%) или полная регрессия опухолей объемом 6-13 см³ при воздействии только модулированным ЭМИ КВЧ на голову животных.

Около 10 лет назад нами впервые была показана возможность достижения торможения роста и регрессии перевивных опухолей в экспериментах *in vivo* помощью наночастиц (НЧ) магнетита, применявшихся в форме магнитной жидкости, без использования каких-либо специальных противоопухолевых средств [2,3]. НЧ магнетита вводили перитуморально вдоль периметра опухоли на расстоянии 1.5-2 см от её границ. Как и в случае использования ЭМИ КВЧ, наиболее значительный эффект НЧ был получен у крыс с лимфосаркомой Плисса. При этом нередко удавалось добиться полной регрессии опухолей объемом 20см³ и более, то есть более крупных по сравнению с опухолями, регрессировавшими под воздействием ЭМИ КВЧ.

Динамика регрессии опухолей больших размеров, активная инфильтрация ткани опухоли клетками иммунной системы и признаки активизации межклеточных взаимодействий в зоне опухоли и органах иммунной системы, а также отсутствие признаков интоксикации животных позволили сделать предположение об активизации опухолеспецифических иммунных процессов и элиминации клеток опухоли путем индукции апоптоза, как в случае применения ЭМИ, так и в случае использования НЧ магнетита. При инъекции НЧ магнетита наблюдалось активное поглощение НЧ магнетита макрофагами перитуморальной зоны. Сведения литературы о влиянии микроокружения на поляризацию макрофагов, а также о связи поляризации макрофагов с соотношением активности транспортных железосодержащих белков ферритина и ферропортина [4] указывали на возможность изменения поляризации опухолеассоциированных макрофагов М2 → М1 под влиянием гуморальных факторов НЭС в случае ЭМИ или под влиянием НЧ магнетита, что позволяло в обоих случаях преодолевать механизм избегания опухолью иммунного надзора, инициировать процесс презентации опухолевых антигенов и вызывать гибель злокачественных клеток.

Таким образом, макрофаги и другие клетки иммунной системы могли явиться общими «мишенями» при опосредованных противоопухолевых эффектах слабых ЭМИ и НЧ магнетита. Результаты совместного действия активационной электромагнитотерапии и НЧ магнетита свидетельствовали о синергичном влиянии этих факторов на клетки иммунной системы и возможности усиления противоопухолевых эффектов НЧ магнетита с помощью поличастотного ИНЧ ЭМИ. Это выражалось у крыс в увеличении числа случаев регрессии лимфосаркомы Плисса (в 1.5-2 раза), усилении торможения роста карциномы Герена (до 7 раз), а

также в двукратном увеличении числа мышей-самок линии C57Black/6 с меланомой B16, у которых продолжительность жизни превышала максимальные значения показателя в контрольной группе.

1. Garkavi L.H., Zhukova G.V., Shikhliarova A.I., Evstratova O.F., Barteneva T.A., Gudzkova T.N., Bragina M.I., Maschenko N.M., Grigorov S.V., Sakun P.G. Antitumor action and other regulatory effects of low-intensity electromagnetic and chemical factors in an experiment. *Biophysics*. 2014; 59(6): 944-953.
2. Гаркави Л.Х., Жукова Г.В., Бартенева Т.А., Зернов В.А., Руденко М.Ю. Способ лечения злокачественных новообразований в эксперименте. Патент на изобретение RUS 2474884 25.03.2010.
3. Zhukova G.V., Goroshinskaya I.A., Shikhliarova A.I., Kit O.I., Kachesova P.S., Polozhentsev O.E. On the self-dependent effect of metal nanoparticles on malignant tumors. *Biophysics*. 2016; 61(3): 470-484.
4. Cairo G., Locati M., A. Mantovani A., Control of iron homeostasis as a key component of macrophage polarization. *Haematologica*. 2010; 95 (11): 1801-1803.

ЯПОНСКИЙ ПЕРЕПЕЛ *COTURNIX JAPONICA*, КАК ЖИВОТНАЯ МОДЕЛЬ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МИОПИЗАЦИИ ГЛАЗА

JAPANESE QUAIL *COTURNIX JAPONICA* AS ANIMAL MODEL OF EXPERIMENTAL EYE MYOPIA

Зак П.П., Петронюк Ю.С., Трофимова Н.Н., Левин В.М., Храпцова Е.А., Демчук А.Е., Мисяков А.Н.,
Погодина Л.С.¹, Гурьева Т.С.², Дадашева О.А.², Нижник А.Н.³

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, pavelzak@mail.ru

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

²Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

³«Клиника новых медицинских технологий АрхиМед», Москва

В настоящее время детская близорукость становится массовым явлением. Целью работы было создание экспериментальной животной модели быстрой миопизации глаза. Развитие близорукости во многом зависит от спектрального состава повседневного освещения, которое через выработку ретинального мелатонина, влияет на рост тканей глаза. В этой связи актуальным дискуссионным вопросом является оценка светогигиеничности современных источников искусственного освещения. Цыплята домашних кур являются удобным и популярным объектом для таких исследований. Показано, что выращивание цыплят при синем освещении приводит к формированию гиперопии (дальнозоркости), а при красном к миопии [1]. При этом клетки склеры и роговицы содержат многочисленные мелатониновые рецепторы [2]. Популярной и результативной животной моделью самых разных зрительных нарушений является мелкая домашняя птица семейства куриных японский перепел *Coturnix japonica* [3]. Для перепела характерен чрезвычайно высокий темп обменных процессов, быстрое созревание организма и экстремально высокий уровень синтеза ретинального мелатонина [4]. Нами отработан комплекс методов, позволяющих в ускоренной временной шкале исследовать ранние процессы миопизации глаза на 10-20-ти дневных цыплятах *C.japonica*. В качестве инструмента формирования глаз используется повседневное освещение разного спектрального состава. Суточная ритмика освещения состоит из 9 часов ночной темноты и 15 часов освещения с энергией светового облучения 0,004 мвт/см² при свободном перемещении птиц по клетке. Вывод животных из эксперимента производится декапитацией в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». В экспериментах *in vivo* предусмотрен обратимый дыхательный изофурановый наркоз. Измерения формы и размеров глаза, толщины и структурированности склеры выполняются *in situ* и *in vivo* методом ультразвуковой акустической микроскопии [5] при частоте 50 МГц. Характерные размеры нормального глаза 10-ти дневных цыплят составляют: аксиальная длина 3,9 мм, экваториальный диаметр 3,6 мм, глубина передней камеры 0,9 мм, глубина задней камеры 2,5 мм. Прижизненные измерения толщины сетчатки и сосудистой оболочки выполняются оптико-когерентной томографией глаза. Характерные толщины в центральной зоне составляют для сетчатки 120 мкм, и для сосудистой оболочки 80 мкм. Прижизненные измерения дополнены гистологией сетчатки и склеры с учетом артефактов формальдегидной фиксации. Методом просвечивающей электронной микроскопии оценивается численность и расположение водных пор, лимитирующих водный обмен между капиллярами сосудистой оболочки и сетчаткой. Показано, что у контрольных животных эти фенестры и трансэпителиальные каналы могут меняться по численности в зависимости от освещения. Содержание ретинального мелатонина, как светозависимого фактора, контролирующего рост глаза и сосудов хориоидеи, определяется методом tandemной хромато-масс-спектрометрии. Показано, что 80% глазного мелатонина в глазах перепела синтезируется в сетчатке (фоторецепторах). При этом за счет циркадной ритмики выработка мелатонина в глазу перепела меняется в 100 раз от 10000 пг/мг сыр. массы сетчатки в ночное время до 400 пг/мг сыр. массы в дневное время. В целом, предложенная модель в полной мере отвечает требованиям задач по выявлению факторов миопизации глаза в раннем возрасте.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 17-04-00708.

1. Foulds W. et al. Progressive myopia or hyperopia can be induced in chicks and reversed by manipulation of the chromaticity of ambient light // *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013. Dec 9;54(13). P. 8004-12.
2. Jody A. et al. Melatonin Receptors in Chick Ocular Tissues: Implications for a Role of Melatonin in Ocular Growth Regulation // *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2006. Vol.47. No.1. P. 25-33.
3. Зак П.П. и др. Фотоиндуцированные изменения субклеточных структур ретинального пигментного эпителия перепела *Coturnix japonica* // *Биохимия*. 2015. Т. 80. № 6. С. 931-936.
4. Steele C. et al. Time keeping by the quail's eye: circadian regulation of melatonin production // *Gen. Comp. Endocrinol*. 2006. Feb;145(3). P. 232-6.
5. Денисова Л.А. и др. Использование методов акустической микроскопии для исследования эмбрионального развития японского перепела // *Технологии живых систем*. 2006. Т. 3. №1. Стр. 56-63.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ УЛЬТРАЗВУКА ДЛЯ МОНИТОРИНГА И КОРРЕКЦИИ АГРЕГАТНОГО СОСТОЯНИЯ КРОВИ В ИНТЕНСИВНЫХ ПОТОКАХ IN VITRO

ULTRASONIC METHODS FOR MONITORING AND CORRECTION OF BLOOD AGREGATE STATE UNDER INTENSIVE FLOW CONDITIONS IN VITRO

Ивлев Д.А., Ширинли Ш.Н.¹, Гурия К.Г.¹, Узлова С.Г., Гурия Г.Т.

Национальный Медицинский Исследовательский Центр гематологии Минздрава РФ;

¹Московский физико-технический институт

Проблема регистрации быстрых биологических процессов посредством физических методов – одна из важных задач современной биофизики. Процессы смены кровью агрегатного состояния, свертывание и фибринолиз, принадлежат к числу быстропотекающих: многие тромботические ситуации могут развиваться стремительно, за считанные минуты. В связи с последними достижениями в области пьезоэлектрики, миниатюризации устройств и хранения данных, ультразвуковые методы стали использоваться повсеместно. Уже более десяти лет акустические методы успешно используются для изучения свертывания и фибринолиза [1,2]. Настоящая работа посвящена дальнейшему развитию ультразвуковых методов оценки состояния гемостаза и выяснению возможностей управления агрегатным состоянием крови в реальном времени.

Развитый в работе подход сочетает с одной стороны непрерывный ультразвуковой мониторинг агрегатного состояния текущей крови, а с другой – автоматическую оперативную коррекцию акустически детектируемых процессов свертывания [3,4]. Стадийность развития процессов свертывания и фибринолиза в экспериментальной системе надежно регистрируется с помощью ультразвукового доплеровского метода. Было показано, что опираясь на данные ультразвукового мониторинга можно эффективно координировать введение препаратов, растворяющих фибриновые сгустки. За счет своевременного впрыска тромболитиков удавалось предотвращать образование крупных тромбов, способных перекрыть поток. Был предложен новый интегральный критерий эффективности фибринолиза, основанный на акустических данных. В работе также было исследовано влияние величины задержки введения препарата после регистрации начала свертывания на эффективности фибринолиза. Продемонстрировано, что устойчивость сгустков к действию фибринолитических препаратов в условиях экспериментальной системы нарастает стремительно, уже в первые минуты их формирования. Эксперименты показали, что главным механизмом возникновения такой устойчивости является действие фактора XIII системы свертывания крови.

Развитый в рамках работы биофизический подход может быть использован как для сравнения уже используемых в практике фибринолитических препаратов, так и для испытания новых. Открываются перспективы для создания нового класса носимых на теле или даже имплантируемых устройств для коррекции возникающих тромботических ситуаций в реальном времени.

Работа была поддержана грантом Российского Научного Фонда «Исследование активации тромбообразования в интенсивных потоках крови» №19-11-00260.

1. Грибаускас П. и др. Исследование биологических жидкостей ультразвуковым коагулографом. // *Биофизика*. – 2005. – Т. 50. – №. 3. – С. 550-558.
2. Uzlova S. G., Guria K. G., Guria G. Th. Acoustic determination of early stages of intravascular blood coagulation. // *Philosophical Transactions of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*. – 2008. – vol. 366. – no. 1880. – pp. 3649-3661.
3. Ивлев Д.А., Ширинли Ш.Н., Узлова С.Г., Гурия К.Г. Ультразвуковой мониторинг процессов свертывания и фибринолиза в интенсивных потоках крови // *Биофизика*, 2018. – Т. 63. №. 4. – С. 803-811.
4. Ivlev D.A., Shirinli Sh.N., Guria K.G., Uzlova S.G., Guria G.Th. Control of fibrinolytic drug injection via real-time ultrasonic monitoring of blood coagulation. // *PLOS ONE*. –2019. – vol. 14. – no. 2:e0211646. – pp. 1-17.

**ИЗУЧЕНИЕ АНТИАГРЕГАЦИОННОГО ДЕЙСТВИЯ НАНОЭМУЛЬСИЙ α -ЛИПОВОЙ КИСЛОТЫ
STUDY OF ANTIPLATELET EFFICIENCY OF NANOEMULSIONS OF α -LIPOIC ACID**

Щелконогов В.А.^{1,2,3}, Шипелова А. В.¹, Синебрюхова А.М.¹, Дарнотук Е.С.¹, Жигалова К. С.² Шастина Н.С.¹, Сорокоумова Г.М.¹, Баранова О.А.^{2,3}, Чеканов А.В.^{2,3}, Казаринов К.Д.³, Соловьева Э.Ю.², Федин А.И.²

¹МИРЭА-Российский технологический университет (ИТХТ), e-mail: vasily9999@yandex.ru

²Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Минздрава России, Россия, Москва, 117997, ул. Островитянова, дом 1.

³ФГБУН Институт радиотехники и электроники имени В. А. Котельникова РАН, г. Фрязино

Избыточная склонность к образованию тромба в кровеносных сосудах является одной из ведущих причин нарушений мозгового кровообращения. Такие нарушения, включающие в себя как острые ишемические инсульты, так и хроническую дисциркуляторную энцефалопатию, к сожалению, наблюдаются нередко и часто приводят к инвалидизации или даже смерти больного. Поскольку в основе избыточного тромбообразования нередко лежит чрезмерно высокая активность тромбоцитов, при профилактике и лечении цереброваскулярных заболеваний необходимо применять антиагрегационные и антиоксидантные лекарственные средства, нормализующие повышенную склонность тромбоцитов к адгезии и агрегации. Научные публикации по этой теме показывают, что одним из наиболее универсальных и перспективных антиоксидантов в комплексной терапии ишемии головного мозга в настоящее время является альфа-липоевая кислота (ЛК) [1]. Целью данной работы было получение наноэмульсий, содержащих липоевую кислоту, а также изучение влияния полученных ЛК-наноэмульсий на агрегацию тромбоцитов в плазме человека. Ранее были получены липосомы с ЛК, характеризующиеся 85%-ной эффективностью включения субстанции и стабильностью при длительном хранении. Также было изучено влияние липосом с ЛК на агрегацию тромбоцитов [2].

В результате проведенных исследований были получены и охарактеризованы наноэмульсии с липоевой кислотой на основе фосфатидилхолина (соотношение ФХ:ЛК=1:2, ЛК-ФХ) либо 0.3% Плуороника Ф68 (ЛК-Ф68) в фосфатном буферном растворе (рН 7.4), характеризующиеся стабильностью при хранении при комнатной температуре в течение более 2 месяцев. Размер наночастиц ЛК-ФХ колебался в диапазоне 110–190 нм, а среднее значение индекса полидисперсности составило 0.25. Нанодисперсии ЛК с 0.3% раствором Плуороника Ф68 включали в себя 2 фракции НЧ: 50–90 нм (10–20%) и 130–350 нм (80–90%), индекс полидисперсности составил 0.3. Необходимо отметить, что концентрация ЛК в полученных наноэмульсиях была в 1.5 раза больше, чем в ранее полученных нами ЛК-липосомах [2].

С помощью оптического четырехканального агрегометра Helena AggRAM (Великобритания) были проведены сравнительные исследования влияния полученных нанодисперсий, содержащих ЛК, на агрегацию тромбоцитов в плазме крови, взятой у здоровых доноров. Агрегацию тромбоцитов индуцировали арахидоновой кислотой. В результате проведенных исследований было обнаружено, что фосфатидилхолиновые наноэмульсии, содержащие ЛК ($C_{\text{ЛК}}=1.1\text{--}4.0$ мМ), подавляли агрегацию тромбоцитов, обусловленную АК, на 30–81%. Вместе с этим было выявлено, что пустые фосфатидилхолиновые наноэмульсии ($C_{\text{ФХ}}=0.13\text{--}0.5$ мМ) незначительно (на 10–15%) уменьшали агрегацию Тц, вызванную этим индуктором. Кроме того наноэмульсии состава ЛК-Ф68 ($C_{\text{ЛК}}=1.3\text{--}4$ мМ) эффективней наноэмульсий ЛК-ФХ ингибировали агрегацию Тц (50–81%), обусловленную АК. В дополнении было установлено, что Ф68 в диапазоне (в интервале) концентраций 0.01–1.4% не оказывал влияния на агрегацию Тц.

Таким образом, проведенные исследования в данной работе показывают, что полученные наноэмульсии с липоевой кислотой на основе ФХ или Ф68 эффективно подавляют агрегацию Тц, что позволяет в дальнейшем, после проведения дополнительных исследований, использовать полученные наночастицы с ЛК в качестве нового возможного лекарственного средства при комплексной терапии сосудистых заболеваний головного мозга.

1. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга // М.: "Медицина", 2001., 328 с.

2. Щелконогов В.А., Сорокоумова Г.М., Баранова О.А. и др. Липосомальная форма липоевой кислоты: получение и определение антиагрегационной и антиоксидантной активности.// Биомедицинская химия. 2016, 5, 577-583 с.

РАДИОЗАЩИТНЫЕ СВОЙСТВА НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ RADIOPROTECTIVE PROPERTIES OF CERIUM DIOXIDE NANOPARTICLES

Каменских К.А., Ермаков А.М., Попов А.Л.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук (ИТЭБ РАН), г. Пушкино Московской обл., kristina.kamensk@mail.ru

Современный уровень развития нанотехнологий позволяет получать новые полифункциональные материалы, обладающие уникальными физико-химическими свойствами, которые находят свое широкое применение в биомедицинских приложениях. Одним из наиболее перспективных материалов для биомедицинских целей является нанокристаллический диоксид церия (НДЦ). Наличие дефектов кристаллической решетки («кислородных вакансий»), двух стабильных степеней окисления (Ce^{3+} и Ce^{4+}) и низкая энергия их образования, обуславливают уникальную редокс-активность данного соединения, в том числе его антиоксидантное действие в системах *in vitro* и *in vivo* [1]. На уровне *in vitro* было установлено, что микро и наномолярные концентрации НДЦ способны стимулировать пролиферацию стволовых клеток человека и мыши [2]. Для изучения радиозащитных свойств наночастиц были использованы пресноводные плоские черви планарии *Schmidtea mediterranea* и *Girardia tigrina* – уникальные организмы, способные к неограниченной регенерации за счет наличия в теле стволовых клеток – необластов. Воздействие ионизирующей радиации приводит к гибели необластов и потери способности животного к регенерации. Цель нашего исследования – изучение радиозащитного эффекта нанокристаллического оксида церия на примере регенерации головного конца тела планарий.

Цитрат-стабилизированные НДЦ синтезировали как описано в работе [3], в экспериментах НДЦ добавляли непосредственно в воду с животными за сутки до облучения в концентрациях от 10^{-4} до 10^{-12} , перед облучением раствор наночастиц заменяли водой. Животных облучали рентгеном в дозах 10 и 15 Гр, скорость регенерации животных оценивали методом прижизненной компьютерной морфометрии путем измерения роста площади бластемы. Методом иммуногистогимии оценивали изменения количества пролиферирующих стволовых клеток. Для этого у фиксированных планарий оценивали число митотических клеток, помеченных антителами к фосфорилированному гистону 3. Методом RAPD PCR оценивали стабильность геномной ДНК планарий и возможные генотоксичные эффекты НДЦ. Методом ПЦР в реальном времени определяли изменения уровня экспрессии генов – маркеров стволовых клеток планарий в контроле и на фоне присутствия НДЦ в воде с регенерирующими планариями, а также после их облучения рентгеном.

В результате исследования нами было обнаружено, что НДЦ не вызывают развития генотоксичных эффектов даже в высоких концентрациях (10^{-4} М), не оказывают влияния на жизнеспособность регенерирующих животных. Уже на третьи сутки регенерации головной части облучённых планарий наблюдались статистически значимые результаты – размер бластемы животных после обработки НДЦ и облучения рентгеном больше, чем без радиопротектора. Анализ экспрессии генов-маркеров стволовых клеток, регулирующих регенерацию планарий, выявил, что НДЦ сохраняет транскрипционную активность этих генов. Также в теле регенерирующих планарий, инкубированных с НДЦ, нами обнаружено увеличение митотической активности стволовых клеток – необластов.

Таким образом, нами показано, что нанокристаллический диоксид церия обладает радиопротекторными свойствами и способен стимулировать регенерацию планарий. Данный эффект реализуется за счет сохранения при облучении рентгеном в присутствии НДЦ стволовых клеток и экспрессии генов в них, ответственных за их функционирование и митотическую активность.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-34-00820 мол_а.

1. Shcherbakov A.B., Zholobak N.M., Ivanov V.K., Ivanova O.S., Marchevskii A.V., Baranchikov A.E., Spivak N.Ya., Tretyakov Yu.D. Synthesis and antioxidant activity of biocompatible maltodextrin-stabilized aqueous sols of nanocrystalline ceria // Russ. J. Inorg. Chem. 2012. V.57. №11. P.1411–1418.
2. Popov A.L., Popova N.R., Selezneva I.I., Akkizov A.Y., Ivanov V.K. Cerium oxide nanoparticles stimulate proliferation of primary mouse embryonic fibroblasts *in vitro* // Mat. Sci. Eng. C., 2016, V. 68, P. 406–413.
3. Ivanov, V.K., Maksimov, V.D., Shaporev, A.S. et al. Hydrothermal synthesis of efficient TiO₂-based photocatalysts// Russ. J. Inorg. Chem., 2010, V. 55, № 2, P. 154-159.

ПРИМЕНЕНИЕ ПРОГРАММНОГО КОМПЛЕКСА IMAGEJ ДЛЯ АНАЛИЗА ФАЦИЙ БЕЛКОВО-СОЛЕВОГО РАСТВОРА**APPLICATION SOFTWARE FOR ANALYSIS FACIES IMAGEJ PROTEIN-SALT SOLUTION***Капцуков Р.А.¹, Бадекин М.Ю.²*¹ ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет», г. Донецк, E-mail spectrolite@mail.ru² ГУ ВПО «Донецкий национальный университет экономики и торговли имени Михаила Туган-Барановского» г. Донецк.

В последнее время ведутся исследования в области дегидратации различных биологических жидкостей на гладкой поверхности (подложке) в естественных микроклиматических условиях. В результате высыхания на поверхности подложки формируется структурная картина, по которой предлагается проводить раннюю медицинскую диагностику целого ряда заболеваний. Данный способ получения диагностической информации по самоорганизованной на стеклянной подложке фации в отечественной литературе носит название метод клиновидной дегидратации [1]. Для анализа морфологии структур, сформированных различными биологическими жидкостями, в основном применяется простое описание полученного структурного портрета. В некоторых работах, предлагается использовать для количественного анализа морфологии исследуемых структур применять методы фрактальной геометрии, в частности такой фундаментальный параметр как фрактальная размерность Минковского [2]. Так, в работе [3] авторы использовали фрактальную размерность как основной инструмент анализа морфологии структур, образованных в результате процесса дегидратации модельных водно-солевых растворов, и образцов ротовой жидкости.

В качестве объекта исследования был выбран белково-солевой раствор цитохрома с. Первоначально были получены фации, образованные после дегидратации белково-солевого раствора с различным количеством белка, содержания которого изменялось повышением содержания солевой компоненты, т.е. добавлялось определенное количество физиологического раствора в белково-солевой раствор цитохрома с в медицинской концентрации. Полученные после дегидратации фации визуально изучались на оптическом микроскопе и фиксировались цифровой камерой Nikon при одинаковом увеличении. С целью упрощения расчетов использовалось готовое программное решение – программный комплекс ImageJ в котором реализован целый ряд методов фрактального анализа, а конкретно плагин для расчета фрактальной размерности. В качестве метода бинаризации изображений был выбран метод разделения гистограммы Бернсена [4-5], в рамках которого варьировались пороговые значения яркости исследуемых изображений фаций в пределах от 10 до 200, так как ниже и выше данных критических значений структурные особенности фации не визуализировались. В качестве метода оценки усредненных значений фрактальной размерности использовался метод сеточного усреднения. В зарубежной литературе вышеуказанный метод фигурирует как fractal box count, с таким названием реализация данного алгоритма фигурирует в рамках использованного в данной работе программного комплекса. Для этого использовали команду Analyze-Tools-Fractal Box Count. Значения шага сетки, по которой проводили усреднение, использовались следующие значения 2,3,4,6,8,12,16,32,64 пикселей.

В результате обработки фаций были получены зависимости фрактальной размерности от порога яркости, после изучения которых, наиболее информативной областью, по нашему мнению, является изменение фрактальной размерности D от 1,935 до 1,367. Затем, поведилась оценка возможностей программы для определения зависимости фрактальной размерности от концентрации белка в растворе. В результате полученных графических зависимостей наблюдалось характерное повышение фрактальной размерности при уменьшении содержания в растворе белка, причем на первоначальном этапе, когда содержание белка в растворе понижается на 10 %, наблюдается резкий скачок фрактальной размерности, который затем постепенно снижается. Здесь же можно отметить, что на порогах яркости в диапазоне от 10 до 110 графики зависимости фрактальной размерности от порога яркости имеют более линейный характер.

Таким образом, было определено, что наиболее характерными порогами яркости для возможного определения концентрационной зависимости по изменению фрактальной размерности лежат в диапазоне от 140 до 170.

1. Маркевич В.Э., Кириленко Е.А., Петрашенко В.А., Заблоцкая Т.Ю., Билоконь М.А. Методы клиновидной дегидратации биологических жидкостей // Украинский медицинский альманах. 2014. Т. 17, №. 3. Стр. 55-58.
2. Александров П. С., Пасынков Б. А. Введение в теорию размерности. - М.: Наука, 1973.
3. Булкина Н.В., Бриль Г.Е., Постнов Д.Э., Поделинская В.Т. Количественная характеристика кристаллографической картины ротовой жидкости в норме и при воспалительных заболеваниях пародонта // Вестник новых медицинских технологий, 2013, №. 1, Стр. 220.
4. Прэтт У. Цифровая обработка изображений – М.: Мир, 1982. 790 стр.
5. Ким В., Ярославский Л.П. Ранговые алгоритмы обработки изображений. Адаптивные методы обработки изображений. – М.: Наука, 1988.

ЗНАЧЕНИЕ МЕТОДА КРОСС-ПОЛЯРИЗАЦИОННОЙ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ В ХИРУРГИИ ГЛИОМ ГОЛОВНОГО МОЗГА

SIGNIFICANCE OF THE OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY FOR INTRAOPERATIVE GUIDANCE IN GLIOMA SURGERY

Киселева Е.Б., Яшин К.С.¹, Мусеев А.А.², Шилягин П.А.², Медяник И.А.¹, Загайнова Е.В.¹, Геликонов Г.В.²,
Кравец Л.Я.¹, Гладкова Н.Д.¹

ФГБОУ ВО ПИМУ Минздрава России, г. Нижний Новгород, E-mail: kiseleva84@gmail.com

¹ФГБОУ ВО ПИМУ Минздрава России, г. Нижний Новгород

²ИПФ РАН, г. Нижний Новгород

Радикальность оперативного вмешательства является одним из основных факторов выживаемости у пациентов с глиомами головного мозга [1]. Существенным ограничением объема резекции является сложность визуализации границ опухоли вследствие ее инфильтративного роста. Для интраоперационной идентификации типа ткани наиболее перспективными выглядят оптические технологии. Одним из наиболее перспективных методов является оптическая когерентная томография (ОКТ), основанная на использовании рассеянного низкоинтенсивного света ближнего инфракрасного диапазона и позволяющая получать изображения внутренней структуры ткани на глубину до 1,5 мм с разрешением до единиц микрон [2]. Для интраоперационного применения разработан ряд сертифицированных для клинического применения приборов ОКТ в составе операционного микроскопа [3] и эндоскопических инструментов [4].

В настоящей работе представлено трансляционное исследование, демонстрирующее значимость метода кросс-поляризационной ОКТ (КП ОКТ) [5] в хирургии глиом головного мозга. Кросс-поляризационный режим относится к функциональным расширениям ОКТ и позволяет с большей специфичностью по сравнению с традиционной ОКТ визуализировать наличие в исследуемой ткани миелиновых волокон [6].

Исследования проведено в три этапа: (1) экспериментальная часть на модели глиальной опухоли 101.8 (использованы крысы линии Wistar); (2) *ex vivo* КП ОКТ исследование материала операционных биопсии от 30 пациентов, которое позволило сформулировать критерии дифференцировки белого вещества и опухолевой ткани на основании визуальной оценки КП ОКТ-изображений и расчета оптических коэффициентов с построением двухмерных карт в псевдоцветной палитре; (3) исследование с получением прижизненных КП ОКТ-изображений в ходе оперативных вмешательств у 17 пациентов с глиомами различной степени злокачественности.

На первом этапе были установлены принципиальные различия в характере сигнала между нормальной мозговой тканью и опухолью, а также возможность применения критериев дифференцировки белого вещества и опухоли, сформулированных при анализе *ex vivo* КП ОКТ-изображений для интерпретации прижизненных изображений. На втором этапе были определены критерии дифференцировки белого вещества и опухолевой ткани на основании визуальной оценки КП ОКТ-изображений и расчета оптических коэффициентов, а также с построением двухмерных карт в псевдоцветной палитре. На третьем этапе была подтверждена возможность трансляции выявленных критериев для интраоперационного применения.

Таким образом, продемонстрировано, что КП ОКТ является перспективным методом интраоперационной диагностики в нейрохирургии. Использование визуальных КП ОКТ-критериев позволяет уточнить границы опухолевого процесса как на поверхности коры, так и в белом веществе.

Благодарность. Экспериментальная часть работы на животных поддержана грантом Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых № МК-6634.2018.7, клинические *ex vivo* и *in vivo* исследования проведены при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-29-01049_мк.

1. Almeida J.P. et al. The Value of Extent of Resection of Glioblastomas: Clinical Evidence and Current Approach // *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2014. Vol. 15. P. 517.
2. de Boer J. et al. Twenty-five years of optical coherence tomography: the paradigm shift in sensitivity and speed provided by Fourier domain OCT // *Biomed Opt Express.* 2017. Vol. 8. P. 3248.
3. El-Haddad M.T. and Tao Y.K. Advances in intraoperative optical coherence tomography for surgical guidance // *Curr Opin Biomed Eng.* 2017. Vol. 3. P. 37.
4. Sun C. et al. Neurosurgical hand-held Optical Coherence Tomography (OCT) forward-viewing probe. *Proceedings of SPIE.* 2012. SPIE BiOS, San Francisco, CA, USA. Vol. 8207. P. 82074V.
5. Gelikonov V.M. et al. Cross-polarization optical coherence tomography with active maintenance of the circular polarization of a sounding wave in a common path system // *Radiophys Quant El.* 2018. Vol. 60. P. 897.
6. Yashin K.S. et al. Quantitative nontumorous and tumorous human brain tissue assessment using microstructural co- and cross-polarized optical coherence tomography // *Sci. rep.* 2019. Vol. 9. P. 2024.

ВОЗМОЖНОСТИ МЕТОДА КРОСС-ПОЛЯРИЗАЦИОННОЙ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ В ПРИЖИЗНЕННОЙ ОЦЕНКЕ СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ УРЕТРЫ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ НИЖНИХ МОЧЕВЫХ ПУТЕЙ

THE OPPORTUNITIES OF THE CROSS-POLARIZATION OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY METHOD IN IN VIVO ASSESSMENT OF STRUCTURAL CHANGES OF THE URETRA IN THE LOWER URINARY TRACT DISEASE

Киселева Е.Б., Молви М.А.¹, Шилягин П.А.², Ромашов В.Н.², Юнусова К.Э.¹, Геликонов Г.В.² и Стрельцова О.С.¹

ФГБОУ ВО ПИМУ Минздрава России, г. Нижний Новгород, E-mail: kiseleva84@gmail.com

¹ ФГБОУ ВО ПИМУ Минздрава России, г. Нижний Новгород

² ИПФ РАН, г. Нижний Новгород

Являясь методом прижизненной визуализации, оптическая когерентная томография (ОКТ) имеет пространственное разрешение порядка 10-15 мкм при глубине зондирования 1-1,5 мм, что позволяет характеризовать изменения нормальной структуры тканей при развитии патологии на уровне общей архитектоники (по свойствам общего обратного рассеяния зондирующего излучения), а также, используя поляризационно-чувствительные разновидности метода, регистрировать изменения состояния анизотропных компонентов тканей (например, коллагеновых, эластических, миелиновых волокон) по свойствам двулучепреломления (ПЧ ОКТ) и кросс-рассеяния (КП ОКТ), позволяя прицельно анализировать только эти структуры [1, 2]. Несмотря на значительный мировой опыт применения метода ОКТ во многих областях медицины, в урологии для исследования стенки уретры метод применен впервые. Это обусловлено, с одной стороны, важной клинической задачей прижизненной визуализации изменений в структуре уретры (эпителии, соединительнотканной строме, мышечном слое, сосудистой сети, парауретральных железах), происходящих при разных патологических состояниях как самой уретры, так и мочевого пузыря, что может повлиять на окончательный диагноз и тактику лечения. С другой стороны, появление специализированных ОКТ-зондов позволяет сделать процедуру исследования уретры удобной как для врача, так и для пациента.

Целью данного исследования было определение возможностей метода КП ОКТ в прижизненной оценке структурных изменений уретры при использовании двух типов зондов.

Состояние уретры изучено у 81 пациентки: из них 27 с уретральным болевым синдромом (гр. «УБС»), не имеющих клинических проявлений воспаления; 41 – с воспалительными заболеваниями нижних мочевых путей различного генеза (гр. «В»); у 13 пациенток с камнями верхних мочевых путей без явлений пиелонефрита уретра принята за норму (гр. «Н»). Возраст пациенток составил от 27 до 65 лет. Всем выполняли клинический минимум исследований, включающий цистоскопию. С использованием торцевого эндоскопического зонда с внешним диаметром 2,7 мм и 2D сканированием, получено 396 КП ОКТ изображений уретры (ее проксимального, среднего и дистального отделов) и шейки мочевого пузыря. С использованием игольчатого зонда с внешним диаметром 1,65 мм и работающим в режиме ручного сканирования, получено 48 КП ОКТ изображений уретры по всей ее длине. В работе использован сертифицированный для клинического применения прибор «ОКТ-1300У» (ООО «Биомедтех», г. Нижний Новгород), работающий на длине волны 1310 нм, мощностью на объекте до 20 мВт. Общее время КП ОКТ исследования у одного пациента занимало не более 3-5 минут.

Результаты сравнения процедуры исследования стенки уретры и мочевого пузыря с использованием двух КП ОКТ-зондов - торцевого и игольчатого – выявили, что игольчатый зонд оптимален для исследования трубчатых органов. Скорость получения информации (сканирование всей длины уретры) занимает 6 секунд, есть возможность ее визуализации на 3, 6, 9, 12 часах, однако для получения наиболее достоверной информации требуется равномерная скорость движения и конструкция зонда не позволяет сканировать слизистую оболочку шейки или стенки мочевого пузыря. Торцевой зонд, наоборот, позволяет визуализировать любую зону полого органа большего объема, например мочевого пузыря. Сканирование же всей длины уретры из-за угла его контакта со стенкой меньше 90 градусов затруднено и ограничено по времени.

Визуальная оценка КП ОКТ изображений уретры у пациенток в 3-х группах позволила установить, что по сравнению с группой нормы «Н», в группе «В» на начальных этапах заболевания чаще наблюдаются изменения эпителиального слоя (его гиперплазия или атрофия), затем воспалительные изменения переходят на соединительнотканную строму, что проявляется ее фиброзом (повышением уровня ОКТ-сигнала в кросс-поляризации). В группе «УБС», наоборот, на структурном уровне патогенез заболевания начинается с изменений в соединительнотканной строме (также наблюдается ее фиброз, что видно как заметное повышение уровня кросс-рассеяния вплоть до появления эффекта двулучепреломления) с последующим распространением на эпителиальный слой, чаще всего вызывая его атрофию.

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 19-07-00395.

1. Gladkova N. et al. Evaluation of oral mucosa collagen condition with cross-polarization optical coherence tomography // J Biophotonics. 2013. Vol. 6. P. 321.
2. Kiseleva E.B. et al. Differential diagnosis of human bladder mucosa pathologies in vivo with cross-polarization optical coherence tomography // Biomed opt express. 2015. Vol. 6. P. 1464.

ОПТИЧЕСКАЯ КОГЕРЕНТНАЯ АНГИОГРАФИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ИНТРАМУРАЛЬНОЙ ДИСЦИРКУЛЯЦИИ ПРИ ОСТРОЙ ИШЕМИИ КИШКИ

OPTICAL COHERENCE ANGIOGRAPHY IN THE DIAGNOSTICS OF INTRAMURAL DISCIRCULATION IN ACUTE BOWEL ISCHEMIA

Рябков М.Г.¹, Киселева Е.Б.¹, Балеев М.С.¹, Сироткина М.А.¹, Сизов М.А.¹, Моисеев А.А.², Геликонов Г.В.²,
Гладкова Н.Д.¹

¹ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, г. Н.Новгород,
E-mail: maxim-ryabkov@yandex.ru

²ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики РАН», г. Н.Новгород

Внимание современных исследователей острой интестинальной ишемии (ОИИ) сконцентрировано на изучении таких ее составляющих, изменения в которых происходят до развития необратимой альтерации стенки кишки, в частности – на состоянии компонентов интрамурального микрососудистого русла. Несмотря на очевидную востребованность в клинике, технологии, позволяющие неинвазивно интраоперационно оценить интрамуральную микроциркуляцию в интестинальных сосудах диаметром 10-100 мкм, развиты недостаточно.

Целью исследования стало изучение возможности оптической когерентной ангиографии (ОКА) в диагностике глубины и распространенности интрамуральной дисциркуляции при острой ишемии кишки.

В экспериментальной части исследования крысам линии Вистар моделировали две нозологические формы окклюзивной ОИИ: 1) перевязкой краниальной брыжеечной артерии в III сегменте (n=15) и 2) ущемлением участка кишки вместе с артерией и веной брыжейки (n=12). С помощью ОКА проводили мониторинг состояния интрамурального микрососудистого русла ишемизированного сегмента кишки и прилежащих участков. После появления видимых признаков некроза, кишку резецировали и проводили пошаговое гистологическое исследование с верификацией глубины альтерации тканей.

В клинической части работы для уточнения границ резекции кишки с помощью ОКА исследовали интрамуральное микроциркуляторное русло у 28 пациентов с ОИИ. В ходе операции ОКА кишки делали с шагом в 1 см, в направлении от центра ишемизированной области к периферии. При появлении на ОК-ангиограмме сети функционирующих интрамуральных сосудов констатировали наличие сохраненного кровотока. От этой границы отступали на 40 и 20 см (на приводящем и отводящем участке, соответственно) и производили резекцию. В группе сравнения (n=30) состояние кровоснабжения кишки и границы ее альтерации определяли традиционным способом – визуальной и пальпаторной оценкой наличия признаков жизнеспособности. Состояние микрососудистого русла в экспериментальной и клинической частях работы оценивали с помощью спектрального многофункционального оптического когерентного томографа (Институт прикладной физики РАН, г. Нижний Новгород). Источник излучения - суперлюминесцентный диод с центральной длиной волны 1310 нм, ширина спектра 100 мкм, мощность 2 мВт. Продольное разрешение 10 мкм, разрешение по глубине 15 мкм, глубина сканирования в воздухе ~ 1,7 мм, скорость сканирования 20 000 А-сканов в секунду, построение одного ОКА изображения происходит в режиме реального времени во время записи данных в течение 26 секунд, размер исследуемого поля 2,4 x 2,4 мм.

Результаты исследования показали, что до моделирования ишемии общая длина функционирующих кровеносных сосудов в стенке кишки составляла 4578 [4349; 4742] мкм (Me [Q₁; Q₃]). В результате перевязки брыжеечной артерии *длина функционирующих кровеносных сосудов* уменьшилась на 4,6 % и составила 4374 [4177; 4565] мкм (p=0,004). Окклюзия мезентериальной артерии сопровождалась уменьшением «разветвленности» сосудистой сети в сравнении с интактной кишкой, «обрывом» в сосудах. На ОК-ангиограммах кишки с трансмуральным некрозом значительно уменьшалась яркость фона, что свидетельствовало о серьезных нарушениях микроциркуляции в мелких сосудах и капиллярах. После ущемления участка кишки и брыжейки общая длина функционирующих сосудов в ишемизированной стенке составила 3850 [761; 4454] мкм, то есть на 15,3% меньше, чем в интактной кишке. При этом в центральных секторах ущемленной петли показатель был меньше исходного на 89,6% (p=0,001), а в периферических - на 6,1% (p=0,001). К моменту развития макроскопических признаков некроза все ОК-ангиограммы ущемленной петли кишки выглядели однотипно: однородный темный фон (из-за отсутствия кровотока в венах и капиллярах) с единичными визуализируемыми артериями.

В клиническом исследовании границы резекции кишки уменьшены на основании данных ОКА на 21,5 [14,1; 36,0] % в сравнении с границами, определенными по визуальным и пальпаторным критериям (p=0,037). При сопоставлении с данными гистологического исследования, установлено, что чувствительность ОКА составила 0,78, специфичность - 0,91, а диагностическая ценность метода – 0,71. Визуально-пальпаторный метод характеризовался чувствительностью 0,59, специфичностью – 0,94, диагностической ценностью – 0,56.

Установленные по данным ОКА в эксперименте закономерности изменений интрамурального микрососудистого русла являются основой для повышения эффективности диагностического алгоритма при ОИИ, для разработки внутрисосудистой терапии, направленной на сокращение объема резекции кишки. Первые результаты клинического применения ОКА в комплексной оценке жизнеспособности ишемизированной кишки свидетельствуют о более высокой, в сравнении традиционными методами, чувствительности метода, что еще раз подтверждает перспективность дальнейших исследований в этой области.

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 19-75-10096.

МЕТОД ПЕРВИЧНОГО ФЕНОТИПИЧЕСКОГО СКРИНИНГА ДЛЯ ОЦЕНКИ КЛЕТОЧНЫХ РЕАКЦИЙ НА ХИМИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ

METHOD OF PRIMARY PHENOTYPIC SCREENING FOR EVALUATION OF CELLULAR REACTIONS TO CHEMICAL COMPOUNDS

Клюшова Л.С.

Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики – структурное подразделение ФИЦ ФТМ, Новосибирск, E-mail: klyushovals@mail.ru

В течение нескольких десятилетий основное направление поиска лекарственных препаратов опирается на знание определенной молекулярной мишени, которая, как предполагается, играет важную роль в заболевании (TDD, target-based drug discovery). Вместе с тем в последние годы наблюдается повышение интереса к фенотипическим подходам открытия лекарств (PDD, phenotypic drug discovery) [1]. Методы PDD сосредоточены на поиске соединений, вызывающих наблюдаемые физические изменения во всей биологической системе, моделирующей заболевание, такой как животные или клетки, и не требуют знания конкретной мишени и ее роли в патогенезе [2]. Кроме того, помимо поиска целевых эффектов представляет сложность и наличие возможных нежелательных явлений. Корректная оценка таких явлений на ранних этапах исследования может увеличить выход соединений, обладающих высокой клинической эффективностью. Таким образом возникла необходимость в создании методов оценки возможных дополнительных явлений на этапе первичного скрининга тестируемых веществ.

Многопараметрический скрининг (HCS, high content screening) включает в себя автоматическую флуоресцентную микроскопию и количественный анализ изображений. HCS является мощным инструментом для изучения внутриклеточных процессов и поиска новых лекарств на основе фенотипа [3]. Он позволяет одновременно получать большое количество измерений на уровне отдельных клеток, что дает возможность детектировать фенотипические изменения клеточных популяций.

Целью данного исследования была разработка метода HCS для оценки реакций на клинически одобренные препараты и исследуемые соединения клеточных линий HepG2 (гепатоцеллюлярная карцинома) и MCF7 (рак молочной железы). Для определения фенотипов клеток использовали красители Hoechst 33342 (визуализация ядер) и DiD (1,1'-Diocadecyl-3,3,3',3'-tetramethylindodicarbocyanine perchlorate), флуоресцирующий при включении в клеточные мембраны.

В результате проведенных экспериментов были зафиксированы изменения в популяциях клеток HepG2 и MCF7 при воздействии ряда клинически одобренных и тестируемых соединений. Для некоторых препаратов в нетоксичном диапазоне концентраций наблюдались изменения клеточных ядер и площади окраски DiD. Анализ характера и динамики этих изменений показал, что эти параметры выступают в качестве индикаторов клеточного стресса и потенциальной токсичности веществ. Данный метод может быть использован для оценки возможных нежелательных эффектов исследуемых соединений на этапе первичного скрининга, что позволит повысить выход препаратов в клиническую практику.

1. Moffat J. G. et al. Opportunities and challenges in phenotypic drug discovery: an industry perspective// Nat Rev Drug Discov. 2017. Vol. 16(8). P. 531–543.

2. Szabo M. et al. Cell and small animal models for phenotypic drug discovery// Drug Des Devel Ther. 2017. Vol. 11. P. 1957 – 1967.

3. Dorval T. et al. Filling the drug discovery gap: is high-content screening the missing link?// Curr Opin Pharmacol. 2018. Vol. 42. P. 40 – 45.

ONC201, ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ПРЕПАРАТ, ПОДАВЛЯЕТ ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ И МЕТАБОЛИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК BT474, КАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА

INHIBITORY EFFECT OF ONC201 ON PROLIFERATIVE AND METABOLIC ACTIVITY OF HUMAN BT474 BREAST CARCINOMA CELLS

Кобякова М.И., Евстратова Я.В., Ломовский А.И., Одиноква И.В., Фадеев Р.С., Грэйвс Л.М.¹, Холмухамедов Э.Л.¹

Институт Теоретической и Экспериментальной Биофизики РАН, Пущино, ekhsong@gmail.com

¹Университет Северной Каролины в Чапел Хилл, Северная Каролина, США

ONC201 соединение класса имипридонов (Oncoseutics Inc., USA) и первое соединение из нового класса противоопухолевых препаратов, которое находится во 2-ой фазе клинических испытаний в США [1]. Исследования механизма действия указывают на то, что в основе может лежать изменение трансляции митохондриальных белков дыхательной цепи и связанные с этим нарушения функций митохондрий [2, 3]. Однако механизмы данного явления в научной литературе не представлены. В данной работе мы исследовали

влияние ONC201 на метаболическую и пролиферативную активность клеток карциномы молочной железы человека на примере клеток BT474.

Для изучения действия ONC201 на жизнеспособность и пролиферативную активность, клетки BT474 высаживали в 96-луночные планшеты в плотности $5 \cdot 10^3$ клеток/см². Через 16-18 часов клетки обрабатывали ONC201 (10 мкМ) и инкубировали при 37°C и 5% CO₂ в течение 120 ч. Для определения влияния ONC201 на продукцию лактата и определения внутриклеточной окислительной активности, клетки высевали на чашки Петри в концентрации $2 \cdot 10^4$ клеток/см², через 16-18 часов обрабатывали ONC201 (10 мкМ) и инкубировали в течение 120 ч. Сравнения проводили относительно контрольных клеток, не обработанных ONC201. Пролиферативную активность оценивали по изменению количества клеток, а также по распределению клеток по фазам клеточного цикла и митотическому индексу. Распределение клеток по фазам клеточного цикла определяли с помощью проточной цитофлуориметрии и результаты обрабатывали с помощью программы ModFit LT 4.1. Для определения митотического индекса клетки окрашивали красителем Hoechst 33342 (1 мкг/мл) и подсчет числа клеток в митотической фазе проводили с помощью флуоресцентного микроскопа DM 6000 (Leica, Германия). Для анализа использовали не менее 500 клеток.

Исследование токсического действия ONC201 с помощью окрашивания клеток кристаллическим фиолетовым показало, что инкубация BT474 с ONC201 (10 мкМ, 120 ч) сопровождалось подавлением пролиферативной активности и оказывало цитостатический эффект. Отсутствие цитотоксического эффекта ONC201 было подтверждено при окрашивании клеток трипановым синим.

При исследовании пролиферативной активности было показано, что обработка клеток BT474 препаратом ONC201 (10 мкМ, 120 ч) сопровождалось изменением распределения клеток по фазам клеточного цикла. Исходное распределение клеток в контроле: 58±3% (G0/G1), 30±1% (S) и 12±2% (G2/M), изменилось после обработки ONC201 на 52±2% (G0/G1), 47±2% (S) и 1±1% (G2/M), показывая более чем десятикратное уменьшение числа клеток в G2/M-фазе. Инкубация клеток с ONC201 также приводит к значительному снижению митотического индекса клеток от значения 2,5±0,3% в контроле, до значения меньших чем <0.1% в клетках, обработанных ONC201.

Исследование действия ONC201 на митохондриальный путь окисления глюкозы определяли по накоплению лактата в среде инкубации. Инкубация клеток BT-474 с ONC201 (10 мкМ, 120 ч) сопровождалась увеличением продукции лактата от $0,52 \cdot 10^{-9}$ М/час/клетку в контроле до $1,89 \cdot 10^{-9}$ М/час/клетку в клетках, обработанных ONC201. Анализ продукции активных форм кислорода с использованием флуоресцентного зонда DCFHDA показал, что ONC201 (10 мкМ, 120 ч), увеличивает уровень окислительного стресса в клетках BT-474 от 92877 ± 17520 RFU в контроле, до 193942 ± 48383 RFU в клетках, обработанных ONC201.

Таким образом, полученные данные указывают на то, что ONC201 ингибирует пролиферацию клеток, усиливает внутриклеточной окислительной стресс и продукцию лактата, что может быть обусловлено подавлением активности митохондрий.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (№19-75-20145) с использованием приборной базы ЦКП ИТЭБ РАН.

1. Allen J.E. et al., Discovery and clinical introduction of first-in-class imipridone ONC201. *Oncotarget*, 2016. 7(45): p. 74380-74392.
2. Greer Y.E. et al., ONC201 kills breast cancer cells in vitro by targeting mitochondria. *Oncotarget*, 2018. 9(26): p. 18454-18479.
3. Graves P.R. et al., Mitochondrial Protease ClpP is a Target for the Anticancer Compounds ONC201 and Related Analogues. *ACS Chem Biol*, 2019. 14(5): p. 1020-1029.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЩЕЛОЧНЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ ВОЛОС ЖИВОТНЫХ С ЦЕЛЬЮ ВЫЯВЛЕНИЯ ПОЛОВОЗРАСТНЫХ РАЗЛИЧИЙ И ВИДОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ

RESEARCH OF ALKALINE ANIMAL HAIR HYDROLYSATES FOR THE PURPOSE OF IDENTIFICATION OF PENIN-AGE DIFFERENCES AND SPECIFICATIONS

Комарова С.А., Олешкевич А.А.

ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени Скрыбина К.И., 109472, Москва, ул. Скрыбина, 23; e-mail: Black_panter27@mail.ru

Кератин волос характеризуется большим сродством к воде, обладает высокой химической устойчивостью. Он более устойчив к воздействию кислот, чем щелочей. Меланин сочетает в себе структурные свойства органического биополимера и спектральные свойства более характерные для разупорядоченных органических полупроводников. Меланин в широкой области спектра обладает фотовольтаической чувствительностью.

В ходе работы были исследованы щелочные гидролизаты волос животных биофизическими методами (редокс-метрия, спектрофотометрия) с целью определения видовых отличий. Исследование проводили на образцах волос коз и овец различных половозрастных групп. В процессе исследования были установлены

различия оптической плотности щелочных гидролизатов волос новорожденных коз и овец, а также беременных самок, от самцов и небеременных самок.

Полученные результаты показали, что щелочные гидролизаты из волос взрослых коз (самок и самцов) начинают поглощать свет при 245–275 нм. В его спектре присутствуют две полосы поглощения: 410 - 510 нм и 550 - 650 нм. Щелочные гидролизаты из шерсти новорожденных коз не поглощают на длинах волн 275 - 285 нм и 300 - 350 нм. Растворы щелочных гидролизатов из волос беременной козы не могли поглощать на длине волны 300 - 370 нм[1].

Вероятно, аминокислотный состав шерсти разных видов животных неодинаков, но эти различия могут быть связаны с пигментами, а не с кератином.

Также в ходе исследований были сделаны микрофотографии нативных волос животных в отраженном свете и с помощью флуоресцентной микроскопии. На основе этих фотографий была рассмотрена возможность применения Программного пакета «HarFA 5.1». В пакете «HarFA» путём определения уравнений регрессии и построения соответствующих графиков и гистограмм провели фрактальный анализ изображений волос животных по методу А. А. Олешкевич с соавторами [2]. Сопоставление данных анализа волос в отраженном свете с результатами фрактального анализа также показывает большую информативность метода. Полученные материалы показывают, что применение микроскопии в отраженном свете не имеет смысла для идентификации волос животных. Сопоставление данных анализа волос в отраженном свете с результатами фрактального анализа также показывает большую информативность метода. Полученные материалы показывают, что применение микроскопии в отраженном свете не имеет смысла для идентификации волос животных [3].

1. *Комарова С.А.* Изучение щелочных гидролизатов волос млекопитающих методом спектрофотометрии. Материалы Международной школы-семинара «Физика в системе высшего и среднего образования России»/ М.: АПР, 20015. – С. 128-130.

2. Патент РФ на изобретение № 2640177. Способ определения степени влияния физических факторов на биологические объекты / А. А. Олешкевич, А. М. Носовский, Э. М. Комарова. — Зарегистрирован в Государственном реестре изобретений РФ 29.06.2017 г.

3. *Комарова С. А., Олешкевич А. А., Носовский А. М.* Возможность использования пакета HARFA для определения микроструктуры волос животных. Материалы Национальной научно-практической конференции «Товароведение, технология и экспертиза: инновационные решения и перспективы развития»/М.: 2018. – С. 90.

ВЛИЯНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННО-ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК РАДИАЦИОННЫХ ПОЛЕЙ ПИОНОВ, АДРОНОВ И ЛЕГКИХ ИОНОВ НА ПРОЯВЛЕНИЕ ЭФФЕКТОВ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ И ИНДУЦИРОВАННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ IN VITRO В ДИАПАЗОНЕ НИЗКИХ ДОЗ

EFFECT OF ENERGY AND SPATIAL CHARACTERISTICS OF NEGATIVE PIONS, HADRONS, AND LIGHT IONS RADIATION FIELDS ON HYPERSENSITIVITY AND INDUCED RADIORESISTENCE FENOMENON MANIFESTATION IN MAMMALIAN CELLS IN VITRO FOLLOWING EXPOSURE TO LOW DOSES

Потетня В.И., Соловьев А.Н., Корякина Е.В., Чернуха А.Е., Корякин С.Н., Трошина М.В.

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск

На рубеже 1980-1990х годов в радиобиологии в области низких доз (<1 Гр) был выявлен ряд эффектов, механизмы которых до конца не исследованы: адаптивный ответ (АО), эффект свидетеля, эффект гиперчувствительности и радиационно-индуцированной радиорезистентности (ГЧ/ИР) [1-3]. Для объяснения двух (АО и ГЧ/ИР) привлекают представления об активации/индуцировании системы репарации клеточных повреждений, вследствие чего либо снижается эффект повреждающей дозы (АО), либо появляется квазиплато на дозовой кривой выживаемости или выхода aberrаций хромосом (ГЧ/ИР). Оба эффекта зависят от вида и характеристик излучения, проявляясь в наибольшей степени для редкоионизирующего излучения (⁶⁰Со, рентгеновское) при низкой мощности дозы. При увеличении ЛПЭ излучения (π^- -мезоны, быстрые нейтроны) уменьшается область квазиплато вплоть до его исчезновения (ГЧ/ИР), а его малые дозы не вызывают адаптивного ответа. В этой связи было высказано предположение о наличии верхнего предела ЛПЭ излучения, выше которого оба эффекта не наблюдаются, порядка 35 кэВ/мкм. Такая зависимость эффектов АО и ГЧ/ИР от характеристик излучения и, вероятно, их индуцибельная природа позволяет предположить об определенной специфике внутриклеточных повреждений, ведущих к рассматриваемым эффектам.

Согласно доминирующим в радиобиологии представлениям важнейшими из внутриклеточных повреждений являются повреждения молекулы ДНК, преимущественно двойные разрывы (ДР ДНК) разной степени сложности. Можно предположить, что уменьшение степени проявления эффектов АО и ГЧ/ИР связано с увеличением величины локально выделяемой энергии излучения на расстояниях порядка размеров ДНК или хроматина и соответствующим увеличением сложности ДР ДНК от простых до их кластеров, препятствующей

эффективной репарации ДР. Важная роль в образовании ДР при действии излучения с низкой ЛПЭ может также принадлежать АФК, продуктам радиолитиза воды.

Полученные нами результаты цитогенетического действия нейтронов с энергией 14.5 МэВ на клетках лимфоцитов человека [5], ускоренных ионов углерода в области плато кривой Брэгга и за пиком Брэгга, а также излучения ^{60}Co на клетках китайского хомячка СНО-К1 указывают на проявление эффекта ГЧ/ИР на начальных участках дозовых кривых в диапазоне доз до 0.6 Гр. Дозовый диапазон эффекта ИР составил примерно 0.1–0.3 Гр для ионов углерода, 0.15–0.35 Гр для нейтронов, 0.08–0.6 Гр для γ -излучения. Количество АХ на участке ИР было несколько выше на плато кривой Брэгга (ЛПЭ \approx 12 кэВ/мкм), чем для γ -излучения, но почти в 2 раза выше при облучении клеток за пиком Брэгга (ЛПЭ \approx 25). Анализ собственных и литературных данных показал, что в случае проявления эффекта ГЧ/ИР или АО вклад излучения с ЛПЭ < 20 кэВ/мкм в дозу нейтронов, π^- -мезонов, ускоренных ионов варьирует от 25–30 до 70–90%. Это позволяет предположить, что минимальная величина редкоионизирующего компонента достаточна для активации системы репарации ДР ДНК, особенно с учетом разного количества ионизирующих частиц с высокой и низкой ЛПЭ, пересекающих ядро клетки при низких дозах. Диапазон участка ИР определяется количеством ДР, которое индуцированная система репарации не в состоянии эффективно обработать. В этом плане выглядит продуктивным теоретическое моделирование эффекта ГЧ/ИР с помощью биофизических моделей типа PARTRACK [6], в которых подробно моделируются все стадии процесса радиационного поражения клетки, начиная от физической, физико-химической, химической до биологической, где детально моделируется репарация ДР ДНК разной сложности системой негомологичной репарации (NHEJ) с учетом участвующих в ней ферментов.

1. Luchnik N.V., Sevankaev A.V. Radiation-induced chromosomal aberrations in human lymphocytes. I. Dependence on the dose of gamma-rays and an anomaly at low doses // *Mutation Res.* 1976 Vol. 36 P. 363-378
2. Olivieri G, Bodycote J, Wolff S. Adaptive response of human lymphocytes to low concentrations of radioactive thymidine // *Science.* 1984. Vol. 223. P. 594-597.
3. Nagasawa, H; Little, J. B. *Induction of sister chromatid exchanges by extremely low doses of alpha-particles* // *Cancer Research.* 1992. Vol. 52 P. 6394–6396.
4. Marples B, Joiner M.C. The response of Chinese hamster V79 cells to low radiation doses: evidence of enhanced sensitivity of the whole cell population // *Radiat. Res.* 1993. Vol. 133. P. 41–51.
5. Корякина Е.В., Потетня В.И. Цитогенетические эффекты низких доз нейтронов в клетках млекопитающих // *Альманах клинической медицины.* 2015. № 41. С. 72–78.
6. Friedland W, et al. Comprehensive track-structure based evaluation of DNA damage by light ions from radiotherapy-relevant energies down to stopping // *Sci Rep.* 2017. Vol. 7. P.451-461

О ВОЗМОЖНОЙ РОЛИ АТМОСФЕРНОГО ИНФРАЗВУКА В ФОРМИРОВАНИИ ФАКТОРОВ РИСКА ДТП

ON THE POSSIBLE ROLE OF ATMOSPHERIC INFRASOUND IN THE FORMATION OF THE RISK FACTORS OF ROAD TRAFFIC ACCIDENT

© Костоглодов Ю.К.

ФГБНУ РНЦХ им. ак. Петровского Б.В., Россия, Москва, YuriKostoglodov@mail.ru

Атмосферной инфразвук (АИ) явление чрезвычайно сложное. Но из всего комплекса проблем, формирующих этот феномен, внимание привлекают вариации годовой энергии АИ, порождаемых колебаниями солнечной активности (СА). Многолетний мониторинг АИ, охватывающий период с 1997 по 2000 гг [1], выявляет обратную зависимость годовой энергии АИ от СА, а также обнаруживает в спектральной плотности *огбающей* АИ две наиболее мощные гармоники с периодами $T\approx 30$ и $T\approx 23$ суток. С другой стороны, исследование спектральной плотности галактических космических лучей (ГКЛ) также обнаруживает в их спектре наиболее мощные гармоники с теми же периодами $T\approx 30$ и $T\approx 23$ сут [1], что предполагает единую причинно-следственную связь в механизмах модуляции солнечной активностью и инфразвука, и ГКЛ.

Примечание. Обращает на себя внимание факт: основная гармоника в спектральной плотности СА с периодом $T\approx 27$ сут, представляющая солнечные сутки, почти симметрично (с соотношением **3 и 4 суток**) делит **7-ми суточный** интервал между двумя наиболее значимыми гармониками в спектре АИ и ГКЛ.

Учитывая высокую биоэффективность инфразвука [2], представляется естественным вопрос: оказывают ли влияние на функциональную активность систем организма человека периодические компоненты в спектре вариаций АИ с периодами $T\approx 23$ и $T\approx 30$ суток?

Ответ на этот вопрос могла содержать медицинская статистика внезапных острых состояний.

В достаточно емкой выборке **инфарктов миокарда** (ИМ) была проанализирована дата манифестации инфаркта с использованием метода пробных циклов (с периодами от 11 до 64 суток) с целью выявления

значимых периодических компонент между датой инфаркта и датой, когда с точки зрения одной из хронобиологических гипотез могут заводиться биологические часы человека – в день “первого вдоха”.

Опыты с перебором пробных циклов выявили закономерность: наилучшее соотношение сигнал/шум наблюдается при использовании в качестве “мерной линейки” 23-суточной периодичности. При этом в фазовом пространстве данного пробного цикла обнаруживаются 4-суточные симметричные зоны наибольшей частоты проявления ИМ (на рис. 1 профиль ИМ с совмещенными полупериодами).

Аналогичному опыту была подвергнута статистика дорожно-транспортных происшествий (ДТП) в 3-х районах Подмосковья в 2017г: зоны наибольшего риска попадания в ДТП совпали с зонами наибольшей вероятности проявления ИМ, свидетельствуя о том, что многие ДТП имеют физиологические корни (рис. 2).

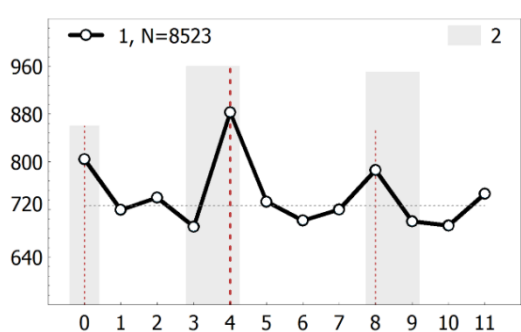


Рис. 1. Фазовый портрет вероятности манифестации ИМ; по оси ординат: количество ИМ, по оси абсцисс: фазовый индекс даты ИМ в сутках – у.е. меры удаленности события от 0-фазы пробного цикла; 1–профиль ИМ, 2–зоны риска развития острых состояний

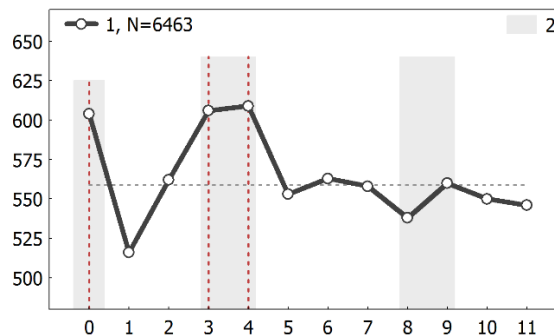


Рис. 2. Фазовый портрет вероятности попадания в ДТП (все участники движения в возрасте от 30 до 80 лет); по оси ординат: количество ДТП, по оси абсцисс: фазовый индекс участника ДТП в день происшествия; 1–профиль фазовых частот ДТП, 2–зоны риска развития острых состояний

В статистике острых кардиологических состояний, в статистике ДТП обнаружены факторы хронобиологического риска, природа которых может иметь корни, порождаемые периодическими компонентами инфранианного спектра вариаций атмосферного инфразвука.

1. Сорока С.А., Негода А.А., Мезенцев В.П., Калита Б.И., Каратаева Л.М. Акустический канал влияния солнечной активности на биосферу // Материалы междисциплинарного семинара «Биологические эффекты солнечной активности». Пущино, 6-9 апреля, 2004, с.14
2. Карпова Н.И. Инфразвук и слух. // Краткие тезисы докладов всероссийской конференции «Шум и шумовая болезнь»: Вопросы профилактики. – Л.: изд-во ЛСГМИ, 1973.

ПОСТНАТАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ ВЛИЯНИЯ НЕИОНИЗИРУЮЩЕГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ (460 МГц) НА ОКИСЛИТЕЛЬНУЮ И АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ КРОВИ POSTNATAL EFFECTS OF NON-IONIZING ELECTROMAGNETIC RADIATION (460 MHz) ON OXIDATIVE AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF BLOOD

А.Т.Кулиева

Институт Физиологии им. академика Абдулла Караева НАН Азербайджана, aqulieva@icloud.com

Негативные действия электромагнитных излучений (ЭМИ) на организм проявляются в изменениях на физиологическом, биохимическом и морфологическом уровнях. Особо чувствительны к действию электромагнитных излучений эмбриональные клетки, поскольку активно пролиферируют и обладают высоким уровнем метаболизма. Воздействия, осуществляемые в пренатальном периоде, могут приводить к внутриутробной гибели, формированию врожденных пороков развития, а также изменять программу развития организма в онтогенезе. Показано, что пренатальный стресс и связанное с ним увеличение уровня глюкокортикоидов в организме матери и плода нарушают структурно-функциональные характеристики развивающейся нервной системы, баланс гормональных систем и вызывают изменения реакций на стресс у потомства.

Целью данной работы являлось выявление изменений общей оксидантной и антиоксидантной активности крови 20 и 30-дневных молодых развивающихся крыс, которые до рождения облучались неионизирующим ЭМИ дециметрового диапазона.

Исследования проводились на белых крысах линии Вистар массой 250-300 г, содержащихся в обычных условиях вивария. Беременных крыс облучали ЭМИ 460 МГц на аппарате «Волна-2» в металлической

цилиндрической камере. Облучение проводилось ежедневно в течение 20 мин в период эмбриогенеза (1-7 дни пренатального развития) при плотности потока мощности 30 мкВт/см². После рождения исследования проводились на 20- и 30-дневных крысах. Общую оксидантную (ООА) и общую антиоксидантную активность (ОАА) плазмы и крови определяли по методу А.М.Горячковского (1996). ООА оценивается по накоплению в реакционной смеси конечного продукта ПОЛ – малонового диальдегида, а ОАА оценивается по степени ингибирования аскорбат и ферронидуцированного окисления твина -80 до малонового диальдегида.

Исследования показали, что у 20 дневных крысят, родившихся у самок, подвергнутых электромагнитному облучению в период эмбриогенеза, общая оксидантная и общая антиоксидантная активность в эритроцитах повышены, соответственно, на 9,5% и 3,4% по отношению к контрольным животным. Однако общая антиоксидантная активность в плазме снижается на 17,6% по сравнению с контролем. У крысят в возрасте 30 дней все три показателя (ООА -15,2%, ОАА - 61,1% в плазме и ОАА в эритроцитах - 61,2%) увеличиваются по сравнению с контролем. Согласно результатам, наблюдается нарушение оксидант-антиоксидантного баланса крови развивающегося организма, подвергшегося воздействию неионизирующего электромагнитного излучения во время внутриутробного развития, что позволяет говорить о низкой антиоксидантной активности крови в раннем постнатальном онтогенезе (20-дневный возраст) и превышающей норму - в относительно старшем возрасте (30-дневный возраст).

Таким образом, исследования по изучению влияния ЭМИ на развивающийся организм могут иметь практическое значение для оценки прижизненных электромагнитных эффектов.

ЗРИТЕЛЬНО-МОТОРНОЕ ПОВЕДЕНИЕ ОБЕЗЬЯН ПОСЛЕ КРАНИАЛЬНОГО ОБЛУЧЕНИЯ ВЫСОКОЭНЕРГЕТИЧЕСКИМИ ПРОТОНАМИ

THE VISUO-MOTOR BEHAVIOR OF NONHUMAN PRIMATES AFTER CRANIAL IRRADIATION WITH HIGH-ENERGY PROTONS

Латанов А.В., Терещенко Л.В., Васильева Л.А.¹, Бондарь И.В.¹

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

¹Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

В условиях дальних космических полетов радиационные воздействия галактических космических лучей (ГКЛ) на организм человека являются главным лимитирующим фактором, который неизбежно вызывает риск ранних поражений перцептивных, интегративных и исполнительных систем мозга [1, 4]. ГКЛ представляют собой высокоэнергетические ускоренные ядра химических элементов, среди которых протоны составляют 98%. ГКЛ могут вызывать нарушения поведения, когнитивной сферы в целом и, как следствие, операторской деятельности у космонавтов. Несмотря на большой объем модельных исследований по радиационным воздействиям на нервную систему грызунов и других животных [2, 5], остается неразрешимой проблема трансляции результатов таких исследований на деятельность человека в условиях радиационных воздействий [4]. В обеспечении операторской деятельности центральная роль принадлежит зрительной системе, а также функционально связанными с ней глазодвигательной и экстрапирамидной системам. Эти системы достигли наибольшего развития у приматов, включая человека. Поэтому исследования нарушения зрительно-моторного поведения (включающего также движения глаз), вызванные радиационными воздействиями, необходимо исследовать на обезьянах.

В модельных экспериментах на обезьяне (*Macaca mulatta*) исследована эффективность выполнения глазодвигательной задачи, включающей выполнение зрительно вызванных саккад к стимулам, предъявляемым в широком участке поля зрения животного, и мануальных инструментальных реакций до и после краниального облучения протонами высоких энергий (170 МэВ, 3 Гр, экспозиция 5 мин.).

В течение трех месяцев после облучения доля корректных мануальных реакций варьировала в относительно узком диапазоне (73-79%). Этот показатель кратковременно снижался в период около двух месяцев после облучения, а затем восстанавливался до контрольного уровня (до облучения). Через один месяц после облучения отмечалось незначительное увеличение латентных периодов саккад (на 4-5% относительно контроля), которое достигло максимума через два месяца (на 17% относительно контроля). Однако в последующий период этот параметр снизился до контрольных значений. Латентные периоды мануальных инструментальных реакций также увеличивались и высоко коррелировали с латентными периодами саккад. Увеличение латентных периодов саккад обратно коррелировало с их точностью, оцениваемой как разность амплитуд саккад и эксцентриситетов стимулов. Полученные результаты указывают на возможное кратковременное снижение мотивации животного, а также эффективности интегративных и исполнительных механизмов, обеспечивающих глазодвигательные реакции и инструментальную деятельность. Выявленные радиационные эффекты в некоторой степени сходны с эффектами воздействия нейротоксина МФТП, используемого при моделировании болезни Паркинсона у обезьян [3]. Это указывает на общие механизмы воздействия протонной радиации и нейротоксина на двигательные функции. Однако при развитии МФТП-

вызванного паркинсоноподобного синдрома у обезьян такие эффекты оказались необратимыми.

Использование специальных временных схем предъявления зрительных стимулов позволяет оценить время переключения зрительного внимания с одного объекта на другой. Этот показатель оценивается по различию латентных периодов саккад в разных схемах предъявления зрительных стимулов. Через месяц после облучения этот параметр увеличился на 15%, через два месяца – на 28%, а через три месяца остался на уровне 20%. Такие результаты свидетельствуют о влиянии облучения протонами на эффективность процессов переключения внимания.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (проект № 17-29-01027 офи_м).

1. Григорьев А.И. и др. // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2013. Т. 99. № 3. С. 273-280.
2. Григорьев А.И. и др. // Вестник Российской Академии наук. 2017. Т. 87. № 1. С. 65-69.
3. Терещенко Л.В., Лаганов А.В. // Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. 2018. Т. 68. № 4. С. 496-513.
4. Chancellor J.C. et al. Limitations in predicting the space radiation health risk for exploration astronauts // NPJ Microgravity. 2018. V. 4. a8.
5. Kiffer F. et al. Behavioral effects of space radiation: A comprehensive review of animal studies // Life Sciences in Space Research. 2019 V. 21. P. 1-21.

ПРИМЕНЕНИЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ В ТЕРАНОСТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЕЧЕНИ И МАНИПУЛИРОВАНИИ ОДИНОЧНЫМИ КЛЕТКАМИ

APPLICATION OF MAGNETIC NANOPARTICLES IN TERANOSTIC OF LIVER DISEASES AND SINGLE CELLS MANIPULATION

Пшеничников С.Е.¹, Ефремова М.², Никитин А.², Абакумов М. А.², Мажуга А. Г.², Дейнека А.³, Лунов О. Г.³, Невзорова Ю. А.^{4,5}, Эстеvez О.⁴, Колесникова В. Г.¹, Родионова В.В.¹, Левада Е.В.¹

Балтийский Федеральный университет им. И. Канта, Калининград, kategyna.levada@gmail.com

¹Балтийский Федеральный университет им. И. Канта, Калининград, Россия

²Химический факультет, *Московский государственный университет* им. М.В.Ломоносова

³Institute of Physics of the Academy of Sciences of the Czech Republic, Прага, Чешская Республика

⁴Отделение генетики, физиологии и микробиологии, Биологический факультет, Complutense University, Мадрид, Испания

⁵Отделение внутренней медицины III, Университетская клиника RWTH Ахен, Германия

Магнитные наночастицы с функционализированной поверхностью являются перспективным инструментом в области разработок биомедицинских приложений. Так, подобные наноматериалы широко тестируются как для диагностики, а также целенаправленного лечения рака. Однако для разработки эффективных и безопасных методов лечения, диагностики и терапии на основе наночастиц крайне важно проводить систематические исследования их побочных эффектов. Целью нашего исследования было изучение различных типов наночастиц в качестве диагностического и терапевтического подхода изучения болезней печени. Для экспериментов использовались магнитные наночастицы с ядром Fe₃O₄. Цитотоксичность наноматериалов оценивалась с помощью анализа WST-1 для всех типов наночастиц.

Для исследования магнитных наноматериалов в качестве терапевтического подхода были использованы два типа наночастиц (NP1 и NP2). Оба типа наночастиц (30 nm) имеют кубическую форму и покрытие нитродофамин-PEG. Однако, NP1 представляют собой одиночные кубы, тогда как NP2 – кластеры.

Принимая во внимание, что наночастицы оксида железа преимущественно накапливаются в печени, мы выбрали клеточную линию NuH7 (человеческая гепатоцеллюлярная карцинома) в качестве модели для оценки гепатотоксичности, вызванной наноматериалами этого типа. Для идентификации сигнальных путей, индуцируемых данными наноматериалами, был использован иммуоблоттинг. Результаты показали, что все типы наночастиц вызывают гибель клеток в зависимости от времени и концентрации. Наночастицы NP1, но не NP2, активировали переход LC3I в LC3II и индуцировали активацию каспазы 3. Такие результаты указывают на возможные лизосомальные повреждения. Также, нужно отметить, что на данный момент, при использовании NP2 не было детектировано определенного механизма гибели клеток через 6 часов.

Для исследования магнитных наночастиц в качестве диагностического подхода для определения синдрома протекающего кишечника была использована модель колита, вызванная декстрансульфатом натрия (DSS). Гибридные наночастицы (NP3 - Fe₃O₄-Au) разных размеров (5 и 25 nm), имеют гантелевидную форму и покрытие PEG. Наночастицы были введены пероральным зондом лабораторным мышам в концентрации 20 мг / кг массы тела животного после 5 дней активной DSS модели (2% в питьевой воде). Через 12 часов мыши были обследованы с помощью МРТ. Животные были умерщвлены, забраны кровь и органы для последующего анализа. Образцы будут исследованы на VSM магнитометре (Lake Shore серии 7400) для определения

количества железа в дегидрированных образцах тканей печени, крови и стула. Количество золота в образцах будет определено с помощью использования атомно-абсорбционного спектрометра.

В современной науке, все больше внимание уделяется возможности применения современных наноматериалов не только для диагностики и лечения заболеваний, а также для их использования в 3D конструировании органов и манипулировании единичными клетками. В нашей работе, для создания прототипа манипулятора, мы использовали ферромагнитные микропровода в стеклянной оболочке, изготовленные методом Улитовского-Тейлора. Микропровода состояли из металлических жил двух типов: из сплавов на основе железа и из сплава на основе кобальта. Дополнительно была использована клеточная линия гепатоцеллюлярной карциномы (Huh7) и наночастицы (fluidMAG-CT, Chemicell, Germany). Целью нашего эксперимента было выявить особенности влияния магнитных полей рассеяния микропроводов различного состава на жизнедеятельность и поведение клеток, а также возможность манипулирования клетками, инкубированных с наночастицами (24ч) и без интернализированных наночастиц. Результаты показали, что состав металлической жилы микропровода несёт существенное влияние на поведение клеток при адгезии.

ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ ПРИ ХИМИОТЕРАПИИ

STUDY OF CHANGES IN ENERGY METABOLISM IN TUMOR CELLS IN CHEMOTHERAPY

М.М. Лукина¹, Л.Е. Шимолина^{1,2}, В.В. Дуденкова^{1,2}, Н.В. Игнатова¹, И.Н. Дружкова¹, А.В. Полозова^{1,2}, В.И. Щеславский¹, Е.В. Загайнова^{1,2}, М.В. Ширманова¹

¹ ФБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, 603005, Нижний Новгород

² Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 603950, Нижний Новгород

Одним из важных показателей жизнедеятельности клетки является энергетический метаболизм. Основные пути энергетического метаболизма - окислительное фосфорилирование и гликолиз. Кофакторы НАДН/НАД и ФАДН₂/ФАД выступают главными переносчиками электронов в реакциях гликолиза и окислительного фосфорилирования. Восстановленный НАДН и окисленный ФАД обладают собственной флуоресценцией, интенсивность и время жизни которой меняются в зависимости от преобладания тех или иных биохимических реакций в клетке. Перспективным методом в области исследования энергетического обмена является флуоресцентный время-разрешенный имиджинг (FLIM) на основе регистрации флуоресценции кофакторов НАД(Ф)Н и ФАД. Данный метод может быть реализован как в экспериментах *in vitro*, так и *in vivo*. Метод дает уникальную возможность анализировать метаболические особенности клеток без дополнительной подготовки и вмешательства. На сегодняшний день существует проблема мониторинга раннего ответа опухолевых клеток на лечение. Предположительно, анализ метаболического статуса опухолевых клеток с помощью FLIM может быть использован в качестве критерия ответа опухоли на химиотерапию.

Целью данной работы являлось исследование изменения энергетического метаболизма в опухолевых клетках при химиотерапии с помощью флуоресцентной микроскопии с временным разрешением (FLIM) *in vitro* и *in vivo*.

In vitro работа проводилась на опухолевой клеточной линии СТ26 (колоректальный рак мыши) и клетках колоректального рака, выделенных из первичных опухолей пациентов. *In vivo* исследование выполняли на мышцах линии Balb/C с подкожно привитыми опухолями СТ26. Для лечения были использованы химиопрепараты цисплатин, паклитаксел, иринотекан. Флуоресцентный имиджинг с временным разрешением (FLIM) осуществляли на лазерном сканирующем конфокальном микроскопе LSM 880 (Carl Zeiss, Германия) (для *in vitro* экспериментов) и многофотонном флуоресцентном томографе MPTflex (JenLab, Германия) (для *in vivo* экспериментов). Оба прибора оснащены FLIM приставками для время-разрешенного имиджинга флуоресценции на основе TSCPC (Becker & Hickel GmbH, Германия).

В результате исследования *in vitro* было установлено снижение интенсивности флуоресценции НАДН и увеличение – ФАД, что привело к росту значения редокс – отношения ФАД/НАД(Ф)Н уже через 6 часов после добавления цисплатина и паклитаксела. Данные изменения в показателе редокс – отношения ФАД/НАДН в процессе химиотерапии обратно коррелировали с пролиферативной активностью клеток. Также было выявлено снижение процентного вклада свободной формы НАДН, начиная с 6 часов после воздействия химиопрепарата. Динамика изменения значения относительного вклада свободного НАД(Ф)Н прямо коррелирует со сниженной пролиферативной активностью клеток. Полученные *in vitro* результаты говорят о смещении метаболического статуса опухолевых клеток в сторону митохондриального дыхания после химиотерапии. Важно отметить, что ранние изменения метаболического статуса опухолевых клеток при химиотерапии препаратами с различным механизмом действия (цисплатин и паклитаксел) предшествовали морфологическим проявлениям клеточной гибели [1, 2].

In vivo исследование показало, что в опухолях, леченых цисплатином, паклитакселом и иринотеканом, отношение свободный/связанный НАД(Ф)Н уменьшается по сравнению с контролем уже на 7 день опухолевого роста, до снижения опухолевого роста и изменения морфологии опухоли. Эти результаты указывают на то, в

леченых опухолях преобладают окислительные процессы, что соотносится с *in vitro* данными [3].

Таким образом, в результате исследования было установлено, что анализ энергетического метаболизма методом FLIM является новым подходом к характеристике ответа опухолевых клеток на лечение и потенциально может быть использован в качестве прогностического критерия. Важно, что данный метод может быть применен для анализа энергетического метаболизма опухолевых клеток, выделенных из образцов опухоли пациента.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов №18-315-00373 мол_а и №18-29-09054 мк.

1. Shirmanova MV, Druzhkova IN, Lukina MM, Dudenkova VV, Ignatova NI, Snopova LB, Shcheslavskiy VI, Belousov VV, Zagaynova EV. *Sci Rep.* 2017, 7(1):8911.
2. Lukina MM, Dudenkova VV, Ignatova NI, Druzhkova IN, Shimolina LE, Zagaynova EV, Shirmanova MV. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 2018, 1862(8), 1693-1700.
3. Lukina MM, Dudenkova VV, Shimolina LE, Snopova LB, Zagaynova EV, Shirmanova MV. *Cytometry A*, 2019, 95(1), 47-55.

КЛЕТОЧНЫЕ И СИСТЕМНЫЕ ЭФФЕКТЫ ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА АСЦИТНУЮ ОПУХОЛЬ ЭРЛИХА

CELLULAR AND SYSTEMIC EFFECTS OF PHOTODYNAMIC ACTION ON EHRLICH ASCITES TUMOR

Лысенко Ю.А., Артюхов В.Г.

ФГБОУ ВО «ВГУ», Воронеж, lysenko@bio.vsu.ru

Механизмы процессов фотосенсибилизированной модификации биосистем интенсивно исследуются в связи с применением в клинической практике метода фотодинамической терапии, предполагающего использование сенсibilизатора и поглощаемого им света. В связи с этим настоящая работа посвящена выявлению изменений реакции организма-опухоленосителя (мышей NMRI) на введенный нативный и фотомодифицированный опухолевый инокулят, а также структурно-функциональных характеристик клеток асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ) в условиях облучения красным светом (665 нм) в присутствии метиленового голубого (МГ). Нами выявлено, что введение в перитонеальную полость мышей суспензии АКЭ, подвергнутой фотодинамическому воздействию, способствует изменениям показателей системы крови опухоленосителя, а также состава клеток перитонеального экссудата и селезенки по сравнению со значениями таковых, полученных в отношении немодифицированного инокулята. Обнаружены изменения характера иммунного ответа мышей NMRI на развитие АКЭ после ее экзогенной фотомодификации (по сравнению с показателями, регистрируемыми при использовании нативных опухолевых клеток) в присутствии МГ, при этом направления наблюдаемых различий определялись объемом инокулята, используемого для облучения и имплантации, дозой облучения и концентрацией МГ (в частности, на начальных стадиях роста опухоли наблюдалась более высокая концентрация лейкоцитов в крови). Определены пороговые дозы облучения и значения концентраций МГ, при которых не происходит роста опухоли у животных после введения модифицированной клеточной массы. Также нами исследованы изменения в крови мышей-опухоленосителей (с нативным и фотомодифицированным в присутствии МГ опухолевым инокулятом) следующих показателей: концентрации эритроцитарных клеток, их морфологии, устойчивости к действию гемолитических агентов; активности эритроцитарных ферментов (ЛДГ, Г-6-ФДГ, НАД(Ф)Н-зависимых метгемоглобинредуктаз); спектральных и электрофоретических свойств гемоглобина эритроцитов; параметров стимулированной латексом люминолзависимой хемилюминесценции фагоцитов крови, являющихся показателем их способности к респираторному взрыву; концентрации глюкозы, мочевины. Известно, что опухолевые клетки обладают рядом структурно-функциональных особенностей, позволяющих им не только избегать негативного действия со стороны иммунной системы опухоленосителя, но и использовать ее отдельные компоненты для подавления иммунного ответа и стимуляции роста неопластического образования. Одной из причин, способствующих реакции организма на модифицированную в ходе фотодинамического воздействия опухолевую массу, то есть повышающих ее иммуногенность, является выход из клеток так называемых молекулярных паттернов, связанных с повреждением. Нами продемонстрировано повышение концентрации мочевой кислоты и АТФ в среде инкубирования клеток АКЭ после их облучения (665 нм) в присутствии МГ (10^{-4} моль/л). Клетки, претерпевшие опухолевую трансформацию, характеризуются, как правило, сдвигом их метаболизма, в частности, интенсификацией аэробного гликолиза (эффект Варбурга), что способствует более эффективному их обеспечению молекулами АТФ в условиях недостатка кислорода. Кроме того, промежуточные продукты гликолиза используются клеткой для анаболических реакций и антиоксидантной защиты (например, в результате ряда ферментативных превращений из глюкозо-6-фосфата в гексозомонофосфатном шунте образуется рибозо-5-фосфат, используемый клеткой для синтеза нуклеотидов; эти реакции сопровождаются также образованием НАДФН, необходимого для поддержания клеточного редокс-потенциала), а

выделяющийся при этом во внеклеточную среду лактат может способствовать опухолевой инвазии, метастазированию и уклонению от защитной реакции иммунной системы организма. Нами показано, что после облучения красным светом в присутствии МГ (10^{-5} , 10^{-4} моль/л) происходит инактивация ферментов вышеуказанных метаболических путей — лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ), а также снижение уровня общей дегидрогеназной активности клетки.

Направленность и величина фотодинамического воздействия зависят от физико-химических свойств сенсibilизатора, которые определяют, в частности, его локализацию и способность к связыванию с компонентами клетки. Нами исследованы изменения спектральных и фотофлуоресцентных характеристик МГ с различным содержанием его мономерных и димерных форм в смеси с ДНК из клеток АКЭ при варьировании ионной силы раствора. Показано, что характер связывания МГ с ДНК в данных условиях зависит от начальной доли его димерных форм в растворе и от концентрации противоионов, экранирующих заряды фосфатных групп. Также проведены эксперименты по выявлению изменений мембранного потенциала митохондрий ($\Delta\varphi_m$), концентрации свободного цитоплазматического кальция ($[Ca^{2+}]$), внутриклеточной концентрации АТФ ($[АТФ]$), уровня экспрессии фосфатидилсерина на поверхности клеток АКЭ после их облучения красным светом в различных дозах в присутствии МГ (10^{-6} — 10^{-4} моль/л). Выявлено снижение значений $\Delta\varphi_m$ и повышение $[Ca^{2+}]$ в динамике развития клеточного ответа на облучение в смеси с МГ. Таким образом, нами проанализированы изменения структурно-функциональных характеристик клеток АКЭ в условиях фотодинамического воздействия, а также выявлены изменения реакции организма-опухоленосителя на фотомодифицированный инокулят по сравнению с таковой на введение нативных опухолевых клеток.

ВОСПРОИЗВОДИМЫЕ ПИКИ НА КРИВЫХ СКОРОСТЕЙ ВЫМИРАНИЯ МЫШЕЙ ОТКРЫВАЮТ НОВОЕ НАПРАВЛЕНИЕ ПОИСКА СПОСОБОВ ПРОДЛЕНИЯ ЖИЗНИ

THE REPRODUCIBLE PEAKS ON CURVES OF RATES OF MICE MORTALITY ARE OPENING THE NEW DIRECTION OF SEARCH OF METHODS OF LIFESPAN PROLONGATION

А.Г.Малыгин

Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия, agmalugin@mail.ru

Получены данные о продолжительности жизни (ПЖ) ≈ 800 нормальных мышей и ≈ 400 мышей с мутацией задержки роста. Популяцию составляли четыре группы мышей: самцы-мутанты, самки-мутанты, нормальные самцы и нормальные самки. Ввиду отсутствия у самок-мутантов репродуктивной функции воспроизводство мышей осуществляли скрещиванием самцов-мутантов с нормальными самками. Построены графики зависимостей числа умерших мышей от их ПЖ (кривые смертности). Численным дифференцированием последних изучена форма кривых скоростей вымирания (дифференциальные кривые смертности) мышей [1,2]. Обнаружено, что эти кривые испытывают в онтогенезе колебания в виде четко выраженных пиков. Чтобы показать, что положения пиков на оси ПЖ не случайны, каждую группу делили на равные подгруппы и сравнивали кривые в параллельных подгруппах. Выяснилось, что положения пиков в независимых подгруппах самцов-мутантов и совпадали на $\approx 70\%$ и самок-мутантов на $\approx 60\%$. На дифференциальных кривых смертности мутантов в месячном возрасте был обнаружен мажорный пик, отсутствующий у нормальных мышей. У последних совпадения в положении большей части пиков наблюдали в независимых подгруппах самцов (81%) и в меньшей части – в независимых подгруппах самок ($\approx 55\%$). Это различие может возникать в результате сдвига пиков вымирания самок в следствие неконтролируемого по времени выполнения ими детородных функций. Совпадения в положении пиков на дифференциальных кривых смертности мышей из независимых подгрупп указывают на закономерное проявление повышенных рисков смерти в определенных возрастах. Эта закономерность может быть объяснена программированием в геноме сроков наступления повышенных рисков смерти.

При увеличении числа мышей в популяции количество точек на оси ПЖ возрастает. В результате разрешающая способность кривых смертности растет, и пики частично или полностью расщепляются, образуя систему кластеров. В частности, показано, что пики скоростей вымирания мышей, получаемые дифференцированием кривых смертности для объединенных подгрупп нормальных разнополых мышей, собираются в кластеры. При этом четко выявлено восемь кластеров.

По мере сглаживания исходных кривых смертности и последующего превращения их в кривые интенсивности смертности посредством деления значений дифференциальных кривых смертности на соответствующие значения кривых дожития по Гомперцу, пики и кластеры становятся малозаметными, а форма кривой логарифма интенсивности смертности приближается к прямой. Чтобы доказать, что кластеры, подобно пикам, не случайны, изучена зависимость положения кластеров на оси ПЖ от степени сглаживания кривой смертности, а также принадлежности кластеров к разным подгруппам мышей. Положение кластеров на оси ПЖ в сутках вычисляли как средневзвешенную величину в виде суммы произведений положения пиков на

горизонтальной оси и их высоты, деленной на сумму высот пиков в пределах кластера. Было установлено, что положение кластеров на оси ПЖ не зависит от степени сглаживания кривых и с большой точностью воспроизводится в независимых подгруппах мышей. В то же время, значительные колебания размеров совпадающих по положению пиков и кластеров и отсутствие части парных пиков в параллельных подгруппах, указывало на их чувствительность к внешним воздействиям. В геронтологии на природу старения и смерти существуют две противостоящие точки зрения: сторонники одной - убедительно доказывают, что старение и смерть жестко запрограммированы в организме, в то время как сторонники другой - приводит не менее убедительные доводы в пользу того, что причиной старения и смерти служит воздействие на организм внешних факторов. Результаты, полученные при исследовании форм дифференциальных кривых смертности, позволяют согласовать эти точки зрения в рамках одной модели.

Короткий период жизни, предшествующий достижению мышами-мутантами мажорного пика смертности (30 ± 5 дней), облегчит поиск способов его нейтрализации. Это, в свою очередь, ускорит поиск путей преодоления других пиков смертности. Если будет достоверно установлено, что обнаруженный феномен распространяется и на другие виды, включая людей, то открывается возможность продлевать жизнь особей методами избирательного воздействия на организм в возрастах, предшествующих ожидаемому появлению пиков или их кластеров. Развитие диагностических методов обнаружения у каждого человека соответствующих пикам критических возрастов и способов преодоления последних, открывает перспективы увеличения средней продолжительности жизни людей до ста лет и более.

1. Малыгин А.Г. Новые данные о запрограммированных рисках смерти у нормальных мышей и мышей с мутацией задержки роста // Биохимия. 2017, Т. 82, № 7, сс. 1085-1096.
2. Малыгин А.Г. Воспроизводимые кластеры пиков на дифференциальных кривых смертности мышей и их отношение к модели Гомперца // Биохимия. 2018, Т. 83, № 7, сс. 1067-1077.

IN VIVO МОНИТОРИНГ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА МЕТОДОМ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ

IN VIVO MONITORING OF THE ORAL MUCOSA BY OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY

Масленникова А.В.^{1,2}, Седова Е.С.¹, Сироткина М.А.¹, Моисеев А.А.³, Ксенофонтов С.Ю.³, Геликонов Г.В.³, Матвеев Л.А.³, Киселева Е.Б.¹, Зайцев В.Ю., Е.В. Загайнова¹, Н.Д. Гладкова¹, А. Виткин⁴

¹ГБОУ ВО «ПИМУ МЗ РФ», Нижний Новгород, maslennikova.anna@gmail.com

²ФГАОУ ВО ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород

³ИПФ РАН, Нижний Новгород

⁴Toronto University, Toronto, Canada

Мониторинг состояния поверхностных слизистых оболочек в процессе ответа на повреждающее воздействие и последующего восстановления имеет важное клиническое значение. С этой точки зрения, актуальной задачей является разработка неинвазивного метода, позволяющего выявить слабо выраженные субклинические изменения, которые не определяются при стандартном визуальном осмотре. Важным требованием является возможность получить информацию о различных компонентах слизистой оболочки: микроструктуре, состоянии сосудистого русла, соединительнотканного матрикса, а также о механических свойствах тканей. Этим требованиям отвечает оптическая когерентная томография (ОКТ), которая используется в клинике в течение последних двадцати лет для оценки состояния нормальных и патологически измененных тканей [1]. В нашей работе многофункциональная ОКТ была использована для мониторинга радиационно-индуцированного повреждения и последующего восстановления слизистой оболочки полости рта у пациентов, которым проводилась (химио)лучевая терапия по поводу орофарингеального рака.

В исследование были включены 44 пациента со II-IV стадией рака слизистой оболочки полости рта и глотки. Планирование лучевой терапии проводилось в соответствии с локализацией и распространенностью опухолевого процесса. Облучение проводилось на линейном ускорителе (Varian Clinac 600, USA) или гамма-аппарате (Terabalt, UJP, Czech Republic). Побочные эффекты химиотерапии и облучения (мукозит слизистой оболочки полости рта и глотки) оценивались в соответствии со шкалой RTOG/EORTC. ОКТ-исследование проводилось три раза в неделю, начиная с первого дня химиотерапии или облучения. В качестве зон мониторинга были выбраны две стандартные симметричные точки на слизистой оболочке правой и левой щеки. Использовалась спектрально-зависимая система ОКТ (ИПФ РАН, Нижний Новгород) на основе широкополосного суперлюминесцентного диода с центральной длиной волны 1300 нм, позволяющая проводить сканирование со скоростью 20 000 А-сканов в секунду. Визуализация микроциркуляторного русла проводилась на основе высокочастотного анализа спекловых вариаций обратно рассеянного сигнала [2], для чего при каждом исследовании получали 3D изображение сосудов для образца слизистой оболочки размером 3×3×1 мм. Для численной обработки ангиографических изображений получали проекцию объемного изображения на плоскость, используя принцип максимальной интенсивности проекции (МИП). Полученные 2D изображения

подвергались бинаризации и скелетонизации. Для количественной оценки состояния микроциркуляторного русла использовали два параметра: общая длина сосудов диаметром менее 15 мкм и плотность сосудистой сетки (отношение числа пикселей, относящихся к сосудам, к общему числу пикселей на изображении). Анализ структурных ОКТ-изображений основывался на оценке степени разницы интенсивности сигнала между эпителием и подслизистым слоем.

ОКТ-изображения слизистой оболочки щеки в норме демонстрируют отчетливую слоистую структуру с верхним слоем, относящимся к эпителию, средним слоем, относящимся к собственной пластинке слизистой оболочки и нижним слоем, соответствующим подслизистой. Основным проявлением лучевой реакции на структурных ОКТ-изображениях стало снижение контраста между эпителиальным слоем и подслизистой, которое появлялось существенно раньше, чем клинические симптомы мукозита. Момент появления первых признаков лучевой реакции (гиперемия и отек слизистой оболочки) характеризовался практически полной потерей контраста на ОКТ-изображениях. Различная скорость потери контраста изображения на доклинической стадии позволила разработать предиктивные критерии, позволяющие предположить степень тяжести побочных эффектов облучения у конкретного пациента, что является исключительно важным для правильного назначения поддерживающей терапии. ОКТ-изображения микроциркуляторного русла нормальной слизистой оболочки представляют собой равномерно распределенную сеть, состоящую в основном из относительно крупных сосудов. В ответ на воздействие ионизирующего излучения еще до появления клинических симптомов лучевой реакции у всех пациентов отмечалось увеличение общей длины мелких сосудов и повышение плотности сосудистой сетки. Данные показатели продолжали возрастать параллельно нарастанию клинических проявлений мукозита, статистически значимые различия по сравнению с исходным уровнем возникали при развитии мукозита 2-й степени. При использовании планов с высоким градиентом дозы на границе мишени сосудистая реакция слизистой оболочки продемонстрировала соответствие дозному распределению, что позволяет использовать метод для «in vivo» дозиметрии при реализации конформных планов облучения с целью профилактики «горячих пятен» в нормальных тканях, попадающих в объем облучения.

1. Sergeev A. et al. Optics Express 1, 432-440 (1997). doi:10.1364/OE.1.000432.

2. Mariampillai A. et al. Optics letters 35, 1257-1259 (2010). doi: 10.1364/OL.35.001257.

МОБИЛЬНОЕ УСТРОЙСТВО ДЛЯ ИЗМЕРЕНИЯ ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ МЕТОДОМ ГЕТЕРОХРОМАТИЧЕСКОЙ ФЛИКЕР-ФОТОМЕТРИИ

MOBILE DEVICE FOR OPTICAL DENSITY MEASUREMENT BY HETERO-CHROMATIC FLICKER-PHOTOMETRY METHOD

Мисяков А.Н.^{1,2}, Андриухина А.С.³, Зак П.П.¹, Рябцева А.А.³, Ларичев А.В.², Островский М.А.¹

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

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

³ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского (МОНИКИ)

Измерение оптической плотности макулярных пигментов (ОПМП) является одним из важных в диагностике таких заболеваний как возрастная макулярная дегенерация, диабетическая ретинопатия и т.д. В современной медицине существует несколько способов измерения ОПМП, но они являются трудоемкими и дорогостоящими. Целью данного исследования было создание бюджетного прибора, позволяющего проводить быстрое обследование без предварительной подготовки пациента и не требующего специального обучения медперсонала. Методика измерения, на котором основан принцип работы созданного прибора, называется гетерохроматическая фликер-фотометрия. Она заключается в том, что испытуемому представляются 2 чередующихся световых импульса 470 нм и 560 нм, уравнивая яркость которых, он автоматически делает поправку на оптическую плотность желтого пятна. Измерения производят на постоянном синем фоне для подавления активности колбочек, чувствительных к коротковолновому излучению. Испытуемому предъявляются два точечных чередующихся импульса с длинами волн 470 и 560 нм, которые на синем фоне выглядят одинаковыми по цвету. После того, как пациент выровняет оба стимула по субъективной яркости, они начинают восприниматься как постоянный не мелькающий свет. Дальнейшая фотометрия позволяет оценить количество макулярных пигментов, содержащихся в сетчатке глаза.[1] Оптическая плотность пигментов подвержена влиянию некоторых факторов, таких как пол, пигментация, возраст, курение и т.д.[2] Исследования, проведенные при помощи созданного фликер-фотометра подтвердили работоспособность данного метода. Были обследованы 12 человек с различными факторами, влияющими на оптическую плотность. Средний возраст испытуемой группы составляет 21 ± 3 года. Среднее значение ОПМП, полученное с использованием созданного прибора составило 0.41 ± 0.10 . Для сравнения, в другой работе, использующей гетерохроматическую фликер- фотометрию, для контрольной группы со средним возрастом $40,8 \pm 14,9$ года значение ОПМП составило $0,31 \pm 0,15$ [3]. Также было проведено сравнение с показаний ОПМП со значениями, полученными с помощью фундус-камеры Zeiss fundus camera visucam 500. Было отобрано 3 пациента возрастом

19, 23 и 24 года, для которых значения фликкер-фотометра составили 0.42, 0.3 и 0.5 соответственно. Предварительно было проведено обследование состояния здоровья макулы, не выявившее каких-либо патологий, способных повлиять на ОПМП. Показания фундус камеры составили 0.272, 0.262 и 0,296. Несмотря на расхождение значений можно отметить, что для меньшего значения ОПМП, полученного на фликкер-фотометре, соответствует значение ОПМП фундус-камеры, соответственно для остальных значений сопоставления тоже выполняются.

- 1.Трофимова Н.Н., Зак П.П., Островский М.А. «Функциональная роль каротиноидов желтого пятна сетчатки». Обзор данных за последние 10 лет.2003г
- 2.Cher Huiyun Joanna. MACULAR PIGMENT OPTICAL DENSITY IN SINGAPORE POPULATION. 2015. стр 28-36
- 3.Эскина Э.Н., Егоров Е.А., Белогурова А.В., Гветадзе А.А., and Степанова М.А.. "РОЛЬ ИЗМЕРЕНИЯ ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ МАКУЛЯРНОГО ПИГМЕНТА В ДИАГНОСТИКЕ ГЛАЗНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ" РМЖ. Клиническая офтальмология, vol. 16, no. 4, 2016, pp. 197-200.

СТРУКТУРНО - ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ БАЛАНС ИММУННЫХ КЛЕТОК И ТРОМБОЦИТОВ В НАТИВНОЙ КРОВИ, ОПРЕДЕЛЯЕМЫЙ С ПОМОЩЬЮ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ЗОНДА ДСМ, КАК АДЕКВАТНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА

STRUCTURAL AND ENERGETIC BALANCE OF IMMUNE CELLS AND PLATELETS IN THE NATIVE BLOOD, DETERMINED BY MEANS A FLUORESCENT PROBE DSM, IS AN ADEQUATE CHARACTERISTICS OF THE ORGANISM CONDITION

Морозова Г. И., Аношин А. А.¹, Добрецов Г.Е.², Матвеева Н.К.³

Российский университет дружбы народов, Москва, E-mail: gimorozova@mail.ru

¹Институт Общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва

²Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины, Москва

³ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова, Москва

На сегодня актуальна задача исследования и моделирования динамики структурно-энергетического баланса (СЭБ) в клеточном иммунитете как чувствительного показателя изменения состояния организма. Флуоресцентный зонд-катион 4-(*n*-диметиламиностирил)-1-метилпиридиния (ДСМ) позволяет оценивать мембранные потенциалы и энергетическую активность (ЭА) митохондрий в клетках [1, 2], в том числе в лимфоцитах (Лц) и в нейтрофилах (НФ) непосредственно в нативной крови [3]. Кроме того уникальность полихроматической флуоресцентной картины ДСМ в мазке нативной крови состоит и в том, что одновременно можно обнаружить некротические и жизнеспособные микро-гистофрагменты, проникающие в кровь из патологических очагов, и следить за эффективностью взаимодействия с ними иммунных клеток [4].

В качестве информационного дополнения к методу [3] в данной работе рассмотрены критерии для распознавания изображений 4-х типов Лц (Т-х, Т-с, НК и В-л) в мазке нативной крови в свете флуоресценции ДСМ: по характерной топологии распределения активных митохондрий в Лц (с учётом размеров клеток), а также для тромбоцитов (Тр). В параллельных экспериментах на одних и тех же образцах крови доноров и больных (30 чел.) получена хорошая корреляция между нашим способом распознавания этих типов Лц в мазке крови и методом типирования Лц с помощью моноклональных антител [5]. Отличительная особенность нашего способа в том, что по флуоресценции ДСМ в нативной крови можно не только распознать типы клеток и Тр-ты, но и одновременно оценить ЭА («тонус») каждого из этих объектов. Таким образом по изменению ЭА в разных популяциях иммунных клеток (Лц, Нф) в крови возможно выявить раннюю «векторную направленность» в реакциях иммунной сети при адаптивных или патологических сдвигах в организме.

Соответственно СЭБ клеточных элементов в крови охарактеризованы структурными показателями – % клеток каждого типа и Тр-ов, и энергетическими показателями (ЭА) - интенсивностью флуоресценции ДСМ в митохондриях (F_m) клеток разных типов и в Тр. На базе 12 структурно-энергетических показателей (СЭП) и их комбинаций получены диаграммы и матрицы корреляций, отражающие особенности СЭБ при некоторых патологиях (онкологии, аллергии, новообразованиях, воспалениях и др.) (112 чел.). Статистическая обработка полученных данных выявила наибольшую значимость показателей ЭА (по *t*-критерию) при сравнении разных патологий. Так, в группе онкориска (с новообразованиями) по сравнению с другими патологиями существенно увеличен показатель ЭА клеток в популяции Т-лимфоцитов, особенно резко в звене Т-с, а также увеличена ЭА Тр-ов. Сравнительный анализ диаграмм и матриц корреляций СЭП крови, представленных в виде цветных графических образов для разных больных, позволяет следить за особенностями изменения взаимосвязей в иммунной сети индивидуального организма на фоне физико-химических воздействий (*in vivo*) (частотно-резонансных, иммуномодуляторов, лучевой и химиотерапии).

1. Добрецов Г.Е., Косников В.В., Морозова Г.И., и др. Измерение градиента концентрации флуоресцентного зонда-катиона ДСМ на плазматической и митохондриальной мембранах лимфоцита. //Биологические мембраны. 1986. Том 8. № 3. Стр.266-273.
2. Morozova G.I., Parkhomenko T.V., Klitsenko O.E., Tomson V.V. Stimulating Effect of Erythropoietin on Thymocyte Energetics Established in vitro with Potential sensitive Fluorescent Probe. //Biochemistry Supplement Series A: Membrane and Cell Biology. Moscow: 2007. Vol.1. No 4. P.325 -330.
3. Морозова Г.И., Онищенко Н.А., Оржиховская И.Г., и др. Микрофлуорометрический метод идентификации и оценки физиологического состояния лимфоцитов и нейтрофилов в цельной нативной крови с помощью флуоресцентного зонда-катиона ДСМ (в эксперименте и клинике). //Гематология и трансфузиология. 1997. Том 42. № 3. Стр.43-47.
4. Морозова Г.И., Борисов В.А. Сопряженные флуоресцентные эффекты фотосенсибилизатора хлорина и катионного зонда ДСМ в нативной крови онкобольных до и в процессе ФДТ. //Материалы 5-го съезда биофизиков России. Ростов-на-Дону: 2015. Стр.253.
5. Pope V., Larsen S.A., Rice R.J., Goforth S.N., Parham C.E., Fears M.B. Flow cytometric analysis of peripheral Blood lymphocyte immunophenotypes in persons infected with treponema pallidum. //Clin. Diagn. Lab. Immunol. 1994. Vol. 1. No 1. P. 121-124.

КОВАЛЕНТНОЕ ИНГИБИРОВАНИЕ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ ХЛОРАМИНОВЫМИ ОКСИДАНТАМИ БИОГЕННОЙ ПРИРОДЫ

COVALENT INHIBITION OF THE BLOOD PLATELET AGGREGATION BY BIOGENIC CHLORAMINE OXIDANTS

Мурина М.А.¹, Рошчупкин Д.И.^{2,1}

¹ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства», Москва, e-mail: marina_murina@mail.ru

²ГБОУ ВПО "Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова" Минздрава, Москва, e-mail: roshchupkin_di@rsmu.ru

В широком плане работа посвящена исследованию реакционной активности ряда оксидантов, представляющих собой производные хлорамина таурина, в отношении к тиольных соединений. С одной стороны, модификация белков-тиолов в организме оксидантами представляет собой патологический процесс и это имеет место в тканях при воспалении, вызванном активацией нейтрофилов. В то же время в мировой науке хлораминовые оксиданты сейчас активно изучают на предмет возможности их применения в качестве антимикробных и антитромботических агентов [1-3].

Конкретной целью работы было выяснение связи реакционной активности оксидантов, имеющих активный хлор, со структурой их реакционного центра. С использованием квантовомеханических расчетов (методом ВЗЛУР/6-311G) молекулярных характеристик оксидантов получено уравнение множественной корреляции, которое определяет зависимость константы скорости от заряда активного хлора и молекулярной массы. На основании этого уравнения предсказаны реакционные свойства ещё не синтезированных хлораминовых оксидантов. На основании расчетных предсказаний созданы новые оксиданты: N-ацильные и N-алкильные аналоги N-хлортаурина, N-ацетильное производное N-хлор-2,2-диметилтаурина (N-ацетил-N-хлор-2,2-диметилтаурин) [4,5].

Установлено, что новые хлораминовые оксиданты являются ингибиторами функций тромбоцитов: проявляют специфическую фармакологическую активность в богатой тромбоцитами плазме крови и цельной крови (кролика и человека). При активации тромбоцитов наиболее важным агонистом аденозиндифосфатом значительное угнетение их агрегации (на 50 %) имеет место при конечной концентрации антиагрегантов 0,25–0,5 мМ. В крови действие созданных антиагрегантов имеет избирательный характер, ингибирование тромбоцитов происходит при отсутствии гемолитического повреждения эритроцитов. При повышенных концентрациях N-алкильные аналоги N-хлортаурина (1,0 мМ), судя по увеличению времени коагуляции плазмы, выступают в качестве антикоагулянта. Это может быть результатом торможения общего этапа коагуляции за счет модификации фибриногена, обуславливающей утрату его способности к полимеризации.

Один из важнейших научных результатов работы относится к реакционным свойствам нового антиагреганта N-ацетил-N-хлор-2,2-диметилтаурина в сравнении с другими хлораминовыми оксидантами. Определена константа скорости реакции с сульфгидрильной группой дитиотреитола, служившего моделью биологически значимых тиолов. Эта константа ($2,53 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$) на два порядка превышает константу для известных монохлораминовых производных аминокислот и таурина. Важно, что она на несколько порядков больше константы скорости реакции с метионином. Таким образом, созданный хлораминовый антиагрегант обладает свойством высоко избирательно модифицировать остатки цистеина в белковых мишенях. Эта избирательность может обеспечивать тропность антиагреганта к пуриновому рецептору P2Y12 в тромбоцитах, в котором вблизи центра связывания АДФ имеется сульфгидрильная группа.

1. Murina M.A. et al. Antithrombotic Activity of N,N-Dichlorotaurine on Mouse Model of Thromosis in Vivo. // Bull. Exp. Biol. Med. 2002. Vol. 134. No. 7. P. 44-47.
2. Martini C. et al. Antimicrobial and Anticoagulant Activities of N-Chlorotaurine, N,N-Dichloro-2,2-Dimethyltaurine, and N-Monochloro-2,2-Dimethyltaurine in Human Blood. // Antimicrob. Agents Chemother. 2012. Vol. 56. No. 4. P. 1979-1984.
3. Gruber M. et al. Bactericidal and Fungicidal Activity of N-Chlorotaurine Is Enhanced in Cystic Fibrosis Sputum Medium. // Antimicrob. Agents Chemother. 2017. Vol. 61. No. 5. e02527-16.
4. Рошупкин Д.И. и др. Флуорометрическое изучение модификации сывороточного альбумина структурными аналогами хлорамина таурина. // Биофизика. 2017. Т.62. Вып. 1, С.31-38.
5. Рошупкин Д.И. и др. Свойства биологически значимых хлораминовых оксидантов: реакционная активность и ее зависимость от структуры функциональной группы атомов. // Биофизика. 2019. Т. 64, Вып. 2, С. 213–224.

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕГИОНАЛЬНЫХ РАЗЛИЧИЙ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ КАРДИОМИОЦИТОВ ЖЕЛУДОЧКОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 1 ТИПА

AN INVESTIGATION OF REGIONAL DIFFERENCES IN CONTRACTILE FUNCTION OF VENTRICULAR CARDIOMYOCYTES IN EXPERIMENTAL TYPE 1 DIABETES MELLITUS

Мячина Т.А.^{1,2}, Бутова К.А.^{1,2}, Берг В.Ю.¹, Соколова К.В.^{1,2}, Гетте И.Ф.^{1,2}, Копылова Г.К.¹, Щепкин Д.В.¹, Хохлова А.Д.^{1,2}

¹Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург

²Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург

Региональная неоднородность миокарда, как электрическая, так и механическая, проявляется на всех уровнях организации – от молекулярного до тканевого, что обеспечивает оптимальную работу сердца. Патологические условия приводят к адаптационному ремоделированию разных регионов миокарда, вызывая изменение структурно-функциональной неоднородности на клеточном уровне. Сахарный диабет (СД) 1 типа ведет к развитию диабетической кардиомиопатии [1]. Однако до сих пор мало известно о молекулярно-клеточных изменениях различных камер сердца при диабетической кардиомиопатии. Целью данной работы является исследование механической функции одиночных кардиомиоцитов и сократительных белков левого (ЛЖ) и правого желудочка (ПЖ) при экспериментальном аллоксан-индуцированном СД 1 типа.

Исследование было выполнено в соответствии с Директивой 2010/63/EU. СД 1 типа развивался в течение 6 недель после трех внутрибрюшинных инъекций аллоксана в дозе 100 мг/кг в течение одной недели на самцах крыс линии Wistar в возрасте 12 недель [2]. СД 1 типа был подтвержден значительным увеличением концентрации глюкозы и уровня гликозилированного гемоглобина с помощью биохимического анализа показателей крови. Одиночные кардиомиоциты были получены с использованием стандартной методики ретроградной перфузии сердца по Лангендорфу раствором с добавлением коллагенолитического фермента, расщепляющего внеклеточный каркас [3]. Сократительную функцию кардиомиоцитов и динамику внутриклеточного кальция в цитозоле клетки исследовали при помощи флуоресцентного красителя Fluo-8 (ААТ Bioquest, США) при использовании конфокального микроскопа (LSM-710, Carl Zeiss, Германия). Измерения были выполнены при температуре 36-37°C и частотах внешней электрической стимуляции 0.5, 1, 2, 3 Гц. Взаимодействие миозина с нативным тонким филаментом (NTF), экстрагированным из ЛЖ и ПЖ здоровых крыс, изучали при помощи *in vitro* подвижной системы.

Мы показали, что конечно-диастолическая длина саркомеров кардиомиоцитов была меньше в группе с СД 1 типа по сравнению с интактными животными. Амплитуды сокращения саркомеров и изменения концентрации кальция в цитозоле одиночных кардиомиоцитов были меньше у животных с СД по сравнению с интактными крысами. Время достижения максимума сокращения и время расслабления саркомеров увеличилось у крыс с СД 1 типа как в ЛЖ, так и в ПЖ, но этот эффект был более выражен в кардиомиоцитах ЛЖ, что приводило к увеличению регионального градиента сократительной функции одиночных кардиомиоцитов между ЛЖ и ПЖ. Однако временные характеристики изменения внутриклеточного кальция в цитозоле изменились незначительно.

Максимальная скорость скольжения NTF по миозину крыс с СД снизилась на 30% по сравнению с контрольной группой. Кальциевая чувствительность зависимости рСа-скорость миозина крыс с СД была ниже на 0,2 рСа. В обоих желудочках был обнаружен сдвиг экспрессии изоформ тяжелой цепи миозина к β -изоформе, что объясняет замедление скорости скольжения филаментов в *in vitro* подвижной системе, а также увеличение времени сокращения и расслабления одиночных кардиомиоцитов.

Проведенное исследование показало, что СД 1 типа оказывает разное влияние на структуру и функцию миокарда ЛЖ и ПЖ, наиболее выраженные эффекты изменения клеточных характеристик были обнаружены в ЛЖ. Изменение механической активности кардиомиоцитов может быть частично объяснено сдвигом изоформ тяжелой цепи миозина и посттрансляционными модификациями белков саркомера.

Работа поддержана РФФ № 18-74-10059.

1. Bell DS. Heart failure: the frequent, forgotten, and often fatal complication of diabetes // Diabetes care. 2003. Vol. 26. P. 2433-2441.
2. Данилова И.Г., Гетте И.Ф. Способ моделирования аллоксанового диабета. Патент на изобретение №2534411; 27.11.2014. Бюл. №33
3. Khokhlova A, Iribe G, Katsnelson L, Naruse K & Solovyova O. The effects of load on transmural differences in contraction of isolated mouse ventricular cardiomyocytes // Journal of molecular and cellular cardiology. 2018. Vol. 114. P. 276-287.

ЛАЗЕРНАЯ ТЕРАПИЯ 30 ЛЕТ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

LASER THERAPY - 30 YEARS IN CLINICAL PRACTICE

Овсянников В.А.

ФТИ им. А.Ф. Иоффе, Санкт-Петербург, E-mail: victorovs@mail.ru

В докладе представлены исследования по воздействиям терапевтических (низко интенсивных) лазерных излучений на живые ткани при различных заболеваниях, и показано, как и почему малые воздействия могут приводить к важным результатам [1, 2].

Облучение живых тканей таким излучением приводит к восстановлению их нормального метаболизма и, как результат, к восстановлению их нормальной жизнедеятельности. Цитологические исследования показали, что энергия этого излучения поглощается, прежде всего, молекулами АТФ, определяющими энергетику клетки. Происходит восстановление свойств клеток и тканей, утраченных из-за заболевания.

Пример: возрастание регенерационных способностей тканей: при переломах костей происходит быстрое и качественное их сращивание; при сращивании нервных волокон лазерное облучение соединённых нервов приводит к восстановлению прохождения сигналов по участку сращивания.

В живых тканях, поражённых от радиоактивных излучений, после лазерной терапии происходит более быстрый рост здоровых тканей с вытеснением поражённых тканей. Лазерное терапевтическое излучение помогло выздоровлению десятков людей, пострадавших при аварии на Чернобыльской АЭС.

У онкологических больных, получавших лучевую терапию, значительно уменьшаются лучевые осложнения после курсов лазерной терапии.

При облучении поджелудочной железы при диабете она увеличивает выработку собственного инсулина, и у больных снижается концентрация сахара в крови.

При облучении крови наблюдается увеличение эластичности эритроцитов, что позволяет им проникать в более тонкие капилляры. Одновременно происходит восстановление свойств тканей на внутренней поверхности сосудов. В итоге, происходит значительное увеличение кровоснабжения облучённых тканей. По наблюдениям, вместо отдельных сосудов на снимках видят появление густой сети сосудов.

В некоторых направлениях положительные результаты можно получить только с помощью лазерной терапии (при сочетании вирусных гепатитов с ВИЧ – инфекции). Сейчас лазерная терапия успешно используется более чем в 200 направлениях медицины. При этом в 26 направлениях медицины лазерная терапия оказалась более эффективной, чем фармацевтическая. В клиниках Санкт-Петербурга и Москвы к 2003 году по методикам, предложенным автором, лазерную терапию получили около 1000 больных, из них 90% с положительными результатами и 10% с нейтральными результатами. Отрицательных результатов мы не наблюдали.

Лазерная терапия применялась при лечении [3 – 7]:

- кардиологических заболеваний – инсульт, субдуральные травмы черепа,
- онкологических заболеваний – различные послеоперационные осложнения, при лучевой терапии, фотодинамическая терапия,
- инфекционных заболеваниях - вирусные гепатиты, ВИЧ – инфекция,
- неврологических заболеваний – рассеянный склероз, различные невралгии,
- эндокринные заболевания – сахарный диабет и при лучевых поражениях тканей.

1. Москвин С.В. и др. Лазерная терапия в педиатрии. М. 2009, с. 415,
2. Овсянников В.А. Механизм лазерной терапии вирусных гепатитов. В кн. "Frontiers in Viral Hepatitis", p. 325 – 332. By R.F. Schiinz et al. Print. in Netherlands, 2002.
3. Овсянников В.А. и др. Патент РФ, № 2112567, “Устройство для черезкожного облучения крови и тканей”.
4. Овсянников В.А. Сизова Н.В. Патент РФ, № 2112567, “Лазерный способ лечения СПИДА”.
5. Овсянников В.А. и др. Патент РФ, № 2153905 “Способ фототерапии вирусного гепатита”.
6. Овсянников В.А. и др. Патент РФ, № 2200041, “Способ лечения больных рассеянным склерозом лазерным излучением”.
7. Овсянников В.А. Патент РФ, № 2679865, “Способ лечения сахарного диабета”.

О ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СОЛИТОНОВ В НАНОМЕДИЦИНЕ: ДОСТАВКА ЛЕКАРСТВА ИЛИ ЛЕЧЕБНОГО СОСТОЯНИЯ?

ABOUT THE POSSIBILITY OF THE USE OF SOLITONS IN NANOMEDICINE: DELIVERY OF A MEDICINE OR A MEDICAL TREATMENT?

*Б.Л.Оксенгендлер¹⁾, акад. АН РУз К.М.Мукимов¹⁾, Ф.А.Искандарова¹⁾,
А.Б.Аширметов²⁾, Н.Н.Тураева³⁾, Р.Б.Акрамова⁴⁾, Ш.С.Рузиев⁴⁾.*

¹⁾ Центр развития нанотехнологий при Национальном университете Узбекистана имени Мирзо Улугбека, г. Ташкент, Узбекистан.

²⁾ Министерство Здравоохранения, РУз, г. Ташкент, Узбекистан.

³⁾ Webster University, Louisiana, USA

⁴⁾ Национальный университет Узбекистана имени Мирзо Улугбека, г. Ташкент, Узбекистан.
Почтовый адрес: oksengendlerbl@yandex.ru

Среди различных аспектов nano биомедицинской тематики все более возрастающую роль играет доставка лекарств («Drug Delivery») [1]. Эта идея базируется на проникновении в биообъект сложной наночастицы через физиологические барьеры. Вместе с тем, недавно родился и набирает популярность иммунологический аспект медицины, когда внимание уделяется, в основном, «зажиганию» свойств иммунной системы (ее запуск) [2]. Каковы же пути этого запуска? Неужели опять через Drug Delivery?

Концептуальная идея использования солитонной химии в фармакологии.

Нам представляется, что возможен принципиально иной путь, а именно- доставка не лечебной наночастицы, а доставка **локального наномодифицированного состояния** собственного исходного объекта, так что этот модифицированный кусочек превращается в своего рода катализатор, возбуждение которого до порогового уровня достаточно для начала химической реакции, вызывающей иммунный ответ. Такую доставку, видимо, наиболее успешно могли бы осуществить солитонные возбуждения на основных биологических макромолекулах. При этом совершалась бы нужная биохимическая запускающая реакция. Отметим, что использование солитонного возбуждения через биополимеры в очень серьезной степени основана на их (полимерах) квазиодномерности и линейной памяти (эти свойства полимеров сформулированы как базисные в конце 60 годов)[3]. Другое, крайне важное свойство солитона на макромолекуле состоит в изменении электронных свойств в месте нониуса (позиции максимальной деформации солитона). Такой электронный аспект для полимеров был внедрен в полимерную науку относительно недавно[4].

Базовая идея- локальное увеличение реакционной способности на перемещающемся нониусе- была обчислена в рамках Давыдовских солитонов двух типов (симметричного и несимметричного типов)[5], для чего использовались представления квантовых теорий химических реакций в интерпретации Коулсона и Берсукера (соответственно) [6,7]. В результате анализа перемещающегося вдоль солитона реакционного объема был получен ряд характеристик, определяющих «зажигание» иммунного ответа. Это позволило найти оптимальные условия для возбуждения солитона на конце цепи и всех характеристик макромолекулы (важнейшим обстоятельством оказалась возможность при этом осуществить юстировку подходящего уровня такого своеобразного катализатора). Эта общая идея была обчислена методами квантовой химии применительно к некоторым конкретным биополимерам.

1. Drug Delivery: Fundamentals and Applications, Ed. Anya M Hillery, Kinam Park.- Boca Raton: CRC Press, 2016, 614 с.

2. Уайтсайдс Дж., Эйглер Д., Андерс Р. и др. Нанотехнология в ближайшем десятилетии. Прогноз направления исследований, пер. с англ.-М.: Мир, 2002. 249 с.

3. Гросберг А.Ю., Хохлов А.Р. Статистическая физика макромолекул.-М.: Наука, 1989, 344 с.

4. Abrukina Yu. M., Oksengendler B. L. Localized electron states in a simple ID chain with a loop//JETP Letters, 1994, issue60/4, p. 258

5. Давыдов А.С., Биология и квантовая механика.-Киев: «НД»1979, 296с.

6. Берсукер И.Б. Эффект Яна-Теллера и вибронные взаимодействия в современной химии.-М.: Наука, 1987, 344с.

7. Coulson C. A., Valence, Oxford University Press, London, 1952, 250 p.

ПЕРВИЧНЫЙ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКОГО И ПОСТОЯННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЕЙ НА КЛЕТКИ КРОВИ ЖИВОТНЫХ

PRIMARY EFFECTS' MECHANISM OF ELECTROSTATIC AND PERMANENT MAGNETIC FIELDS IN ANIMAL BLOOD CELLS

Олешкевич А.А., Новикова А.В.

ФГБОУ ВПО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени Скрябина К.И., 109472, Москва, ул. Скрябина, 23; *e-mail: kompsotita@gmail.com*

Проведены лабораторные эксперименты по изучению первичного механизма действия электростатического и постоянного магнитного полей на клетки крови животных и возможности управления состоянием клеток [1, 2]. Объектами исследований служили эритроциты лабораторных крыс, домашних кошек, собак и лошадей. Получены значения константы проницаемости мембран эритроцитов для глюкозы, которые использовали как количественный критерий воздействия на проницаемость мембран по глюкозе. Установлено, что при действии постоянным электростатическим полем в пределах 5–10 мин проницаемость для глюкозы незначительно снижается относительно контроля, а при воздействии 15 минут — возрастает в 4–5 раз. Также установлено, что при экспозиции 5–15 мин поля относительно невысокой напряжённости $8,3 \cdot 10^2$ В/м и $5,5 \cdot 10^2$ А/м оказывают значительное воздействие на распределение эритроцитов по кислотной стойкости. При этом выражена зависимость доза-эффект. Анализ физиологического состояния клеток крови животных проведён методами световой, люминесцентной и фазово-контрастной микроскопии. Регистрировали эритроцитоз, пойкилоцитоз, преципитацию метгемоглобина на внутренней стороне мембран, электротаксис эритроцитов. Веретенообразная и бочкообразная форма клеток свидетельствовала об электрострикции ткани *in vitro*. Отмечено изменение динамики оксигенации гемоглобина на фоне изменения трансаминазной активности в плазме крови.

Таким образом, открывается возможность управлять внутрисосудистым гемолизом, метаболическими процессами клеток-мишеней, что представляет значительный клинический интерес.

1. Novikova, A.V. Effect of constant electric field on the change of erythrocyte membrane permeability for glucose / Novikova A.V., Novikov V.E., A.A. Oleshkevich // Book of abstracts / 6th International Conference on radiation and applications in various fields of research, RAD 6. – Ohrid, Macedonia: RAD-JOURNAL. org, 2018. – P. 415.
2. Novikova, A.V. Change in acid erythrogram of laboratory animals in constant electric and magnetic field / Novikova A.V., Novikov V.E., A.A. Oleshkevich // Book of abstracts / 6th International Conference on radiation and applications in various fields of research, RAD 6. – Ohrid, Macedonia: RAD-JOURNAL. org, 2018. – P. 414.

ВЕРОЯТНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВЛИЯНИЯ УЛЬТРАЗВУКА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ НА АКТИВНОСТЬ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ

PROBABLE MECHANISMS OF THERAPEUTICAL INTENSITY ULTRASOUND'S EFFECT ON THE LACTATE DEHYDROGENASE ACTIVITY

Олешкевич А.А.

ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени Скрябина К.И., 109472, Москва, ул. Скрябина, 23; *e-mail: kompsotita@gmail.com*

Проведены исследования по нахождению пороговых значений безопасного *in vitro* воздействия терапевтического ультразвука (УЗ) на кровь домашних животных. Из собак, кошек, лошадей разного пола, возраста и пород сформировали группы в соответствии с возрастом и состоянием здоровья по принципу физиологических аналогов. Было установлено: морфологические изменения лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов, происходящих на фоне уменьшения клеточной жизнеспособности, связаны с экспозицией и частотой УЗ. Результатами регрессионного и корреляционного анализа между изменениями физиологического состояния клеток — экспозицией УЗ и жизнеспособностью клеток крови — показано наличие тесных ($|r| > 0.69$) и средних ($0.3 < |r| < 0.69$) отрицательных корреляционных связей ($p < 0.001$). Математические закономерности изменения жизнеспособности лейкоцитов после 3 мин обработки непрерывным УЗ подтвердили это заключение. При времени от 5 до 60 с уменьшение процента жизнеспособности экспоненциально зависит от количества УЗ энергии, действующей на единицу объёма клеточной суспензии при концентрации клеток не более 3–6 млн. на 1 см^3 .

Для определения активности ферментов в плазме крови животных действию ультразвука подвергали образцы цельной крови, а после отделения клеток проводили биохимический анализ плазмы. Анализ результатов влияния УЗ на активность ферментов гомеостаза показал, что воздействие непрерывным УЗ интенсивности $0.4\text{--}0.7 \text{ Вт/см}^2$ дольше 60 с вызывало достоверное увеличение активности лактатдегидрогеназы

плазмы крови кошек и собак (в 1.5 и более раз); тогда как достоверного изменения активности указанного фермента плазмы крови лошадей не обнаружено.

На сегодняшний день нельзя однозначно объяснить наличие такой зависимости для сложных биологических систем. Учитывая данные литературы [1, 2] и наших исследований, такие эффекты можно связать со сложными параметрическими резонансами в этих системах и, в первую очередь, с влиянием на константы взаимодействия в ключевых подсистемах (ферментах, фермент-мембранных комплексах, транспортных системах клеток). В случае цитозольного фермента лактатдегидрогеназы можно предположить, что механизм действия УЗ связан с *направленным* эффектом на активный сайт фермента или на одну из субъединиц лактатдегидрогеназы. Также нельзя исключить увеличения активности фермента в результате повышения *концентрации* лактатдегидрогеназы в плазме образцов крови, вызванного разрушением клеток крови в ультразвуковом поле.

1. *Johns, L. D.* Non-thermal Effects of Therapeutic Ultrasound: The Frequency Resonance Hypothesis / L. D. Johns // Journal of Athletic Training. — 2002. — Vol. 37 (3). — P. 293–299

2. *Пашовкин, Т. Н.* Влияние амплитудно-модулированного ультразвука на активность ферментов крови [Текст] / Т. Н. Пашовкин, А. Л. Глазунов, М. П. Коломыцева // II съезд биофизиков России : тезисы докладов : в 3 т. — Т. 2. — М. : Институт биофизики клетки РАН, 1999. — С. 878.

ИССЛЕДОВАНИЕ МУЛЬТИФАКТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НА ПРИМЕРЕ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К АЛКОГОЛИЗМУ: МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА И БИОФИЗИКА

STUDY OF MULTIFACTORIAL DISEASES ON ALCOHOL ADDICTION EXAMPLE: MOLECULAR GENETICS AND BIOPHYSICS

*Осипова Л.П.^{1,2}, Хантемирова М.Р.^{1,2}, Галиева Э.Р.¹, Личман Д.В.^{1,2}, Бабенко Р.О.¹, Ковалев С.С.^{1,2},
Табиханова Л.Э.^{1,2}, Орлов Ю.Л.^{1,3}*

¹Новосибирский государственный университет (НГУ), Новосибирск, Россия

²ФИЦ «Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия

³Первый МГМУ им. И.М.Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, orlov@d-health.institute

Цель исследования – изучить полиморфизм молекулярно-генетических маркеров мозга, вовлеченных в регуляцию поведения человека (в том числе девиантного) в этнических группах Сибири и Арктики, связанных с алкогольной аддикцией. Одной из наиболее значимых форм девиантного поведения в популяциях малочисленных коренных народов Севера является алкогольная аддикция, представляющая серьезную проблему в демографическом и медико-социальном аспектах. Известно, что генетическая компонента вносит значительный вклад в развитие алкогольной зависимости, обусловленной молекулярными механизмами. Для лучшего понимания механизмов патогенеза алкоголизма и связанных с ним патологических состояний актуально исследовать этнические особенности распространения полиморфных вариантов генов-кандидатов, поскольку они могут обуславливать различия в подверженности к мультифакториальным заболеваниям [1].

Известен ряд кандидатных генов, ассоциированных с повышенным риском развития алкогольной зависимости. Помимо генов ферментов, ответственных за метаболизм алкоголя в организме, представляют интерес гены нейротрансмиссии. Одним из наиболее исследуемых кандидатных генов является ген транспортёра серотонина (*SLC6A4*, *5-HTT*). Кодированный им белок осуществляет обратный захват серотонина и является мишенью для ряда психоактивных веществ. Наибольший интерес представляют два VNTR-полиморфизма в этом гене, *5-HTTLPR* и *STin2*. Представляют интерес полиморфные варианты гена моноаминоксидазы А (*MAOA*). Моноаминоксидаза – фермент, ответственный за деградацию моноаминовых нейромедиаторов. Показана ассоциация *MAOA* как с алкоголизмом, так и с агрессивным поведением, с чертами личности, ассоциированными с повышенным риском развития алкогольной зависимости.

Рассмотрены гены серотонинергической и дофаминергической систем мозга, связанных с эмоциональной регуляцией и системой поощрения поведения, что может быть ассоциировано с алкоголизмом и другими отклонениями. Исследование осуществлено с помощью метода аллель-специфической ПЦР и соответствующих статистических методов анализа. Научная новизна данного исследования заключается в выборе приоритетной панели из семи молекулярно-генетических маркеров мозга, с помощью которых будет изучен полиморфизм в шести северных популяциях, различающихся по происхождению, языковой принадлежности (обские угры, северные самодийцы, славяне), и образу жизни (оленьеводы, рыбаки-охотники, урбанизированные группы Севера). Впервые в нашем проекте рассматриваются данные о распределении частот аллелей полиморфных вариантов генов транспортёра серотонина *SLC6A4* (*5-HTTLPR* и *STin2*), триптофангидроксилазы 2 *TPH2* (rs1386494 и rs4570625), моноаминоксидазы А (*MAOA* 30 п.н. VNTR-полиморфизм), рецептора дофамина D2 *DRD2* (Taq1A), гена рецептора серотонина 2A *HTR2A* (rs6311) в популяциях тундровых ненцев, северных хантов, коми-зырян, северных селькупов, нганасан, и русских Севера.

Полученные результаты могут явиться основой для более корректных оценок используемых маркеров в

качестве генов-кандидатов для этносов российской Арктики; могут быть использованы в задачах персонализированной медицины для выработки подходов к лечению алкогольной аддикции у народов Севера, в сравнении с популяциями этнических групп Китая [2,3] и проблем адаптации популяций [4].

Работа поддержана грантом РФФИ 19-15-00219 «Исследование генетических детерминант мультифакторных заболеваний у коренных народов Сибири».

1. Хантемирова М.Р., Табиханова Л.Э., Орлов Ю.Л., Осипова Л.П. Генетические исследования мультифакторных заболеваний: системно-биологические подходы // Гены и клетки. 2018. Приложение №1: С. 106-107.

2. У Ч., У Х., Орлов Ю.Л. и соавт. Генетический полиморфизм и сопутствующие факторы риска ишемического инсульта в монгольской популяции Китая // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017. Т. 21(5), С. 581-587.

3. Bai H., Liu H., Suyalatu S. et al. Association analysis of genetic variants with type 2 diabetes in a Mongolian population in China // Journal of Diabetes Research. 2015. V. 2015. P. 613236.

4. Hallmark B., Karafet T.M., Hsieh P., Osipova L.P., Watkins J.C., Hammer M.F. Genomic Evidence of Local Adaptation to Climate and Diet in Indigenous Siberians // Mol Biol Evol. 2019. V. 36(2). P. 315-327.

АНАЛИЗ АЛЬТЕРНАТИВНОГО СПЛАЙСИНГА ГЕНОВ В КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК ГЛИОМ ПО ДАННЫМ RNA-SEQ

ANALYSIS OF GENE ALTERNATIVE SPLICING IN GLIOMA CELL CULTURES BY RNA-SEQ DATA

Ковалев С.С.^{1,2}, Леберфарб Е.Ю.^{1,3}, Орлова Н.Г.², Брагин А.О.¹, Бабенко В.Н.^{1,2}, Орлов Ю.Л.^{1,2,4}*

¹Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

²Новосибирский государственный университет (НГУ), Новосибирск, Россия

³Новосибирский государственный медицинский университет (НГМУ), Новосибирск, Россия

⁴Первый МГМУ им. И.М.Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, orlov@d-health.institute

Фундаментальные биомедицинские исследования в онкологии, поиск новых маркеров развития опухолей, требуют проведения исследований экспрессии генов на культурах клеток глиом. Необходимо транскриптомное профилирование, анализ экспрессии генов и их изоформ. В свою очередь, такие эксперименты требуют разработки новых компьютерных инструментов анализа. Исследование экспрессии генов в клетках глиобластомы, поиск генов кандидатов для терапевтического воздействия имеют несомненную актуальность в здравоохранении, современной высокотехнологичной медицине [1]. Глиобластома является наиболее распространенной (60% от всех первичных опухолей) и злокачественной (выживаемость около 1 года после постановки диагноза) первичной опухолью центральной нервной системы у взрослых. Глиальные опухоли включают целый спектр опухолей, различающихся по уровню клеточной дифференциации и злокачественности [2].

Цель нашего исследования – компьютерный поиск генов и их изоформ, нарушение экспрессии которых связано с развитием глиобластом, с помощью современных высокопроизводительных технологий секвенирования транскриптомом и международных биомедицинских банков данных. Поиск генов-кандидатов для терапевтического воздействия, в том числе отдельных изоформ генов, очень актуален в современной высокотехнологичной медицине. В работе представлены задачи биоинформатики, связанные с разработкой компьютерных конвейеров обработки транскриптомных данных, определения дифференциально экспрессирующихся генов, анализа альтернативного сплайсинга, описания категорий генных онтологий для найденных групп генов. Мутации в опухолевых клетках могут приводить к распространению нефункциональных изоформ белка, нарушению клеточной функции, и пролиферации опухоли. Ранее считалось, что только мутации в кодирующей ДНК вызывают рак. Сейчас показано, что изменения в альтернативном сплайсинге также провоцируют онкозаболевания. Развиваются соответствующие научные направления поиска специфических паттернов сплайсинга [2], исследования процессинга РНК.

Существует несколько программ и конвейеров анализа данных сплайсинга. Нами разработан и применен конвейер по обработке данных РНК-секвенирования образцов глиом и здоровой ткани человека [3]. Конвейер основан на использовании таких программ как TopHat2, Cufflinks, rMATS, Samtools, VCFtools, и скриптов на языках программирования Perl, R и Bash. Институтом Аллена разработана база данных Ivy Glioblastoma Atlas Project (<http://glioblastoma.alleninstitute.org/>) по данным пациентов, страдающим глиомой. Авторами этой базы данных ранее выделено 343 гена, специфичных для глиом в различных структурах мозга. По запросу ‘Gliome’ в базе данных OMIM (<http://omim.org>) получен список генов, ассоциированных с глиомой по литературным данным. В экспериментальной части работы использовались данные по первичным культурам клеток глиом и нормального мозга, полученные в ИЦиГ СО РАН (послеоперационный клеточный материал был получен в сотрудничестве с ФГБУ Национальным медицинским исследовательским центром им. Е.Н. Мешалкина, г. Новосибирск).

Представлен прототип базы данных дифференциального альтернативного сплайсинга генов – «Дифференциальный альтернативный сплайсинг генов человека при вторичной глиобластоме (ДАСГГ)», с возможностью работы через веб-сайт, поиска уровней экспрессии отдельных изоформ в глиальной опухоли.

Экспериментальная часть исследований была поддержана бюджетным проектом ИЦиГ СО РАН. Компьютерный анализ генов поддержан грантом РФФИ 19-15-00219.

1. Ковалев С.С., Леберфарб Е.Ю., Губанова Н.В., Брагин А.О., Галиева А.Г., Цуканов А.В., Бабенко В.Н., Орлов Ю.Л. Компьютерный анализ альтернативного сплайсинга генов в культурах клеток глиом по данным RNA-seq // Вестник НГУ Серия: Информационные технологии. 2018. Т. 16(3). С.22-36.
2. Correa B.R., de Araujo P.R., Qiao M., et al. Functional genomics analyses of RNA-binding proteins reveal the splicing regulator SNRPB as an oncogenic candidate in glioblastoma // Genome Biol. 2016. V. 17(1). P. 125.
3. Babenko V.N., Gubanova N.V., Bragin A.O., Chadaeva I.V., Vasiliev G.V., Medvedeva I.V., Gaytan A.S., Krivoshepkin A.L., Orlov Y.L. Computer Analysis of Glioma Transcriptome Profiling: Alternative Splicing Events // J Integr Bioinform. 2017. V. 14(3). pii: /j/jib.2017.14.issue-3/jib-2017-0022/jib-2017-0022.xml.

УЧАСТИЕ ФОСФОЛИПАЗЫ D В РЕГУЛЯЦИИ ПЕРОКСИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ЦИТОХРОМА C PHOSPHOLIPASE D MEDIATED CYTOCHROME C PEROXIDASE ACTIVITY

Осипов А.Н., Степанов Г.О., Владимиров Ю.А.

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва,
anosipov@yahoo.com

Хорошо известно, что при развитии апоптотических процессов происходит увеличение пероксидазной активности цитохрома С в результате образования комплексов с анионными фосфолипидами, среди которых одно из первых мест занимает кардиолипин. В результате образования таких комплексов цитохром С превращается из переносчика электронов между III и IV комплексами митохондрий в пероксидазу, за счет изменения структуры активного центра. Другими анионными липидами, образующими комплекс с цитохромом С, могут быть фосфатидилсерин и фосфатидная кислота. В обычных условиях, вне процесса апоптоза, количество анионных фосфолипидов мало и цитохром С участвует, в основном, в транспорте электронов в митохондриальной электрон-транспортной цепи. При запуске апоптотических процессов происходит усиление образования комплексов цитохрома С с анионными фосфолипидами. Возможным источником фосфатидной кислоты может быть активация фосфолипазы D, которая превращает фосфатидилхолин в фосфатидную кислоту. Целью настоящего исследования было выяснение возможности образования комплексов цитохрома С с фосфатидной кислотой, получающейся из фосфатидилхолина в присутствии фосфолипазы D, и измерения пероксидазной активности цитохрома С, входящего в состав этих комплексов.

Было обнаружено, что взаимодействие цитохрома С с фосфатидилхолином, проинкубированным с фосфолипазой D, приводит к изменению структуры активного центра цитохрома С (выражающемуся в уменьшении поглощения при 695 нм и возрастанию флуоресценции триптофана) и увеличению пероксидазной активности цитохрома С (измеренной по окислению люминола в пероксидазной реакции и регистрируемого методом хемилюминесценции). Более того, включение фосфатидной кислоты, полученной в результате инкубации фосфатидилхолина с фосфолипазой D, в состав липосом приводило к образованию пор в липосомах (что было обнаружено по вытеканию флуоресцентного красителя – сульфородамина В из липосом и возгоранию флуоресценции).

Полученные результаты однозначно свидетельствуют о возможности регуляции пероксидазной активности цитохрома С фосфолипазой D, опосредованной через образование фосфатидной кислоты. Обнаруженные закономерности демонстрируют новый механизм участия фосфолипазы D в апоптотических процессах.

МУЛЬТИМОДАЛЬНЫЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ ОТВЕТА РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА НЕОАДЬЮВАНТНУЮ ХИМИОТЕРАПИЮ

MULTIMODAL APPROACH IN ASSESSMENT OF THE RESPONSE OF BREAST CANCER TO NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY

*Павлов М.В.¹, Плеханов В.И.², Субочев П.В.², Орлова А.Г.², Сафонов Д.В.¹,
Ильинская О.Е.³, Масленникова А.В.¹*

¹ГБОУ ВО «ПИМУ МЗ РФ», Нижний Новгород, Pavlov.med88@gmail.com

²ИПФ РАН, Нижний Новгород

³ГБУЗ НОКОД НО, Нижний Новгород

Возросшее понимание молекулярно-генетических и патофизиологических механизмов возникновения и прогрессирования рака молочной железы привело к «смене парадигмы» в подходах к его лечению, в частности, к существенному возрастанию в последние десятилетия роли лекарственной (цитостатической, гормональной и таргетной) терапии. При использовании лекарственной терапии в неoadъювантном (предоперационном) формате важным вопросом является чувствительность новообразования к лечебному воздействию, поскольку в случае отсутствия ответа опухоли продолжение лекарственной терапии приводит к развитию токсичности, повышению затрат на фактически неэффективное лечение и неоправданное откладывание оперативного вмешательства. С этой точки зрения, необходима разработка предиктивных критериев ответа опухоли молочной железы на проводимое лечение, которые позволят оценить чувствительность новообразования к терапии в ранние сроки после ее начала. На фоне лечения изменения параметров, характеризующих опухолевый метаболизм, возникают ранее, чем изменения размеров опухолевого узла. Целью данного исследования была комплексная оценка динамики кислородного статуса, состояния сосудистого русла и соединительнотканного матрикса опухолей молочной железы на фоне проведения неoadъювантной химиотерапии с целью разработки предиктивных критериев ответа новообразования на лечение.

В исследование в соответствии с протоколом были включены 70 пациенток со II-IV стадией рака молочной железы, которым проводилась предоперационная химиотерапия. Тридцать из них полностью закончили лечение и были включены в анализ, 40 в настоящее время продолжают химиотерапию. Параметры кислородного статуса опухоли (оксигемоглобин, дезоксигемоглобин, общий гемоглобин, уровень сатурации) изучали с помощью установки оптической диффузионной спектроскопии (ОДС) с плоской геометрией сканирования в конфигурации «на просвет» (ИПФ РАН, Нижний Новгород). Сканирование ткани молочной железы осуществляется с использованием трех лазеров на длине волны 684 нм, 850 нм и 794 нм. Численная обработка полученных данных позволяет рассчитать концентрацию основных хромофоров, характеризующих кислородный статус ткани. Динамику изменений сосудистого русла и механических свойств (жесткости) опухоли определяли на аппарате для ультразвукового исследования «Siemens Acuson S2000» и «SuperSonic Aixplorer» в режиме энергетического Доплера и эластографии сдвиговой волны. ОДС-исследование и ультразвуковое исследование проводили до начала лечения и после первого курса предоперационной химиотерапии. После завершения химиотерапии пациенткам проводилось оперативное вмешательство и оценка ответа опухоли (лечебного патоморфоза) по шкале Miller and Payne и сопоставление данного показателя с динамикой изменений кислородного статуса, состояния сосудистого русла и механических свойств опухоли, изученных с помощью оптического и ультразвукового методов.

Опухоли молочной железы продемонстрировали различный тренд динамики данных показателей в зависимости от чувствительности новообразования к лекарственному воздействию. В случае 4-й (не более 10% жизнеспособных опухолевых клеток в послеоперационном материале) и 5-й (отсутствие жизнеспособных опухолевых клеток в послеоперационном материале) степени лечебного патоморфоза наблюдалось повышение уровня оксигенации опухоли после первого курса химиотерапии по сравнению с исходным. В случае 1-й (отсутствие ответа опухоли на химиотерапию) и 2-й (гибель не более 10% опухолевых клеток) степени уровень оксигенации опухоли снижался или оставался на прежнем уровне. Сопоставление динамики показателей оксигенации опухоли и ответа опухоли на лечение с построением линейной аппроксимации выявило умеренную достоверную положительную корреляцию между двумя параметрами ($r=0,628$ при уровне значимости $p=0,0003$). Сопоставление динамики васкуляризации новообразования и степени ответа опухоли не выявило статистически значимой корреляции между соответствующими показателями ($r=0,394$, $p=0,051$). Опухоли, продемонстрировавшие высокую чувствительность к химиотерапии, демонстрировали снижение показателей жесткости после первого курса химиотерапии.

Наше исследование показало, что изменения параметров оксигенации, которые детектируются с помощью оптического метода, и реакция стромы опухоли (изменения жесткости), которые детектируются с помощью ультразвуковой эластографии корректно отражают чувствительность новообразования к лекарственной терапии. На их основе могут быть разработаны ранние предиктивные критерии ответа опухоли на лечение.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (проект 18-02-520041).

ВЛИЯНИЕ НА НЕЙТРОФИЛЫ СОБСТВЕННЫХ СЕКРЕТОРНЫХ БЕЛКОВ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ ХЛОРОВАТИСТОЙ КИСЛОТОЙ

EFFECT ON NEUTROPHILS OF THEIR OWN SECRETORY PROTEINS MODIFIED BY HYPOCHLOROUS ACID

Бородина И.В.¹, Михальчик Е.В.¹, Соколов А.В.^{1,2}, Панасенко О.М.¹

¹ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины ФМБА», Москва

²ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Нейтрофилы представляют собой важное клеточное звено врожденного иммунитета. В их азурофильных гранулах содержится фермент миелопероксидаза (МПО), который катализирует окисление галогенидов до соответствующих гипогалоидных кислот, главным образом, хлорноватистой (НОСl) и бромноватистой (НОВr). НОСl и НОВr – сильные окислители и галогенирующие агенты, их принято называть активными формами галогенов (АФГ) [1]. Чрезмерная продукция АФГ активированными нейтрофилами может стать причиной развития галогенирующего стресса, приводящего к модификации биологически важных молекул, повреждению клеток и тканей, развитию заболеваний, ассоциированных с воспалением [1].

Однако помимо ферментативной активности важным свойством МПО является ее способность связываться с поверхностью клеток крови и модулировать их функции независимо от каталитической активности. В частности, было показано, что МПО, секретируемая из азурофильных гранул в очагах воспаления, связывается с поверхностью нейтрофилов, стимулирует их дегрануляцию с высвобождением лактоферрина (Лф, белок специфических гранул), лизоцима (Лз, белок специфических и азурофильных гранул) и эластазы (Эл, белок азурофильных гранул) [2]. В очаге воспаления секретируемые белки становятся мишенью для АФГ, что приводит к их модификации, нарушению конформации, физико-химических и функциональных свойств. Так, в работе [3] показано, что МПО инактивируется под действием образующихся при функционировании ее цикла галогенирования АФГ с потерей пероксидазной и галогенирующей активности, что сопровождается разрушением гемовой группы фермента. В конечном итоге МПО, модифицированная под действием АФГ, теряет способность активировать дегрануляцию азурофильных и специфических гранул нейтрофилов [2]. О влиянии на нейтрофилы других секреторных белков (Лф, Эл, Лз), модифицированных в условиях галогенирующего стресса, практически ничего не известно. Цель данной работы – исследовать методом хемилюминесценции (ХЛ) способность Лф, Эл, Лз, нативных и модифицированных НОСl, активировать нейтрофилы.

Нейтрофилы выделяли из донорской крови, стабилизированной 3,8% раствором цитрата натрия. В работе были использованы гомогенные препараты Лф, Эл и Лз человека, выделенные в помощь комбинации хроматографических методов. Измерение ХЛ нейтрофилов проводили на люминиметре Lum 1200 (ДИСофт, Москва) при постоянном перемешивании и температуре 37°C. Белки модифицировали, смешивая равные объемы их растворов с раствором NaOCl, инкубируя смесь 30 мин при 25°C.

Показано, что Лф при сравнительно малых концентрациях (до 200 мкг/мл) вызывал увеличение (на ~25%) ХЛ нейтрофилов по сравнению с контролем, что свидетельствует об их активации. С ростом концентрации Лф (> 200 мкг/мл) ХЛ ответ нейтрофилов постепенно снижался. Похожая картина наблюдалась в ответ на последующее добавление ФМА. Лф, модифицированный НОСl (Лф-НОСl) даже в таком малом мольном соотношении, как 1:10, снижал спонтанную и ФМА-активированную ХЛ. Эффект возрастал как по мере увеличения концентрации Лф-НОСl, так и с увеличением концентрации НОСl во время модификации Лф. Модифицированный в мольном соотношении 1:100 Лф-НОСl в концентрации 200 мкг/мл практически полностью предотвращал спонтанную и активированную ФМА ХЛ. Эл в отличие от Лф ни нативная, ни модифицированная под действием НОСl достоверно не влияла на ХЛ нейтрофилов, как в отсутствие ФМА, так и в ответ на его добавление. Лз по мере роста концентрации снижал и спонтанную, и активированную ФМА ХЛ (CA₅₀ ~ 60 и 210 мкг/мл, соответственно). Способность Лз ингибировать ХЛ нейтрофилов снижалась по мере усиления его модификации НОСl. Лз, модифицированный НОСl (1:20 моль/моль), был не способен снижать спонтанную ХЛ нейтрофилов и ингибировал ХЛ, активированную ФМА, достоверно слабее нативного Лз.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что секреторные белки нейтрофилов разнонаправленно модулируют их активность, а также по-разному влияют на ХЛ нейтрофилов, индуцированную активатором. Это делает возможным регуляцию функциональной активности нейтрофилов в условиях галогенирующего стресса при воспалении по аутокринному механизму.

Работа поддержана грантами Президента РФ № МД-5133.2018.4 и РФФИ № 18-515-00004 и 17-04-00530.

1. Панасенко О.М., Горудко И.В., Соколов А.В. Хлорноватистая кислота как предшественник свободных радикалов в живых системах // Успехи биологической химии. 2013. Т. 53. С. 195-244.
2. Григорьева Д.В., Горудко И.В., Соколов А.В., Костевич В.А., Васильев В.Б., Черенкевич С.Н., Панасенко О.М. Миелопероксидаза стимулирует дегрануляцию нейтрофилов. Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2016. Т. 161. №4. С. 483-488.
3. Vakhrusheva T.V., Grigorieva D.V., Gorudko I.V., Sokolov A.V., Kostevich V.A., Lazarev V.N., Vasilyev V.B., Cherenkevich S.N., Panasencko O.M. Enzymatic and bactericidal activity of myeloperoxidase in conditions of halogenative stress // Biochem. Cell. Biol. 2018. Vol. 96(5). P. 580-591.

САМОИНАКТИВАЦИЯ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ В УСЛОВИЯХ ГАЛОГЕНИРУЮЩЕГО СТРЕССА SELF-INACTIVATION OF MYELOPEROXIDASE UNDER GALOGENATIVE STRESS CONDITIONS

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

¹ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины ФМБА», Москва

²Белорусский государственный университет, Минск

³ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

Миелопероксидаза (МПО) – фермент семейства пероксидаз млекопитающих (донор: H₂O₂ оксидоредуктаза, К.Ф. 1.11.1.7), содержится главным образом в азурофильных гранулах нейтрофилов, высвобождается во внеклеточное пространство в очагах воспаления, катализирует двухэлектронное окисление галогенидов (СГ, Вг⁻, Г) и псевдогалогенидов (SCN⁻) по реакции [1]: X⁻ + H₂O₂ + H⁺ → HOX + H₂O, где X⁻ – галогенид или псевдогалогенид. Образующиеся гипогалоидные кислоты, главным образом хлорноватистая (НОСl) и бромноватистая (НОВг) – сильные окислители и галогенирующие агенты, их принято называть активными формами галогенов (АФГ) [1]. АФГ модифицируют биологически важные молекулы (белки, липиды, нуклеиновые кислоты и пр.), проявляя цитотоксичность, что приводит к развитию галогенирующего стресса – дисбаланса между образованием в организме АФГ и способностью организма удалять или нейтрализовать их [1]. При этом МПО, находясь в очаге воспаления, сама становится мишенью для АФГ. Цель работы – в условиях, моделирующих возникновение галогенирующего стресса, изучить особенности модификации ароматических аминокислотных остатков фермента, его гемовой группы, а также изменение пероксидазной и галогенирующей активности, сопоставить результаты с бактерицидной активностью МПО.

Условия возникновения галогенирующего стресса моделировали: 1) путем воздействия на фермент АФГ, образующихся в МПО-зависимых реакциях: НОСl, НОВг, хлор- и бромамины таурина (синтезированные в реакции таурина с НОСl и НОВг, соответственно); 2) самоинактивацией фермента в присутствии H₂O₂ и субстратов цикла галогенирования: СГ, Вг⁻ или SCN⁻. Пероксидазную активность МПО определяли спектрофотометрически по окислению хромогенного субстрата *o*-дианизидина. Хлорирующую активность МПО оценивали используя таурин в качестве перехватчика образующейся НОСl и регистрируя спектрофотометрически последующее окисление хлорамином таурина 5-тио-2-нитробензойной кислоты. Степень повреждения ароматических аминокислотных остатков (главным образом Тгр) МПО оценивали по уменьшению интенсивности собственной флуоресценции фермента ($\lambda_{\text{возб.}}=285$ нм, $\lambda_{\text{исчл.}}=340$ нм). За деструкцией гема следили по уменьшению поглощения МПО в области полосы Core (430 нм). Бактерицидную способность МПО тестировали на лабораторном штамме кишечной палочки *E. coli* DH5 α .

Показано, что инкубация МПО при 23°C в течение 1 ч в присутствии НОСl, НОВг или бромамина таурина (МПО:АФГ=1:100, моль/моль) приводила к существенному снижению интенсивности собственной флуоресценции МПО, что свидетельствует о разрушении ~ 45, 45 и 38% остатков Тгр, соответственно. Хлорамин таурина в аналогичных условиях не оказывал заметного влияния на интенсивность собственной флуоресценции МПО. Самоинактивация фермента в присутствии физиологических концентраций хлорида (140 мМ) или бромиды (100 мкМ) сопровождалась разрушением ~ 87 и 88% остатков Тгр, соответственно. При самоинактивации МПО в присутствии физиологической концентрации NaSCN (120 мкМ) интенсивность собственной флуоресценции МПО не изменялась. После инкубации МПО с НОСl, НОВг или бромамином таурина снижалась как пероксидазная, так и хлорирующая активность фермента, начиная с мольного соотношения МПО:АФГ=1:25 и выше. Хлорамин таурина не снижал активность МПО во всем исследованном диапазоне концентраций (вплоть до МПО:АФГ=1:500, моль/моль). Самоинактивация МПО при функционировании цикла галогенирования замедлялась в ряду субстратов: Вг⁻>СГ>SCN⁻. Параллельно снижению хлорирующей активности МПО под действием НОСl или НОВг происходило падение поглощения фермента в области полосы Core, что свидетельствовало о деструкции гема. Обнаруженная модификация остатков Тгр, гема и инактивация фермента приводили к угнетению бактерицидной активности МПО. Независимо от способа модификации (действие НОСl, НОВг или самоинактивация в присутствии СГ или Вг⁻) снижение хлорирующей активности фермента сопровождалось увеличением количества колоний-образующих единиц *E. coli*, то есть снижением бактерицидности МПО (коэффициент корреляции – R=0,91) [2].

Полученные результаты свидетельствуют о том, что модификация аминокислотных остатков МПО в условиях галогенирующего стресса, приводящего к развитию патологических реакций, характерных для очагов воспаления, снижает ее ферментативную активность, что сопровождается угнетением бактерицидной способности МПО и может оказывать решающее влияние на течение воспалительной реакции организма в целом. Работа поддержана грантами Президента РФ № МД-5133.2018.4, РФФИ № 18-515-00004 и 17-04-00530 и БРФФИ (Б18Р-058).

1. Панасенко О.М., Горудко И.В., Соколов А.В. Хлорноватистая кислота как предшественник свободных радикалов в живых системах // Успехи биологической химии. 2013. Т. 53. С. 195-244.
2. Vakhruшева T.V., Grigorieva D.V., Gorudko I.V., Sokolov A.V., Kostevich V.A., Lazarev V.N., Vasilyev V.B., Cherenkevich S.N., Panasenکو O.M. Enzymatic and bactericidal activity of myeloperoxidase in conditions of halogenative stress // Biochem. Cell. Biol. 2018. Vol. 96(5). P. 580-591.

ТЕРАГЕРЦОВАЯ ТЕРАПИЯ В КАРДИОЛОГИИ**TERAHERTZ THERAPY IN CARDIOLOGY**

Паршина С.С., Афанасьева Т.Н., Петрова В.Д., Капланова Т.И., Потапова М.В.
Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского, Саратов, Россия, iparshinasvetlana@mail.ru

Использование терагерцовой терапии на частотах молекулярного спектра оксида азота (150,176 ... 150,664 ГГц) (ЭМИ ТГЧ-NO или ТГЧ-терапии-NO) в кардиологии показало, что у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) ТГЧ-терапия-NO существенно повышает антиангинальное и антигипертензивное действие медикаментозных препаратов, обладает собственным гипокоагуляционным и реопротекторным действием, пролонгирует эффекты стационарного лечения в отдаленные сроки наблюдения. Особое место в кардиотропных эффектах ЭМИ ТГЧ-NO занимает лечение артериальной гипертензии (АГ), как самостоятельного заболевания, так и в сочетании с ишемической болезнью сердца.

Цель работы: оценить особенности влияния ТГЧ-терапии-NO на показатели артериального давления при курсовом воздействии, а также исследовать ее эффективность в купировании гипертонических кризов.

Объекты и методы исследования. Обследовано 120 пациентов с артериальной гипертензией в сочетании с ИБС (стабильной и нестабильной стенокардией). Все пациенты получали ТГЧ-терапию-NO на фоне стандартной медикаментозной терапии (патент № 2286185 «Способ лечения сердечно-сосудистых заболеваний»). Облучение ЭМИ ТГЧ-NO проводилось с помощью аппарата терагерцовой терапии «Орбита». Локализация облучения - область мечевидного отростка грудины. Использовался прерывистый режим облучения «3/15» (3 мин. - облучение, 15 мин. – перерыв; длительность сеанса 39 либо 21 мин.). Курс лечения – 10 процедур. Группу контроля составили 60 больных, получавших только медикаментозное лечение. Оценивалось антигипертензивное действие ЭМИ ТГЧ-NO, особенности влияния у мужчин и женщин, курящих и некурящих пациентов,

У 23 пациентов исследовались возможности ЭМИ ТГЧ-NO в купировании гипертонических кризов (ГК) без дополнительного использования медикаментов: однократное воздействие ЭМИ ТГЧ-NO на область аорты (II межреберье справа от грудины) в непрерывном режиме воздействия. Для анализа антигипертензивного эффекта ЭМИ ТГЧ-NO использовался показатель «среднее АД» (диастолическое АД + 1/3 пульсового АД [систолическое АД – диастолическое АД]). Контроль динамики АД осуществлялся каждые 5 мин. Антигипертензивный эффект считался достигнутым при снижении среднего АД на 20-25%, поскольку более выраженное снижение АД при купировании ГК потенциально опасно из-за развития ишемии мозга.

Результаты. Применение ЭМИ ТГЧ-NO в сравнении с контрольной группой существенно повышает антигипертензивный эффект медикаментозной терапии как по выраженности, так и по скорости наступления.

При этом установлено, что у кардиологических больных наличие артериальной гипертензии требует уменьшения длительности сеанса при ТГЧ-терапии со стандартных 39 мин. до 21 мин. в режим «3/15», что позволяет избежать нежелательных колебаний АД и добиться более выраженного антигипертензивного эффекта. Уменьшение энергетической экспозиции в данном случае не влияет на скорость стабилизации состояния и выраженность антиангинального действия при наличии сопутствующей стенокардии. Выявлена также группа «сверхчувствительных» к ТГЧ-воздействию больных, лечение которых должно проводиться по индивидуально подобранным параметрам с помощью «острой» пробы на первом сеансе облучения. Факторами риска «сверхчувствительности» к волнам терагерцового диапазона являются: наличие сопутствующего длительного анамнеза ИБС, ожирение, наследственность, выраженность недостаточности кровообращения и наличие свыше одного перенесенного инфаркта миокарда в анамнезе. У «сверхчувствительных» пациентов длительность сеанса может составлять от 1 до 3-х минут непрерывного воздействия, а продолжительность курса может сокращаться с 10 до 7-8 сеансов. Разработана методика индивидуального подбора параметров облучения у данной категории больных.

Установлено, что влияние терагерцовых волн на показатели систолического АД у мужчин с сопутствующей стенокардией проявляется быстрее и более выражено, чем у женщин. При этом степень снижения диастолического АД у мужчин и женщин одинакова, однако максимальное снижение диастолического АД у женщин достигается к 3-му сеансу, а у мужчин – к 5-му. Курение не влияет на антигипертензивное действие ЭМИ ТГЧ-NO.

Использование ЭМИ ТГЧ-NO для купирования ГК показало эффективность методики в 95,7%: купирование ГК было достигнуто у 22-х пациентов из 23. Среднее АД в группе обследуемых составило до лечения $130,6 \pm 3,24$ мм рт.ст., после лечения – $99,6 \pm 8,2$ мм рт.ст. ($p < 0,05$). Длительность облучения - от 20 до 40 мин., воздействие прекращалось при снижении среднего АД на 20-25%. Корреляции между уровнем исходного АД и временем облучения не выявлено ($p > 0,05$). Снижение АД при купировании ГК с помощью ЭМИ ТГЧ-NO происходило достаточно постепенно, без резких колебаний.

Выводы. ЭМИ ТГЧ-NO является эффективным немедикаментозным методом лечения АГ. Курсовое воздействие в прерывистом режиме повышает антигипертензивное действие медикаментозной терапии, при этом мужчины более чувствительны к ТГЧ-воздействию. Курение не влияет на антигипертензивный эффект ЭМИ ТГЧ-NO. У чувствительных пациентов требуется уменьшение времени облучения. ЭМИ ТГЧ-NO может использоваться для купирования гипертонических кризов без медикаментозной поддержки с эффективностью 95,7%:

ОСОБЕННОСТИ ОТВЕТНОЙ РЕАКЦИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ НА ГЕОМАГНИТНУЮ ВОЗМУЩЕННОСТЬ НА РАЗЛИЧНЫХ ШИРОТАХ

FEATURES OF THE RESPONSE OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM TO GEOMAGNETIC PERTURBATION AT DIFFERENT LATITUDES

Паршина С.С.¹, Самсонов С.Н.², Афанасьева Т.Н.¹, Петрова П.Г.³, Стрекаловская А.А.³, Петрова В.Д.¹, Кодочигова А.И.¹, Комзин К.В.³

¹ - Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского, Саратов, Россия, 1parshinasvetlana@mail.ru,

² - Институт космофизических исследований и аэронауки им. Ю.Г. Шафера СО РАН, Якутск, Россия, s_samsonov@ikfia.ysn.ru,

³ - Медицинский институт Северо-Восточного федерального университета им. М.К. Аммосова, Якутск, Россия, mirra_44@mail.ru

Геомагнитная возмущенность (ГМВ) может оказывать существенное влияние на состояние сердечно-сосудистой системы (ССС) человека, поэтому актуальным является исследование широтных особенностей подобного воздействия. Для решения этой задачи был проведен синхронный мониторинг состояния ССС добровольцев одновременно в высоких (44 чел., п. Тикси и г. Якутск) и средних (31 чел., г. Саратов) широтах в течение 60 дней в весенний период (март-апрель), когда происходят наиболее выраженные по количеству и амплитуде изменения геомагнитной возмущенности Земли. Ежедневно в покое оценивалась ЭКГ в фазовом пространстве с определением коэффициента симметрии зубца Т (КСТ), отражающего процессы реполяризации миокарда желудочков, с помощью экспресс-кардиографа «Фазаграф». Геомагнитная активность оценивалась по показателю глобальной геомагнитной возмущенности - Кр-индексу - ежедневно в течение всего периода наблюдения. Оценивались индивидуальные и групповые эффекты синхронизации «КСТ-Кр». Индивидуальный эффект синхронизации для обследуемого (КСТ-Кр) отражает совпадение между максимумами КСТ ЭКГ и Кр-индекса ГМВ при анализе динамических рядов данных для каждого добровольца в течение 60-дневного мониторингового наблюдения. При индивидуальной синхронизации $\geq 66,7\%$ доброволец зачислялся в группу чувствительных к ГМВ в каждом обследуемом регионе. Далее определялся групповой эффект синхронизации, который показывал количество чувствительных добровольцев в % соотношении к общей численности группы своего региона.

В высоких широтах групповой эффект чувствительности ССС к ГМВ составил 38,6%: из 44 добровольцев синхронизацию КСТ-Кр более чем в 66,7% показали 17 чел. В средних широтах групповой эффект чувствительности к ГМВ составил 61,3% (синхронизация КСТ-Кр более чем в 66,7% выявлена у 13 чел. из 31 обследуемого). Известно, что в авроральных широтах (п. Тикси) на высоте 100 км протекают мощные электрические токи (авроральные электроджеты), достигающие величины миллионов ампер. Вероятно, в этих условиях миокард адаптируется и перестает реагировать на слабые геомагнитные возмущения, сохраняя чувствительность только к наиболее мощным.

Анализ реакции чувствительных к ГМВ добровольцев в высоких и средних широтах, показал, что синхронизации КСТ-Кр в обеих группах наблюдения составила 71%: добровольцы отреагировали повышением КСТ в день геомагнитного возмущения в 5 случаях из 7. В то же время структура реакций КСТ-Кр в группах высоких и средних широт отличалась. Только на 43% ГМВ добровольцы различных широт, разнесенных более чем на 5000 км, реагировали одинаково – повышением КСТ в день ГМВ. В остальных случаях (57%) ГМВ вызывали реакцию ССС в каком-то одном регионе, а в другом регионе на те же ГМВ реакции не выявлено. Отмечено также, что в высоких широтах, в отличие от средних, в 28,6% наблюдается феномен «запаздывания» реакции КСТ на ГМВ на 1-2 дня. При этом на те же ГМВ добровольцы средних широт реагируют увеличением КСТ без опоздания, в тот же день.

Полученные данные свидетельствуют, что явление чувствительности ССС к ГМВ, характеризующееся изменением процессов реполяризации миокарда желудочков, свойственно организму человека независимо от региона проживания. Вместе с тем добровольцы в высоких и средних широтах реагируют однотипно только на 43% геомагнитных возмущений. Остальные 57% геомагнитных возмущений характеризуются «региональной чувствительностью» и могут у добровольцев различных регионов вообще не вызывать изменений со стороны миокарда, либо эти изменения могут быть «отсрочены» на 1-2 дня. Результаты исследования показывают необходимость определения региональных характеристик биоэффективности геомагнитных возмущений в целях превентивной кардиологии.

Работа выполнена при частичном финансировании гранта РФФИ №18-415-140002.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОВРЕЖДЕНИЙ МОЛЕКУЛЫ ДНК, ВЫЗВАННЫХ ОБЛУЧЕНИЕМ ПРОТОНАМИ И ГАММА-КВАНТАМИ

INVESTIGATION OF DNA DAMAGE INDUCED BY PROTON AND GAMMA RADIATION

Котб О.М.^{1,2}, Пастон С.В.¹, Гулевич Е.П.³, Брожек Д.С.³, Карлин Д.Л.³, Пак Ф.А.³, Халиков А.И.³

¹Санкт-Петербургский государственный университет, физический факультет, кафедра молекулярной биофизики и физики полимеров, Санкт-Петербург, svpaston@list.ru

²Department of Physics, Faculty of Science, Zagazig University, Sharkia Gov Zagazig, Egypt

³ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Санкт-Петербург

Ионизирующие излучения вызывают повреждения в структуре ДНК, которые запускают каскад биологических процессов в клетке. Результатом может быть гибель или злокачественное перерождение клетки. Поэтому изучение радиационных повреждений ДНК разными видами излучений является одной из важнейших задач биофизики.

В данной работе исследуются нарушения в структуре ДНК, вызванные облучением гамма-квантами (⁶⁰Со, используемые в работе интенсивности $I_1=41.2$ Гр/мин и $I_2=119$ Гр/мин, установка Исследователь ФГБУ ПИЯФ им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт») и протонами ($E=1000$ МэВ, интенсивность 4 Гр/мин, там же, Комплекс лучевой терапии на пролет на базе ускорителя СЦ-1000). Взаимодействие этих ионизирующих частиц с веществом существенно различаются: фотоны вызывают ионизации атомов в результате фотоэффекта и комптоновского эффекта. Протоны высоких энергий вызывают множественные ионизации и возбуждение атомов вещества за счет электромагнитного взаимодействия с электронными оболочками. Облучение протонами разных энергий и гамма-квантами в настоящее время широко применяется в радиационной терапии опухолей [1,2]. Кроме того, протоны высоких энергий – основная составляющая космических лучей, действию которых подвергаются космонавты [3].

Основные типы радиационных повреждений ДНК – одно- и двунитевые разрывы, отрыв, модификация и разрушение азотистых оснований, нарушение вторичной структуры ДНК [4]. Мы использовали спектральные методы (спектроскопия УФ поглощения, метод Спирина, спектрофотометрическое плавление ДНК), которые позволяют оценить количество разрушенных азотистых оснований и повреждение вторичной структуры ДНК [5]. Обнаружено, что увеличение ионной силы раствора приводит к заметному сокращению исследуемых видов повреждений. При этом равные дозы протонного и гамма-облучения вызывают сравнимые нарушения в структуре ДНК. Для оценки вклада прямого и косвенного действия излучений варьировали концентрацию ДНК (мишеней) в облучаемом растворе. При облучении фотонами рост концентрации ДНК в облучаемом растворе приводил к снижению степени повреждения ДНК; при варьировании интенсивности излучения с сохранением постоянной поглощенной дозы наблюдаемые структурные повреждения оставались неизменными. Эти эффекты свидетельствуют о преимущественно косвенном механизме повреждений ДНК гамма-излучением. В случае протонного облучения зависимость степени повреждения ДНК от ее концентрации в облучаемом растворе немонотонная, что может объясняться заметным вкладом прямого действия радиации. Увеличение концентрации мишеней также приводит к уширению температурного интервала плавления ДНК, облученной протонами, что свидетельствует о возрастании гетерогенности в структуре ДНК.

Часть исследований проведена с использованием оборудования ресурсных центров Научного парка СПбГУ "Методы анализа состава вещества", "Оптические и лазерные методы исследования вещества".

1. Yildizhan H., et al. Treatment strategies in cancer from past to present. In: Drug Targeting and Stimuli Sensitive Drug Delivery Systems, 2018 Elsevier
2. Abrosimov N.K., Gavrikov Yu.A., Ivanov E.M., et al. 1000 MeV proton beam therapy facility at Petersburg Nuclear Physics Institute synchrocyclotron // Journal of Physics: Conference Series, 2006, V. 41, № 1, P. 424–432.
3. Gaisser T.K. Spectrum of cosmic-ray nucleons, kaon production, and the atmospheric muon charge ratio // Astroparticle Physics, 2012, V. 35, P. 801–806.
4. Кудряшов Ю.Б. Радиационная биофизика (ионизирующие излучения). М.: Физматлит, 2004. 443 стр.
5. Tankovskaia S.A., Kotb O.M., Dommes O.A., Paston S.V. Application of spectral methods for studying DNA damage induced by gamma-radiation // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2018, V. 200, P. 85–92.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ДИНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА НА ПАРАМЕТРЫ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ ПРИ ОЖоговой ТРАВМЕ

EXPERIMENTAL EVALUATION OF THE EFFECTS OF EXOGENOUS NITRIC OXIDE ON MICROCIRCULATION PARAMETERS IN BURN INJURY

Перетягин П.В.¹, Соловьева А.Г.¹, Бояринов Г.А.¹, Дерюгина А.В.², Дударь А.И.²

¹ ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России

² ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им.Н.И. Лобачевского»

Введение. Известно, что микроциркуляторное русло является той частью сердечно-сосудистой системы, в которой в конечном итоге реализуется ее основная функция - обеспечение транскапиллярного обмена и реакции на воздействие факторов внешней и внутренней среды [1, 2], в том числе при травматических повреждениях, таких как ожоговая рана. При подобных травмах повреждение микрососудов кожи, приводит к развитию ишемии. Ожоговая ишемия тканей предшествует некрозу. В настоящее время поиски эффективных методов лечения ожоговой ишемии кожи продолжаются. Благодаря изучению структурных основ путей микроциркуляции разработано представление о микрососудистом модуле как анатомической основе структурно-функциональных элементов органов и тканей. В результате многолетних исследований было выяснено, что в организме присутствует соединение, способное ускорять заживление ран с образованием новой ткани, а также выступать в роли стимулирующего агента при расширении просвета сосудов, их ремоделировании и образовании новых. Таким соединением является монооксид азота [3, 4]. В свете подобных исследований чрезвычайно важным представляется изучение анатомо-физиологических особенностей путей микроциркуляции крови в ожоговой ране, в частности в системе пиальных сосудов области парабиоза на фоне применения экзогенных источников оксида азота на примере динитрозильного комплекса железа.

Материалы и методы. Эксперимент проведен на 30 крысах-самцах линии Wistar весом 200 – 250г. Животные разделены на 3 равные по численности группы. 1 группа – здоровые интактные животные, 2 группа – контрольные животные с комбинированной термической травмой (КТО+ТИТ) и ежедневным внутрибрюшинным введением 1 мл. физиологического раствора, 3 группа – основная группа с комбинированным ожогом, животным в которой в течении 10 дней внутрибрюшинно вводили 10% раствор ДНКЖ (1 мл., 0,3 ммоль/л). Для оценки микроциркуляции использовали метод лазерной доплеровской флоуметрии в группах с травмой на 3 и 10 сутки, областью исследования явилась пограничная зона термической травмы. Оценивался показатель микроциркуляции (ПМ), интегральный показатель, характеризующий уровень перфузии ткани. Дополнительно был исследован показатель шунтирования (ПШ), параметр информирующий о соотношении нутритивного и шунтового кровотока.

Результаты. Уровень перфузии пограничной области ожога в контрольной группе на 3-и сутки был выше интактных значений на 80%, а к 10-м суткам снизился уже на 20% ниже уровня здоровых животных (рис.1.). В основной группе с лечением на 3-и сутки наблюдался незначительный прирост (на 10%) ПМ по отношению к интактным значениям, и сниженный (на 39%) уровень показателя относительно контрольной группы. На 10-е сутки значения показателя микроциркуляции основной группы по отношению к интактной группе животных не претерпели кардинальных изменений, однако были выше контрольных значений на 34%. Показатель шунтирования контрольной группы относительно интактных значений на 3-и сутки был ниже на 27%, а на 10-е сутки выше на 20% (рис.4.). Уровень ПШ основной группы был зарегистрирован более высоким, чем в интактной (на 3-и сутки - на 66%, на 10-е сутки – на 62%) и контрольной (на 3-и сутки – на 54%, на 10-е сутки – на 68%) группах.

Обсуждение и выводы. Отмечено, что микрогемодинамика пограничной области ожога контрольной группы в период шока резко повышена, и снижается ниже интактного уровня к 10-м суткам. Возможно, это связано с воспалительными процессами зоны парабиоза. Для основной группы с применением ДНКЖ характерно более стабильное состояние на уровне чуть выше интактного. Установлено, что показатель шунтирования в контрольной группе происходит смена режимов кровотока с центрального на коллатеральный, а в основной группе преобладает центральный микрокровоток. В целом, применение экзогенного оксида азота при термической травме позволяет с ранних этапов оптимизировать микрокровоток и сохранить эффект при дальнейшем применении.

1. Крупаткин А.И., Сидоров В.В. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно - тканевых систем: Колебания, информация, нелинейность (Руководство для врачей). М.: Книжный дом "ЛИБРОКОМ", 2013.-496с.
2. Мач Э.С. Значение функциональных тестов в оценке нарушения микроциркуляции при некоторых заболеваниях // Применение лазерной доплеровской флоуметрии в медицинской практике. Материалы II Всероссийского симпозиума.-М., - 1998.- С. 14-16.
3. Кузнецова В.Л., Соловьева А.Г. Оксид азота: свойства, биологическая роль, механизмы действия // Современные проблемы науки и образования. 2015. №4. С. 462.
4. Ванин А.Ф. Оксид азота и его обнаружение в биосистемах методом электронного парамагнитного резонанса // Успехи физических наук. 2000. Т. 170. №4. С. 455-458.

СЛОИСТО-ПЕРИОДИЧЕСКИЕ БИОСТРУКТУРЫ В РЕГЕНЕРАТИВНЫХ ПРОЦЕССАХ LAYERED PERIODIC BIOSTRUCTURES IN THE REGENERATIVE PROCESSES

Петраш В.В., Никитюк И.Е.¹, Кубасов В.А.²

МЦ «Сенсормед», Санкт-Петербург, E-mail: vlapetrash@yandex.ru

¹Научно-исследовательский детский ортопедический институт им. Г.И. Турнера МЗ РФ, Санкт-Петербург

²НИИ электрофизической аппаратуры им. Д.В. Ефремова, Санкт-Петербург

Интерес к изучению процессов на поверхностях и границах раздела соприкасающихся фаз, плёночных и слоистых структур, стимулировал исследования биологических фотонно-кристаллических объектов, в частности, рогового слоя эпидермиса [1]. Внимание авторов сконцентрировано на изучении биоструктур эпидермальной природы: ногтевые пластины, чешуя рыб, панцирь черепах и др.

В биологической классификации эпидермис рассматривают как наружный слой кожи, выполняющий, в основном, барьерную функцию, обеспечивающую защиту организма от внешних воздействий: тепловых, механических, ультрафиолетового излучения и др. Самый верхний – роговой слой эпидермиса, как правило, не считают самостоятельной биологической субстанцией, представляя его омертвевшей частью кожного покрова, лишённой живых клеток.

Авторами предложен принципиально новый подход к описанию функций эпидермиса. Эпидермис, включая роговой слой, рассматривается не как пассивная граница раздела внешней среды и биологического объекта, а как активная преобразующая среда. В работах авторов представлены результаты систематических исследований микроструктуры, физических параметров, сенсорных и преобразующих свойств различных образцов рогового слоя эпидермиса. Показана чувствительность сенсоров на его основе к углеводородным соединениям, форшокам (предвестникам) землетрясений, патологиям в организме животного и человека в прямой проекции зоны нарушений. Результаты исследований позволили авторам отнести роговой слой эпидермиса к биологическим фотонным кристаллам, так как в этой слоистой структуре периодически изменяется диэлектрическая проницаемость и показатель преломления, период которых сравним с длиной волны света.

Оптическая и электронная микроскопия позволила установить периодичность слоёв в эпидермисе на различных масштабах и определить данную структуру как фрактальную. В образцах изолированного эпидермиса (“серая плёнка” чешуй рыбы) выявлены астрацитоподобные образования со связями по типу “нейронной сети”, что позволяет предположить их участие в единой сенсорной системе рыб. Анализ поверхностного строения чешуй указывает на возможное присутствие оптических и акустических резонансов в механизмах информационного обеспечения объекта. На основе исследования чешуй рыбы впервые проведена физическая классификация данного типа эпидермиса, как открытой, находящуюся вдали от термодинамического равновесия системы, относящейся к полярным диэлектрикам и способной под действием нагрева или УФ-излучения к проявлению некоторых свойств, присущих полупроводникам.

Роговой слой эпидермиса относится к частично-кристаллическим биополимерам. Присутствие кристаллов меланина в сочетании со слоисто-периодической структурой создают оптимальные условия для оптической нелинейности. Прямым доказательством оптической нелинейности эпидермиса является результат по преобразованию массивом чешуи рыбы некогерентного УФ излучения в рентгеновскую область спектра. Экспериментально доказаны спектрально-селективные свойства эпидермиса, который можно рассматривать как биологический фильтр оптического излучения.

В аспекте регенеративной медицины слоисто-периодические биоструктуры (пластины чешуи рыбы), впервые были использованы в качестве покрытий глубоких и достаточно обширных ранений кожи. Выявлено их благоприятное влияние на регенерацию кожных покровов, особенностью которой является отсутствие воспалительных явлений в заживающей ране и высокое качество кожного регенерата. Также в эксперименте открыт эффект матричного гистогенеза соединительной ткани на автономном биогенном имплантате со слоистой периодической структурой. Сформированная на имплантате ткань обладала эластичностью, прозрачностью, выраженной упорядоченностью ориентации клеток и коллагеновых волокон, что отличало её от рубцовой ткани. Полученные экспериментальные результаты позволили заключить, что использование фотонных кристаллов в качестве матрицы для направленного гистогенеза тканей является перспективным для применения в регенеративной медицине. Также впервые изучена возможность сохранения жизнеспособности кожных эксплантатов под влиянием собственных излучений, отраженных от структур, имеющих слоистое периодическое строение. Эффект длительного сохранения жизнеспособности кожных эксплантатов при температуре человеческого тела в условиях полного нарушения их трофики может иметь перспективы клинического применения в трансплантологии.

Данные исследования могут представлять интерес для биологов, биофизиков, инженеров биотехнического профиля, фармацевтов, а также для врачей-исследователей, занимающихся экспресс-диагностикой заболеваний и разрабатывающих новые медицинские технологии регенерации тканей.

1. Кубасов В.А., Никитюк И.Е., Петраш В.В., Ворошилов (Штрупп) Б.М. Эпидермис — слоисто-периодическая биоструктура со свойствами фотонных кристаллов. М.: Эдитус, 2019. 236 с. doi:10.18720/SPBPU/2/z19-2

АНАЛИЗ СУТОЧНОГО ЭКГ МОНИТОРИНГА: КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ВАРИАбельНОСТИ МАГНИТНОГО ПОЛЯ ЗЕМЛИ НА СЕРДЕЧНОСОСУДИСТУЮ СИСТЕМУ ЧЕЛОВЕКА

ANALYSIS OF 24-HOUR ECG MONITORING: MARKERS OF THE EARTH'S MAGNETIC FIELD IMPACT ON HUMAN CARDIOVASCULAR SYSTEM

Пищальников Р.Ю., Саримов Р.М., Васин А.Л.¹, Гурфинкель Ю.И.^{2,3}, Сасонко М.Л.³, Матвеева Т.А., Бинги В.Н.

Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, rpishchal@kapella.gpi.ru

¹Институт медико-биологических проблем, РАН, Москва

²Институт космических исследований, РАН, Москва

³Медицинский научно-образовательный центр, МГУ, Москва

Воздействие окружающей среды на организм человека вызывает ответные адаптивные реакции, позволяющие приспособляться к широкому диапазону варибельности таких внешних факторов как температура, влажность, давление, естественные магнитные поля. Вегетативная нервная система играет ключевую роль в поддержании стабильной работы внутренних органов и сохранении внутреннего равновесия при изменении внешних условий. Один из способов оценки адаптивных особенностей организма – мониторинг состояния сердечно-сосудистой системы, которая напрямую связана с симпатическими и парасимпатическими отделами вегетативной нервной системы.

Изменение солнечной активности способно вызывать интенсивные возмущения напряжённости геомагнитного поля. Множество исследований показывают, что вариации геомагнитного поля вызывают у некоторых людей биологические эффекты, в основном связанные с работой сердечно-сосудистой системы. Регистрация изменений сердечной активности может служить маркером чувствительности человека к солнечной активности. Так как магнитные бури могут продолжаться от нескольких часов до суток, то суточная регистрация сигналов ЭКГ и привлечение корреляционного анализа, позволят оценить влияние варибельности магнитного поля на длительность RR интервалов. Главная сложность при анализе геомагнитной активности состоит в том, что динамика изменений магнитного поля уникальна для каждой бури, к тому же в городских условиях на геомагнитную активность накладывается магнитный шум вызванный транспортом, ЛЭП и другими источниками. Этот факт может приводить к тому, что у одних и тех же испытуемых разные магнитные бури скорее всего будут вызывать разные индивидуальные реакции. Для решения этой проблемы нами была создана установка, позволяющая создавать в объёме нескольких кубометров магнитные поля по интенсивности сравнимые вариациями геомагнитного поля [1-3].

Восемь испытуемых участвовали в экспериментах с 22 часовой экспозицией магнитного поля в трёх режимах воспроизведения. Один из режимов состоял из повторенной 4 раза записи магнитной бури (к индекс 6); два других воспроизводили постоянную интенсивность равную 49 и 55 μT соответственно. Помимо прочего, во время экспозиции замерялась скорость капиллярного кровотока и кровяное давление. Также фиксировались изменения атмосферного давления, влажности и температуры. Для обработки результатов временных рядов RR интервалов вычислялся спектр мощности, который разбивался на три диапазона: очень низкие (VLF), низкие (LF), и высокие (HF) частоты. Было показано, что автокорреляционные функции для высокочастотной части спектра мощности отличаются от автокорреляций белого шума и для некоторых испытуемых зависят от МП. Это позволяет использовать автокорреляционные функции HF диапазона для исследования влияния МП на сердечно-сосудистую систему человека. У некоторых испытуемых наблюдались индивидуальные реакции в некоторых режимах экспозиции МП, проявляющиеся в особенностях скорости капиллярного кровотока.

1. R.Y. Pishchalnikov, Y.I. Gurfinkel, R.M. Sarimov, A.L. Vasin, M.L. Sasonko, T.A. Matveeva, V.N. Binhi, M.V. Baranov, Cardiovascular response as a marker of environment stress caused by variations in geomagnetic field and local weather // Biomedical signal processing and control, 2019, V. 51, P. 401-410
2. Yu.I. Gurfinkel, A.L. Vasin, R.Yu. Pishchalnikov, R.M. Sarimov, M.L. Sasonko, T.A. Matveeva, Geomagnetic storm under laboratory conditions: randomized experiment // International journal of biometeorology, 2018, V. 62(4), P. 501-512
3. Yu.I. Gurfinkel, O.Y. At'kov, A.L. Vasin, T.K. Breus, M.L. Sasonko, R.Yu. Pishchalnikov, Effect of zero magnetic field on cardiovascular system and microcirculation // Life Sciences in Space Research, 2016, V. 8, P. 1-7

ФАКТОРЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ НАЛИЧИЕ ПОБОЧНЫХ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ЭФФЕКТОВ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ФОТОТЕРАПИИ ГИПЕРБИЛИРУБИНЕМИИ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

FACTORS DETERMINING THE DEVELOPMENT OF SIDE EFFECTS IN PHOTOTHERAPY FOR NEONATAL HYPERBILIRUBINEMIA

*Плавский В.Ю., Плавская Л.Г., Ананич Т.С., Катаркевич В.М., Крученюк Ю.В.,
Микулич А.В., Леусенко И.А., Третьякова А.И., Дудинова О.Н.*

Институт физики НАН Беларуси, г. Минск, E-mail: v.plavskii@ifanbel.bas-net.by

Развитие синдрома гипербилирубинемии (желтухи) у новорожденных детей обусловлено избыточным накоплением в крови, а также в подкожном слое желчного пигмента – Z,Z-билирубина IX α , придающего коже характерный золотисто-желтый цвет. Основным и наиболее распространенным способом лечения неонатальной желтухи является фототерапия, заключающаяся в воздействии на поверхность тела новорожденного светом синей или сине-зеленой областей спектра, соответствующих полосе поглощения билирубина. Определяющую роль в снижении уровня билирубина в организме при проведении фототерапии играют процессы светоиндуцированной изомеризации пигмента – образование его конфигурационных и структурных изомеров. Указанные изомеры, будучи более гидрофильными соединениями, чем нативный билирубин, характеризуются меньшей токсичностью и повышенной скоростью экскреции.

В последние 10 лет в новых разработках фототерапевтической аппаратуры для лечения желтухи наблюдается активная замена ламповых источников света на светодиодные. Казалось бы, что переход к светодиодным источникам (в спектре испускания которых отсутствует УФ– и ИК–компоненты) должен исключить проявление побочных эффектов, регистрируемых в ходе светолечения. Однако выполненные недавно исследования показали, что проведение фототерапии у новорожденных детей с предельно низкой массой тела (менее 750 г) усугубляет состояние младенца. Следовательно, и выяснение причин, определяющих наличие побочных эффектов при реализации фототерапевтических технологий, весьма актуально.

Все это послужило причиной для инициирования исследований, направленных на изучение сенсibiliзирующего действия билирубина в отношении клеток крови (эритроциты) и клеток ткани в культуре в условиях *in vitro*. Выполненные исследования позволили сделать следующие выводы.

1. Билирубин, проникая в митохондрии клеток ткани, при воздействии излучения лазерных и светодиодных источников в диапазоне 1–25 Дж/см² с длиной волны, соответствующей спектру поглощения пигмента, способен оказывать повреждающее действие на клетки почки африканской зеленой марьшички BGM, находящиеся в логарифмической стадии роста. В качестве критерия биологического действия оптического излучения выбран калориметрический МТТ–тест, позволяющий спектрофотометрически оценить выживаемость клеток в результате воздействия различных факторов. Показано, что фотоинактивация клеток при их сенсibiliзации билирубином носит фотохимическую (а не фототермическую) природу, и синглетный кислород играет определяющую роль в исследуемых процессах. В отсутствие фотосенсibiliзатора, а также при инкубации клеток с билирубином без светового воздействия эффект слабо выражен. Установлено, что в качестве фотосенсibiliзирующего агента в клетках может выступать не только билирубин, но и его фотопродукты, такие как люмирубин, характеризующиеся спектром поглощения, отличающимся от исходного билирубина, и обладающие более высоким квантовым выходом генерации синглетного кислорода. Вместе с тем дозовая зависимость потери жизнеспособности клеток, сенсibiliзированных билирубином, описывается экспоненциальной зависимостью (корреляционный коэффициент $R^2 = 0,99$). Отличительная особенность дозовых кривых выживаемости клеток – близкие эффекты при воздействии светодиодного источника с длиной волны 465 нм (практически соответствует максимуму спектра поглощения билирубина в комплексе с альбумином) и 520 нм (приходится на длинноволновый склон полосы поглощения). Показано, что при близких длинах волн лазерного излучения ($\Delta\lambda \approx 0,01$ нм) и излучения светодиодного источника ($\Delta\lambda \approx 24$ нм) фототоксический эффект в отношении клеток, сенсibiliзированных билирубином, более выражен при воздействии монохроматического излучения. Эти данные также свидетельствуют в пользу вклада фотопродуктов билирубина в фототоксические эффекты.

2. Билирубин, связываясь с мембранами эритроцитов, сенсibiliзирует их повреждение, что регистрируется по выходу во внешнюю среду ионов калия, а также гемоглобина. Повреждающее действие излучения светодиодных источников с длиной волны 465 нм и 512 нм на эритроциты, окрашенные билирубином, практически одинаково, что также свидетельствует в пользу вклада фотопродуктов билирубина в деструктивные процессы в мембранах эритроцитов.

3. Таким образом, наличие повреждающего действия в отношении клеток крови и клеток ткани может быть одной из причин побочных проявлений фототерапии гипербилирубинемии новорожденных детей, особенно при ее проведении у младенцев с предельно низкой массой тела. Применение современных типов диодных лазеров сине-зеленой области спектра вместо широко-используемых светодиодных источников позволяет создать фототерапевтическую установку, обеспечивающую высокую эффективность снижения уровня билирубина у детей с синдромом гипербилирубинемии при минимальных побочных эффектах, обусловленных сенсibiliзирующим действием фотопродуктов билирубина.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ФЛАВОНОИДСОДЕРЖАЩИХ ЭКСТРАКТОВ *SEDUM MAXIMUM* (L.) HOFFM. И *SEDUM TELEPHIUM* L.: ЭКСПЕРИМЕНТ И МОЛЕКУЛЯРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ

COMPARATIVE ANALYSIS OF *SEDUM MAXIMUM* (L.) HOFFM. AND *SEDUM TELEPHIUM* L. FLAVONOID EXTRACTS ANTIOXIDANT ACTIVITY: EXPERIMENT AND MOLECULAR SIMULATION

Пластун В.О.¹, Бокарев А.Н.², Пластун И.Л.², Дурнова Н.А.¹

¹Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского, Саратов

²Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А., Саратов

В настоящее время интерес исследователей вызывают комплексные извлечения из лекарственных растений, зачастую имеющие значительно более выраженное терапевтическое действие по сравнению с индивидуальными веществами. Экстракты очитка большого (*Sedum maximum* (L.) Hoffm.) и очитка пурпурного (*Sedum telephium* L.) содержат большое количество флавоноидов, в значительной степени обуславливающих их биологическую активность. Флавоноиды представляют собой полифенолы природного происхождения, обладающие способностью ингибировать прооксидантные ферменты, а также проявлять антирадикальный и хелатирующий эффекты. Для некоторых флавоноидсодержащих экстрактов установлена способность влиять на процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ).

Целью работы является сравнительный анализ влияния флавоноидсодержащих экстрактов *S. maximum* и *S. telephium* на уровень промежуточных продуктов ПОЛ в сыворотке крови беспородных белых крыс при различных условиях, а также исследование вклада отдельных компонент экстрактов в антиоксидантную активность на основе компьютерного моделирования межмолекулярного взаимодействия этих компонент.

Эксперимент выполнялся на 90 самцах белых беспородных крыс массой 180,0±20,0 г. Оксидативный стресс моделировали путем введения экспериментальным животным 1%-ого раствора диоксидина (ДО) в дозе 100 мг/мл. Контрольные группы включали интактную, группу позитивного контроля, получавшую ДО в дозировке 100 мг/кг; группу негативного контроля, получавшую воду в дозировке 100 мг/кг. Экспериментальные группы получали водные растворы спиртового экстракта *S. maximum* или *S. telephium* в дозах 100, 200 и 300 мг/кг в чистом виде, либо в сочетании с ДО. Все растворы вводились внутривентриально. Состояние активности процессов свободнорадикального окисления липидов оценивали по содержанию в сыворотке крови экспериментальных крыс продукта ПОЛ – малонового диальдегида (МДА). Уровень МДА определяли спектрофотометрически.

Установлено снижение содержания МДА при введении экспериментальным животным водных растворов спиртовых экстрактов *S. maximum* и *S. telephium* как на фоне ДО-индуцированного оксидативного стресса, так и при индивидуальном введении экстрактов. Антиоксидантное действие экстракта *S. maximum* проявлялось только в дозе 200 мг/кг и более и было намного ниже в количественном выражении, чем действие экстракта *S. telephium*, проявляющееся во всех исследованных дозах. В обоих случаях эффект носил дозозависимый характер. Максимальный эффект достигался при введении экстрактов в дозе 300 мг/мл. В целом экстракт *S. telephium* значительно эффективнее снижал уровень МДА в крови экспериментальных животных, причём было установлено, что этот экстракт обладает не только способностью купировать негативное воздействие прооксиданта, но также снижает фоновый уровень МДА, что говорит о его высоких адаптогенных свойствах.

В связи с явным различием уровня антиоксидантной активности экстрактов *S. maximum* и *S. telephium* был проанализирован их состав. Поскольку *S. maximum* и *S. telephium* - близкородственные виды рода *Sedum*, то их химический состав в целом сходен и включает флавоноиды, кумарины, органические кислоты, дубильные вещества, углеводы и другие компоненты. Наиболее существенным отличием при оценке влияния этих экстрактов на липопероксидацию является то, что *S. telephium* содержит галловую кислоту (ГК), относящуюся к группе фенолкарбоновых кислот, в то время как в *S. maximum* это вещество не обнаружено.

Для выяснения роли ГК в процессах выведения продуктов ПОЛ было проведено компьютерное моделирование межмолекулярного взаимодействия основных веществ, участвующих в этом процессе: кверцетин, как основного флавоноида, присутствующего в изучаемых растительных экстрактах, МДА и ГК. Возможности образования устойчивых соединений этих веществ за счёт установления водородных связей были исследованы при помощи анализа молекулярной структуры, ИК спектров и параметров водородных связей веществ и их комплексов. Моделирование осуществлялось на основе метода теории функционала плотности (ТФП) с использованием функционала B3LYP и базиса 6-31G(d). Все расчеты проводились при помощи программного комплекса Gaussian 09, широко используемого в задачах квантовой химии и физики.

Как показали расчёты, кверцетин практически не связывается с МДА, в то время как при взаимодействии ГК с МДА устанавливаются водородные связи средней силы, обуславливающие образование достаточно стабильного молекулярного комплекса. Ещё более сильные и многочисленные связи устанавливаются при взаимодействии ГК с кверцетином, что говорит о том, что ГК в процессе межмолекулярного взаимодействия выступает в качестве своеобразного катализатора.

Таким образом, антиоксидантная активность экстракта *S. telephium* значительно превышает активность *S. maximum* за счёт присутствия в составе *S. telephium* ГК, благодаря чему этот экстракт не только препятствует окислительному разрушению клеточных мембран, но и связывает его продукты, которые могут изменять свойства белков и приводить к гибели клеток.

КОМПРЕССИОННАЯ ОПТИЧЕСКАЯ КОГЕРЕНТНАЯ ЭЛАСТОГРАФИЯ ДЛЯ ЗАДАЧ ОЦЕНКИ БИОМЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ОПУХОЛИ В ХОДЕ ХИМИОТЕРАПИИ**COMPRESSION OPTICAL COHERENCE ELASTOGRAPHY FOR NON-INVASIVE EVALUATION OF BIOMECHANICAL PROPERTIES OF TUMOR DURING CHEMOTHERAPY**

*Плеханов А.А.¹, Сироткина М.А.¹, Губарькова Е.В.¹, Советский А.А.², Зайцев В.Ю.², Матвеев А.Л.²,
Матвеев Л.А.², Кузнецов С.С.¹ и Гладкова Н.Д.¹*

¹ ФГБОУ ВО ПИМУ Минздрава России, г. Нижний Новгород, Россия

² ИПФ РАН, г. Нижний Новгород, Россия

Биомеханические свойства мягкой тканей обусловлены ее морфологической структурой. Одной из разновидностей биомеханических свойств тканей является жёсткость – способность ткани противодействовать внешней нагрузке. Так, опухоль, состоящая из плотно расположенных друг к другу опухолевых клеток, хорошо сопротивляется внешним нагрузкам, следовательно, обладает высокими значениями жесткости. На этом принципе основано пальпаторное исследование мягких тканей, например, молочной железы. Эластография является методом визуализации распределения жёсткости в биологических мягких тканях. Данный метод способен различать участки высоких и низких значений жёсткости в ткани, что может служить дополнительным экспресс-методом получения информации о морфологической структуре биологических тканей.

Последнее десятилетие данный метод используется в клинической диагностической практике в виде УЗИ эластографии (соноэластографии) и МРТ эластографии. Данные диагностические методы с успехом дифференцируют в тканях человека опухолевые очаги с высокими значениями жёсткости, характерные для злокачественных новообразований. Под воздействием химиотерапии появляются участки с необратимыми изменениями опухолевых клеток, нарушаются межклеточные связи, опухолевые клетки гибнут с образованием участков некроза опухоли. Данные участки характеризуются низкими значениями жёсткости. Используемые в клинической практике диагностические методы изучения жёсткости ткани обладают разрешением от 100 до 3000 мкм, УЗИ эластография обладает глубиной сканирования 4-5 мм, МРТ эластография не ограничена в глубине сканирования. Активно развивающаяся компрессионная оптическая когерентная эластография (ОКЭ) уступает представленным выше методам в глубине сканирования, однако имеет большой потенциал интраоперационного использования, ввиду высокого разрешения – до 10 мкм [1].

Для визуализации ответа опухоли на химиотерапию в нашей работе предложен метод компрессионной ОКЭ. Данный экспресс-метод визуализации позволяет прижизненно на основе изучения жёсткости ткани в режиме реального времени на микроуровне детектировать то или иное морфологическое изменение или состояние опухолевой ткани. Суть метода компрессионного варианта ОКЭ заключается в оценке градиента межкадровых вариаций фазы ОКТ-сигнала попарно сравниваемых изображений ткани в процессе ее деформирования. Для обработки информации, содержащейся в сигнале при съёмке в режиме ОКЭ, применен новый улучшенный (гибридный) вариант фазового подхода к отслеживанию изменений положений рассеивателей [2] и робастный (устойчивый к движению) векторный метод оценивания фазовых градиентов [3]. Использование калибровочного силиконового слоя с известной жесткостью на поверхности ткани позволило вычислять абсолютные значения жесткости ткани (модуль упругости Юнга) по отношению величины деформации силикона к деформации ткани.

В работе исследована возможность использования компрессионной ОКЭ для оценки биомеханических свойств опухолей в ходе химиотерапии. В качестве объекта исследования было выбрано две мышинные опухолевые модели – рак молочной железы 4Т1 и колоректальный рак СТ26, трансплантированные на поверхность уха. Это было сделано для удобства проведения *in vivo* ОКЭ мониторинга. Терапия производилась антиангиогенным препаратом бевацизумабом и цитотоксическим цисплатином. Применение двух препаратов с разными механизмами действия позволило выявить и изучить различные морфологические феномены, такие как: некроз опухолевой ткани, необратимые изменения опухолевых клеток, отёк опухолевой ткани и жизнеспособные опухолевые клетки. Определены их абсолютные значения и диапазоны жёсткости. Методом ОКЭ продемонстрирован ответ опухоли на химиопрепараты разного механизма действия. Результаты подтверждены гистологическим исследованием. Также, методом ОКЭ определены абсолютные значения жёсткости микроструктуры опухолей на послеоперационном материале, полученном от пациентов с раком молочной железы и колоректальным раком. Обнаружены и определены абсолютные значения жёсткости морфологических феноменов, характеризующих эффективность противоопухолевой терапии, на материале послеоперационных образцов опухолей пациентов с РМЖ, которым проведен курс неoadьювантной химиотерапии.

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 18-75-10068.

1. Kennedy B.F. et al. The emergence of optical elastography in biomedicine // *Nat Photonics*, 2017, v.11:215–221
2. Zaitsev V.Y. et al. Hybrid method of strain estimation in optical coherence elastography using combined sub-wavelength phase measurements and supra-pixel displacement tracking // *J Biophotonics*, 2016, 9(5): 499–509
3. Zaitsev V.Y. et al. Optimized phase gradient measurements and phase-amplitude interplay in optical coherence elastography // *J Biomed Opt* 2016; 21(11):116005

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФАКТОРА XIII С СУБПОПУЛЯЦИЯМИ АКТИВИРОВАННЫХ ТРОМБОЦИТОВ: РОЛЬ ИНТЕГРИНА $\alpha_{IIb}\beta_3$ И ФИБРИНОГЕНА

BINDING OF COAGULATION FACTOR XIII ZYMOGEN TO ACTIVATED PLATELET SUBPOPULATIONS: ROLES OF INTEGRIN $\alpha_{IIb}\beta_3$ AND FIBRINOGEN

Подоплелова Н.А.^{1,2}, Котова Я.Н.^{1,2}, Обыденный С.И.^{1,2}, Костанова Е.А.³, Рябых А.А.², Демьянова А.С.¹, Бирюкова М.И.³, Розенфельд М.А.³, Соколов А.В.⁴, Кумскова М.А.⁵, Атауллаханов Ф.И.^{1,2,6}, Пантелеев М.А.^{1,2,6,7}

¹Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук, Российская Федерация, Москва

²Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российская Федерация, Москва

³Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, Российская Федерация, Москва

⁴Институт экспериментальной медицины, Российская Федерация, Санкт-Петербург

⁵Национальный медицинский исследовательский центр гематологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российская Федерация, Москва

⁶Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Российская Федерация, Москва

⁷Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Российская Федерация, Долгопрудный

Фактор свертывания XIII представляет собой плазменный β -глобулин, циркулирующий в кровотоке в концентрации 14-28 мкг/мл (~88 нМ). Кроме того фактор XIII присутствует в цитоплазме тромбоцитов и секретируется из них при активации. После частичного протеолиза тромбином образуется активная форма – трансклутаминаза фактор XIIIa. Основной ролью фактора XIIIa является образование сшивок между молекулами фибрина, что приводит к стабилизации сгустка и препятствует его лизису фибринолитическими ферментами. Как было показано ранее при сильной активации физиологическими агонистами тромбоциты разделяются на две субпопуляции сильно отличающиеся по своим свойствам. Так, например, было показано, что факторы свертывания преимущественно связываются с одной субпопуляцией тромбоцитов, экспонирующей на внешнем слое мембраны фосфатидилсерин. Данные тромбоциты представляют собой шарообразные клетки радиусом около 2 мкм с небольшим уплотнением радиусом около 1 мкм, в которой содержится большое количество адгезионных белков

Целью данной работы была характеристика взаимодействия фактора XIII с субпопуляциями активированных тромбоцитов.

Для данной работы были использованы тромбоциты, выделенные из цельной крови здоровых доноров. В качестве активаторов тромбоцитов были использованы тромбин (100 нМ), АДФ (100 мкМ) или коллаген-подобный пептид (20 мкг/мл). Связывание флуоресцентно-меченного фактора XIII с активированными тромбоцитами оценивали с помощью проточных цитометров Accuri C6; Acea NovoCyte 3000, а также с помощью конфокального микроскопа Zeiss Axio Observer Z1.

В ходе работы было показано, что фактор свертывания XIII связывается преимущественно с субпопуляцией фосфатидилсерин-положительных тромбоцитов, полученных при активации тромбином или коллаген-подобным пептидом. При этом при добавлении физиологической концентрации с фосфатидилсерин-положительными тромбоцитами связывается около 700-800 молекул на клетку, а с фосфатидилсерин-отрицательными около 200-300 молекул на клетку. Связывание фактора XIII с тромбоцитами Ca^{2+} -независимое и линейное, без насыщения в диапазоне концентраций от 0 до 250 нМ. Нами было показано, что фактор XIII взаимодействует с тромбоцитами не напрямую, а через фибрин(оген), который, в свою очередь, связан с интегрином $\alpha_{IIb}\beta_3$ или удерживается на поверхности тромбоцитов за счет полимеризации. Как плазменный, так и тромбоцитарный фактор XIII распределен неоднородно на мембране фосфатидилсерин -положительных тромбоцитов, и в основном сконцентрирован в небольшой области мембраны также, как фибрин(оген).

Таким образом, фибриноген и интегрин $\alpha_{IIb}\beta_3$ играют существенную роль в связывании fXIII, без любого из этих компонентов фактор XIII не связывается с тромбоцитами.

Исследование выполнено за счет гранта Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 19-04-00615)

КОРРЕЛЯЦИОННАЯ ВЗАИМОСВЯЗЬ ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКИХ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭРИТРОЦИТОВ В КОРРЕКЦИИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

CORRELATION INTERRELATION OF ELECTROKINETIC AND FUNCTIONAL INDICATORS OF ERYTHROCYTES IN CORRECTION OF TRAUMATIC BRAIN INJURY

Полозова А.В., Дерюгина А.В.

ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского", Нижний Новгород, shumilowanastya@gmail.com

Эритроцитарной мембране присущи общие принципы организации и функционирования мембран других клеток, поэтому выявленные закономерности нарушений структуры и функций мембраны эритроцита, могут быть экстраполированы на иные мембранные системы. В последнее время анализу электрофоретической подвижности эритроцитов (ЭФПЭ) как одному из жизненно важных параметров гомеостаза человека уделяется повышенное внимание. Это связано с тем, что ЭФПЭ оказывает влияние на суспензионную устойчивость эритроцитов и реологические свойства крови. В связи с этим актуальным представляется исследование электрокинетических свойств эритроцитов и возможности их коррекции неспецифическими цитопротекторами в посттравматический период черепно-мозговой травмы (ЧМТ).

Цель исследования – анализ взаимосвязи электрокинетических свойства и структурно-функциональных показателей эритроцитов при действии цитопротекторов (мексикора и цитофлавина) в посттравматический период ЧМТ у крыс.

Крысам после моделирования ЧМТ, путем свободного падения груза, в течение 10 дней ежедневно внутрибрюшинно первой группе вводили мексикор (8 мг/кг), второй группе цитофлавин (2 мл/кг), контролем служили животные, инъецированные физраствором. В работе исследовали электрофоретическую подвижность эритроцитов (ЭФПЭ) методом микроэлектрофореза, агрегацию эритроцитов путем подсчета одиночных эритроцитов и их агрегатов, концентрацию малонового диальдегида (МДА) по реакции с тиобарбитуровой кислотой. Уровень физиологической нормы определяли у интактных животных. Полученные данные обработаны с помощью пакетов прикладных программ BIOSTAT и Microsoft Excel.

Через 24 ч после ЧМТ у крыс было выявлено значимое снижение ЭФПЭ, повышение степени их агрегации, что сочеталось с усилением процессов липопероксидации по сравнению с интактными животными. При использовании мексикора и цитофлавина наблюдалось повышение ЭФПЭ и восстановление структурно-функциональных показателей эритроцитов. Однако корреляционный анализ этих показателей показал, что количественные характеристики отличались в динамике цитопротекторной коррекции посттравматического состояния животных за счет действия на разные звенья патогенеза. Так, действие мексикора в большей степени реализовывалось через восстановление концентрации МДА эритроцитов к 3 суткам посттравматического периода, что сочеталось со снижением степени агрегации эритроцитов на фоне постепенного восстановления электроотрицательности мембраны. Данный эффект подтверждается высокой положительной корреляцией ($r = 0.99$) соотношения МДА с ЭФПЭ. Тогда как цитофлавин с 3 суток исследования оказывал дезагрегирующий эффект, способствуя раннему восстановлению электрокинетического потенциала мембран эритроцитов. Данный эффект подтверждается высокой положительной корреляцией ($r = 0.95$) соотношения агрегации эритроцитов с ЭФПЭ. Следует отметить, что при этом на 3 сутки концентрация МДА превышала значения интактной группы в 2,25 раза, восстановление исследуемого показателя регистрировалось к 7 суткам посттравматического периода.

Таким образом, анализ результатов с использованием корреляционного анализа убедительно показывает реализацию дезагрегирующего эффекта мексикора через антиоксидантное действие, а цитофлавина через повышение электроотрицательности с постепенным включением антиоксидантной составляющей (к 7 суткам), что необходимо учитывать при разработке тактики лечения ЧМТ.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00831.

АНАЛИЗ ВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРЫ БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ МЕТОДОМ ИК СПЕКТРОСКОПИИ

ANALYSIS OF THE SECONDARY STRUCTURE OF THE PROTEINS IN THE SERUM OF MULTIPLE MYELOMA PATIENTS USING FTIR SPECTROSCOPY

Поляничко А.М.^{1,2}, Плотникова Л.В.¹, Тельная Е.А.¹, Гарифуллин А.Д.³, Волошин С.В.³

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, a.polyanichko@spbu.ru

² Институт цитологии РАН, г. Санкт-Петербург

³ Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии, г. Санкт-Петербург

Онкогематологические заболевания (гемобластозы) – это обширная группа новообразований кроветворной и лимфоидной тканей, которая включает разнообразные по морфологии и клиническим проявлениям заболевания. Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) и множественная миелома (ММ) относятся к наиболее часто встречающимся в мире и, в том числе, в России вариантам онкогематологических заболеваний. На сегодняшний день ХЛЛ и ММ остаются неизлечимыми заболеваниями. Более того, молекулярные механизмы возникновения, развития и прогрессирования данных болезней остаются до конца не изученными.

Множественная миелома (ММ) представляет собой гетерогенное заболевание, характеризующееся пролиферацией клональных (неопластических) плазматических клеток в костном мозге. Диагностика активной ММ традиционно базируется на выявлении одного или нескольких признаков, в т.ч. выявление моноклонального белка в сыворотке крови или моче. Для выявления моноклонального белка (М-белка, М-протеина, М-компонента) необходимо проведение одного или нескольких исследований, таких как иммуноэлектрофорез и иммунофиксация сыворотки крови и мочи. Совокупно, с помощью многостадийной, достаточно дорогостоящей биохимической диагностики, на сегодняшний день удается идентифицировать М-белок в сыворотке крови, не более чем у 90% больных ММ. Между тем, в последние годы ведется активный поиск новых перспективных подходов к лечению и диагностике ММ, среди которых, на наш взгляд, стоит особо отметить подходы, опирающиеся на структурные перестройки белковых молекул. Особый интерес при изучении подобных систем представляют различные неинвазивные спектроскопические подходы, прежде всего в инфракрасной области спектра.

В данной работе исследованы образцы крови больных множественной миеломой, находящихся под наблюдением гематологической клиники Российского научно-исследовательского института гематологии и трансфузиологии (г. Санкт-Петербург, Россия). Методом ИК спектроскопии были исследованы образцы сыворотки крови пациентов, больных ММ и здоровых доноров. Спектры регистрировали с использованием ИК-Фурье-спектрометра Tensor 27 (Bruker, Германия). Анализ ИК спектров жидких образцов показал, что вторичная структура белков сыворотки крови больных множественной миеломой и здоровых доноров различна. Особенностью анализа ИК спектров водных растворов белков является сильное перекрытие частотных диапазонов колебаний участков полипептидного остова, находящихся в α -спиральной и неупорядоченной конформациях. Для их достоверного разделения в ИК спектрах проводили изотопное замещение воды в образцах на D₂O, либо полностью избавлялись от воды, путем лиофильного высушивания пробы.

Анализ полученных спектров в области полосы Амид I выявил различия в содержании α -спиральных и β -слоистых участков в структуре белков в составе сыворотки крови и здоровых доноров. Установлено, что в сыворотке больных ММ наблюдается повышенное содержание β -слоистых участков. Важной особенностью полученных спектров является существенное различие между вторичной структурой белков больных множественной миеломой и здоровых доноров. В составе сыворотки крови здоровых доноров доминируют белки с преимущественно α -спиральной структурой, доля которой достигает 60%. Остальные фракции включают в себя межмолекулярные β -структуры (~10%) и внутримолекулярные β -слои (~20%). Во вторичной структуре белков в образцах, полученных у пациентов с множественной миеломой, доминируют межмолекулярные β -слои (до 30-40%) и внутримолекулярные β -структуры (~10-20%). При этом доля α -спиральных и неупорядоченных участков в совокупности значительно снижается (в общей сложности ~10-20%). На основании полученных результатов мы полагаем, что ИК-Фурье-спектрометрия в перспективе может быть использована в качестве дополнительного подхода при выявлении больных ММ и определения характера структурных нарушений в белках при этом заболевании.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 18-08-01500).

ОПТИМИЗАЦИЯ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ OPTIMISATION OF PHYSICAL AND CHEMICAL PARAMETERS OF PHOTODYNAMIC THERAPY

Пурцхванидзе В.А.^{1,2}, Симаков Ю.Г.², Никифров-Никишин А.Л.², Фатеев Е.Б.², Иванова И.В.²

¹МЦВТ “ЛазерВита”. г. Москва, violetta@laservita.ru

²МГУТУ им. К. Г. Разумовского, БиРХ, кафедра Биологии и ихтиологии. Москва, vgenei140@rambler.ru

Фотодинамическая терапия является высокоэффективным методом лечения предраковых и онкологических заболеваний. Метод является трёхкомпонентным. В качестве первого компонента выступает фотосенсибилизатор(ФС). Вторым компонентом является свет определённой длины волны и третьим компонентом является химическая реакция с выделением активного кислорода, которая приводит к гибели атипичных клеток.

Основной задачей фотодинамической терапии является оптимизация физико-химических параметров, т.к. неоптимизированные параметры могут вызывать побочные явления в виде термических ожогов, которые являются следствием появления рубцов и нарушения целостности и архитектоники органов у пациентов[1,2,3,4].

Нами была проведена ФДТ у 150 пациентов с различными нозологиями: рак кожи, рак шейки матки, рак вульвы, рак полового члена, рак языка. Возраст пациентов составил ± 65 лет. В качестве фотосенсибилизатора использовали фотосенсибилизаторы хлоринового ряда: «Фотодитазин» и «Радахлорин», которые вводились пациентам внутривенно. Доза ФС составлял от 0,6 до 1,5 мг/кг. В качестве лазерного источника использовался лазер «Эломед» с выходной мощностью 3 Вт. Пациенты были разделены на 3 группы, для каждой из которых были подобраны определенные параметры проведения ФДТ. Выходная мощность лазера (Pв) составила от 1 до 3 Вт. Плотность мощности (Ps) составила от 200 до 400 Дж/см². Главным условием в оптимизации параметров была плотность энергии (Ws), которая рассчитывалась по формуле(1) и количество введённого препарата. В первой группе пациентов ФДТ проводилась с $W_s = 0,2$ Дж/см² и вводился ФС в количестве 0,6-0,8 мг/кг. во второй группе с $W_s = 0,4$ Дж/см² и вводился ФС в количестве 0,8-1,0 мг/кг, в третьей группе $W_s = 0,8$ Дж/см² и вводился ФС в количестве 1,2-1,5 мг/кг.

Во время проведения ФДТ пациенты 1 и 2 групп испытывали тепловой эффект в зоне облучения не вызывающий болевые ощущения. Пациенты третьей группы жаловались на болевые ощущения в виде жжения. У пациентов первой и второй групп заживление происходило по типу репарации в течении месяца без формирования рубца. У пациентов третьей группы заживление происходило до двух месяцев с формированием рубца.

ФДТ с W_s от 0,2 до 0,4 Дж/см², и доза препарата от 0,6 до 1,0 мг/кг является оптимизированной, так как не вызывает болевых ощущений и дискомфорта у пациентов во время проведения процедуры, даёт хороший и устойчивый терапевтический и косметический эффекты.

$$\frac{P_{\text{вых}}}{S_{\text{св. пятна см}^2}} = W_s$$

1. Иванов А.В. Физические основы лазерных методов в онкологии.// Диссертация, 2003.

2. Странадко Е.Ф., Рябов М.В., Пурцхванидзе В.А., Радаев А.А., Ибрагимов Т.И.// Фотодинамическая терапия рака кожи «неудобных» локализаций//Российский биотерапевтический журнал. 2008. Т.2. №2. Стр.21-22.

3. Странадко Е.Ф., Пурцхванидзе В.А., Рябов М.В., Радаев А.А. Оптимизация параметров фотодинамической терапии с хлориновыми производными. Российский биотерапевтический журнал. 2008. Т.2. №2. Стр.40-41.

4. Пурцхванидзе В.А. Фотодинамическая терапия как высокоэффективный и органосохраняющий метод лечения преинвазивного рака шейки матки//Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. 2015. Стр.38.

РОЛЬ ИМПУЛЬСНЫХ СДВИГОВЫХ НАПРЯЖЕНИЙ В АКТИВАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ THE ROLE OF INTENSIVE SHORT TERM SHEAR STRESSES IN PLATELET ACTIVATION

Пушин Д.М.^{1,2}, Салихова Т.Ю.^{1,2}, Гурия Г.Т.^{1,2}

¹Национальный Медицинский Исследовательский Центр гематологии Минздрава РФ, Москва

²НИУ Московский физико-технический институт, Долгопрудный, pushin@phystech.edu

Известно, что в сдвиговых потоках белковые макромолекулы способны изменять свою конформацию. Наиболее изучены конформационные эффекты в стационарных сдвиговых течениях [1,2]. В частности, такого рода эффекты позволяют макромолекулам регулировать сигнализацию по типу «снаружи-внутри» клетки. Особое внимание привлекают процессы, связанные с изменением степени распада мультимерных молекул фактора фон Виллебранда (vWF) в крови [3]. Размотанная молекула vWF связывается с большим числом поверхностных рецепторов тромбоцитов. Функциональной реакцией тромбоцитов, вызываемой размотанными

молекулами vWF, является их активация. В недавней работе [4] была построена модель активации тромбоцитов молекулами vWF в стационарных течениях крови. В настоящей работе обобщается развитый ранее подход на случай нестационарных течений.

В построенной модели учитывалось, что активация тромбоцитов зависит от конформационного состояния молекул vWF, адсорбированных на их поверхности. Под действием импульсных сдвиговых напряжений молекулы vWF распластывались на мембране тромбоцитов, вступая в контакт с рецепторами GPIIb. Величины сдвиговых напряжений определялись с помощью методов вычислительной гидродинамики. Развитый подход был применен к изучению активации тромбоцитов в крупных стенозированных артериях.

На основании вычислительных экспериментов была построена зависимость интенсивности активации тромбоцитов от степени стенозирования сосудов. Оказалось, что при заданной интенсивности кровотока существует критическое значение степени стенозирования, ниже которой не должно наблюдаться активации тромбоцитов. При закритических степенях стенозирования имеет место резкое увеличение интенсивности активации тромбоцитов. Построенная модель позволяет ранжировать риски внутрисосудистой активации тромбоцитов в стенозированных сосудах при скачках артериального давления.

Работа была поддержана Российским научным фондом (грант №19-11-00260) и была выполнена с использованием оборудования центра коллективного пользования «Комплекс моделирования и обработки данных исследовательских установок мега-класса» НИЦ «Курчатовский институт», <http://ckp.nrcki.ru/>.

1. Smith D.E. et al. Single-Polymer Dynamics in Steady Shear Flow // Science. – 1999. – vol. 283. – no. 5408. p. 1724.
2. Doyle P.S. et al. Dynamics of a Tethered Polymer in Shear Flow // Phys. Rev. Letters. 2001. vol. 84. n.20. p. 4769.
3. Мазуров А.В. Физиология и патология тромбоцитов. - М.: Литерра, 2011. 482 с.
4. Zlobina K.E., Guria G.Th. Platelet activation risk index as a prognostic thrombosis indicator // Scientific reports. – 2016. – vol. 6. – p. 30508.

ПРИМЕНЕНИЕ ЭПР-СПЕКТРОСКОПИИ В ИЗУЧЕНИИ МЕТАБОЛИЗМА ЖЕЛЕЗА ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

THE APPLICATION OF EPR-SPECTROSCOPY FOR THE STUDY OF IRON METABOLISM IN PARKINSON'S DISEASE

Рихирева Г.Т.¹, Маклецова М.Г.²

¹ФГБУ науки Институт химической физики им. Н.Н.Семенова РАН, Москва

²ФГБНУ Научный центр неврологии, Москва

Болезнь Паркинсона (БП) – хроническое, возраст-зависимое, прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, характеризующееся потерей дофаминергических нейронов в черной субстанции. На клеточном уровне БП характеризуется интенсификацией окислительного стресса (ОС), снижением уровня глутатиона, дисфункцией митохондриальной цепи переноса электрона и увеличением содержания железа в черной субстанции. Показано, что дисфункция метаболизма железа (поглощение и выделение, запасание и перераспределение в тканях) участвует в патогенезе БП. Метод низкотемпературной ЭПР-спектроскопии позволяет напрямую регистрировать ряд метаболитов железа в биологических тканях без нарушения их нативной структуры и в состоянии фиксации низкой температурой. Метаболитами железа, обладающими парамагнитными свойствами, являются метгемоглобин (MetHb) и переносчики железа белки Cu^{2+} -церулоплазмин и Fe^{3+} -трансферрин. Спектры ЭПР крови пациентов с БП измеряли при 77 К на радиоспектрометре ER-220D фирмы Bruker (Германия). Содержание парамагнитных белков определяли как величину пропорциональную амплитуде сигналов ЭПР с g -фактором 2.05 для церулоплазмينا, с g -фактором 4.3 для трансферрина и с g -фактором 6.0 для MetHb. Редокс-активные ионы железа являются одними из главных индукторов ОС. Механизмы и источники накопления железа в черной субстанции при БП до сих пор не выяснены окончательно, что представляет интерес для выяснения триггерных этапов патогенеза заболевания поскольку повышение содержания железа в субстанции нигра у пациентов с БП наблюдается на самых ранних стадиях заболевания. Пул железа в организме в значительной степени поддерживается в результате вторичного использования железа после катаболических процессов при разрушении железосодержащих белков, главным образом, Hb. Известны данные о падении содержания Hb в крови пациентов с БП, что может быть связано как со снижением уровня биосинтеза белка, так и с усилением его катаболизма. Образование MetHb является начальной стадией деградации Hb. В физиологических условиях восстановление функционального оксигемоглобина, способного переносить газообразный кислород в ткани, осуществляется с участием восстановленного глутатиона, содержание которого снижено у больных БП. При исследовании эритроцитов крови пациентов с БП (3-4 стадии) нами было обнаружено увеличение содержания MetHb по сравнению с донорами той же возрастной группы в 5 раз ($p \leq 0,001$). Факт увеличения содержания MetHb при добавлении в суспензию эритроцитов индукторов ОС (акролеин, дофамин) позволило нам рассматривать его как биомаркера

ОС. Следует отметить, что при БП наблюдается резкое увеличение содержания акролеина в субстанции nigra. В настоящее время фактически установлено, что ОС играет существенную роль в индукции нейродегенеративных процессов. Отношение церулоплазмин/трансферрин отражает способность сыворотки крови улавливать и секвестрировать металлы переменной валентности (железо и медь), которые активно участвуют в развитии ОС. Исследуя содержание и отношение белков Cu^{2+} - церулоплазмин/ Fe^{3+} - трансферрин в плазме крови пациентов с БП на разных стадиях заболевания нами было обнаружено, что исследуемый показатель выше в крови пациентов с БП по сравнению с контролем той же возрастной группы за счет увеличивающегося содержания церулоплазмينا и снижения насыщенности трансферрина железом. В группах больных, получавших и не получавших заместительную L-ДОФА-терапию, прослеживалась тенденция к постепенному увеличению отношения исследуемых белков при прогрессировании заболевания: от 119% ($p \leq 0,01$) на 1 стадии до 189% ($p \leq 0,001$) на 4 стадии по сравнению с контролем. Полученные данные свидетельствуют о наличии при БП изменений в функционировании системы, обеспечивающей снижение содержания токсичных ионов Fe^{2+} в плазме и эти изменения являются одним из патогенетических факторов БП на всех стадиях заболевания. В экспериментах на животных нами было обнаружено, что однократное интракраниальное введение нейротоксина МРТР (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin) через 23 дня вызывало падение концентрации Hb и MetHb в периферической крови на 25% ($p \leq 0,06$) и 43% ($p \leq 0,06$) соответственно, а также увеличение содержания MetHb в селезенке на 92% ($p \leq 0,06$) по сравнению с контролем. Таким образом, по изменению уровня MetHb в тканях можно судить о наличии ОС и создании гипоксических условий в организме и об интенсификации процесса деградациии Hb.

ОЦЕНКА АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ БЕНЗИЛПЕНИЦИЛЛИНА НАТРИЕВОЙ СОЛИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИМПУЛЬСНЫМ МАГНИТНЫМ ПОЛЕМ ВЫСОКОЙ НАПРЯЖЕННОСТИ

ESTIMATION OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF BENZILPENICILLIN SODIUM SALT UNDER EXPOSURE TO A PULSE MAGNETIC FIELD OF HIGH VOLTAGE

Роденко Н.А., Васильева Т.И., Самородов А.В.¹, Беляева И.А., Глушечков В.А.

Самарский национально исследовательский университет имени академика С.П. Королева, Самара, E-mail (vgl@ssau.ru)

¹ Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, E-mail (avsamorodov@gmail.com)

На сегодняшний день широкое применение получили антибиотики пенициллинового ряда, так как они обладают минимальным количеством противопоказаний. Основу их структуры составляет β -лактамное кольцо (6-аминопеницилановая кислота). Конкурендно взаимодействуя с пенициллинсвязывающими белками, необходимыми для формирования связей между слоями пептидогликана, антибиотики группы пенициллина тем самым резко снижают прочность стенок и вызывают гибель микробных клеток.

Было установлено усиление антибактериального воздействия бензилпенициллина натриевой соли, порошок которой облучали импульсным магнитным полем (ИМП) при определенных его параметрах: напряженности H , частоте f , количестве импульсов n . Для оценки влияния частотной характеристики « f » на биологическую активность бензилпенициллина натриевой соли использовались два типа индукторов «на обжим»: одно и многовитковый (10 витков). Объектом исследования служили бактерии *Escherichia coli*. Оценка антибактериального эффекта осуществлялась по увеличению зон лизиса *E.coli* по сравнению с контрольным (не облученным) материалом. При обработке ИМП порошкообразного бензилпенициллина натриевой соли наблюдался рост диаметров лизиса на 12-24% и, следовательно, можно констатировать увеличение антибактериальной активности антибиотика. При обработке на тех же режимах раствора бензилпенициллина размер диаметров уменьшается на 8-10%, что соответствует снижению антибактериальной активности. Изучено влияние времени хранения облученного порошкообразного бензилпенициллина натриевой соли. Через три часа хранения средний диаметр зоны лизиса облученного бензилпенициллина натриевой соли с напряженностями в диапазоне от $0,09 \cdot 10^6$ А/м до $0,82 \cdot 10^6$ А/м, был достоверно выше на 14-21% по сравнению с необлученным образцом. Через сутки хранения сохранение достоверного увеличения антибактериальной активности бензилпенициллина натриевой соли наблюдалось только в случае облучения порошкообразного антибиотика ИМП с напряженностями $0,50 \cdot 10^6$ А/м и $0,82 \cdot 10^6$ А/м [1,2].

Проводились токсикологические исследования в условиях *in vivo* на 80 белых мышах самцах в возрасте 2 месяцев со средней массой тела 20-21 г. при внутрибрюшинном способе введения. Животные прошли карантин в течение 14 дней в условиях отдельного бокса вивария. При проведении исследований на белых беспородных мышах при внутрибрюшинном введении вещества исследовали в дозах 100, 150, 200, 250, 275, 300 мг/кг. Количество вводимого вещества рассчитывали по объему введенного раствора в зависимости от массы тела с учетом максимально допустимого количества жидкости. Контрольная (интактная) группа животных включена в эксперимент для проведения сравнительной оценки состояния и поведения этих особей и подопытных животных. Данная группа животных по окончании первых суток наблюдений исключалась из эксперимента.

Наблюдение за опытными группами проводилось в течение 14 суток. По результатам проведенного исследования установлено, что по расчетным показателям LD₅₀ облучение импульсным электромагнитным полем не меняло токсичность бензилпенициллина натриевой соли [3].

Были зарегистрированы ЯМР – спектры бензилпенициллина натриевой соли, облученной под ИМП. Исследовался не облученный и облученный антибиотик при напряженности магнитного поля $H = 0,82 \cdot 10^6$ А/м. На электронных весах взвешивалось по 0,0034 г. бензилпенициллина натриевой соли. Готовился раствор из дистиллированной воды (H₂O) V=550 мл и тяжелой воды (D₂O) V=50 мл. По полученным результатам ЯМР анализа, оба спектра получились идентичные, т.е. никаких изменений в составе облученного антибиотика не произошло [4].

Пенициллины нарушают синтез пептидогликана клеточной стенки бактерий, связываясь и инактивируя специфические пенициллинсвязывающие белки (транс- и карбоксипептидазы), что вызывает лизис и гибель бактериальной клетки [5]. Предполагается, что изменение конформации β-лактамовых антибиотиков в условиях воздействия импульсного магнитного поля может увеличить их антибактериальную активность, так как повысится их сродство с активным центром пенициллинсвязывающих белков.

1. Кленова Н.А. Лабораторный практикум по микробиологии. Издательство, Самарский университет, 2012.
2. Семина Н.А. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Издательство федерального центра госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004.
3. Брагина И.В., Попова А.Ю. Оценка токсичности и опасности химических веществ их смесей для здоровья человека. Издательство Роспотребнадзор, 2016.
4. Нифантьев И.Э., Ивченко П.В. Практический курс спектроскопии ядерного магнитного резонанса. Издательство МГУ им. М.В. Ломоносова, 2006.
5. Сидоренко С.В., Яковлев С.В. Бета-лактамы антибиотики // Русский медицинский журнал. 1997. Т.5. № 21. С.1367-1381.

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГЕПАТОЦИТОВ В ПРОЦЕССЕ ПЕЧЕНОЧНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ

STUDY OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL STATE OF THE HEPATOCYTES DURING LIVER REGENERATION

Родимова С. А., Кузнецова Д. С., Реунов Д. Г., Бобров Н. В.¹, Вдовина Н. В., Загайнов В. Е.¹, Загайнова Е. В.

ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, Н. Новгород, Россия, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

¹ФБУЗ ПОМЦ ФМБА России, 603001, Нижегородская область, Н. Новгород, ул. Нижне-Волжская набережная, 2

Известным фактом является то, что печень обладает высоким регенераторным потенциалом, и в настоящее время все более актуальной задачей является изучение механизма регенерации ткани печени и поиск методов стимуляции этого процесса. Традиционных методов недостаточно для точного описания внутренней структуры гетерогенных клеточных популяций и динамики биологических регенеративных процессов печени. В настоящее время в биомедицинские исследования активно внедряются методы мультифотонной микроскопии с флуоресцентной прижизненной визуализацией.

В данной работе были исследованы метаболические изменения гепатоцитов и структура коллагеновых волокон в модели 30% и 70% гепатэктомии крыс. Контрольные точки эксперимента: 3 дня и 7 дней. Образцы резецируемой печени исследовались в качестве контроля.

Анализ метаболического статуса гепатоцитов на разных стадиях регенерации проводился по уровню интенсивности флуоресценции и времени жизни флуоресценции метаболических кофакторов (НАД(Ф)Н, ФАД) методом FLIM. Анализ структуры коллагена паренхимы и капсулы проводился с применением метода генерации второй оптической гармоники (SHG). Представлен отдельный анализ НАДН и НАДФН для оценки вклада энергетического обмена, а также для оценки активности липогенеза в гепатоцитах.

Показано статистически значимое увеличение отношения ФАД/НАД(Ф)Н в регенерирующей печени, что может свидетельствовать об изменении общей метаболической активности гепатоцитов, в частности об увеличении энергозатрат пролиферирующих клеток.

Кроме того, наблюдается значительное увеличение вклада связанной с белком формы НАДН, что может свидетельствовать об увеличении вклада процессов окислительного фосфорилирования в гепатоцитах в процессе регенерации. При этом вклад НАДФН в процессе регенерации печени существенно не изменился, что может быть связано с вовлечением кофактора НАДФН в большое количество процессов, помимо энергетического метаболизма, затрудняя интерпретацию полученных результатов.

В паренхиме печени как в норме, так и в процессе регенерации значительного накопления коллагена не обнаружено. В модели 70% ГЭ наблюдается распрямление спиральной структуры коллагена капсулы печени.

Полученные данные могут быть использованы для разработки новых критериев оценки метаболических и структурных изменений гепатоцитов в процессе регенерации, направленных на персонализированную медицину в будущем.

Данная работа была поддержана грантом Российского научного фонда 19-15-00263.

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЭМИТТЕРОВ ЭЛЕКТРОНОВ ОЖЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

THE PROSPECTS OF AUGER ELECTRON EMITTER CYTOTOXICITY USE FOR CANCER TREATMENT

Розенкранц А.А.^{1,2}, Слестникова Т.А.², Соболев А.С.^{1,2}

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет;

²Институт биологии гена РАН, Москва

Такие широко используемые в медицине изотопы, как ^{99m}Tc, ¹¹¹In, ¹²³I, ⁶⁷Ga, γ -излучение которых используется для диагностики различных заболеваний, являются также источником электронов Оже (ЭО), включая электроны Костера-Кронига. В отличие от γ -квантов и электронов β -излучения, которые относительно мало взаимодействуют с веществом, ЭО обладают очень коротким, находящимся, по большей части в нанометровом диапазоне, пробегом и значительной линейной передачей энергии (ЛПЭ). Короткий пробег и большие значения ЛПЭ определяют значительное локальное повреждение, которое может оказаться значимым для живой клетки только в том случае, если эмиттер ЭО оказывается вблизи жизненно важной мишени, например, в клеточном ядре. Вне ядра и, тем более, вне клетки повреждающее действие ЭО минимально, что дает принципиальную возможность эффективного селективного уничтожения раковых клеток, в том случае, если есть возможность доставить эмиттер ЭО в их ядра, но не в ядра нормальных клеток. К настоящему времени предложен ряд конструкций для использования перспективных для селективного воздействия на раковые клетки свойств эмиттеров ЭО. К ним относятся как низкомолекулярные вещества, (такие как аналоги нуклеотидов, лиганды для ядерных стероидных рецепторов, вещества, связывающиеся с ДНК), а также различные макромолекулы, например, природные и искусственные полипептиды, такие как эпидермальный фактор роста (ЭФР), антитела к сверхэкспрессированным на раковых клетках рецепторам, специализированные транспортные конструкции. Несколько радиофармпрепаратов с эмиттерами ЭО уже были протестированы в клинике: октреотид, ЭФР, антитела к поверхностным клеточным антигенам, но пока они не получили значимого применения. Для достижения оптимального эффекта эмиттер ЭО должен находиться вблизи от наиболее чувствительных молекулярных мишеней, большая часть которых находится в ядре клетки, но низкомолекулярные вещества, достигающие ядра, малоселективны по отношению к типу клеток. Присоединения для получения селективности эмиттера ЭО к антителу, связывающемуся с соответствующим сверхэкспрессированным антигеном на поверхности раковой клетки, оказывается недостаточно для проявления эффекта. Для его получения необходимо обеспечить проникновение эмиттера ЭО внутрь этой клетки и последующий транспорт в ее ядро, являющееся наиболее чувствительным компартментом для ионизирующего излучения. Для решения задачи селективного транспорта терапевтических агентов в ядра клеток заданного типа нами были разработаны специализированные транспортные конструкции – модульные нанотранспортеры (МНТ), представляющие собой искусственные полипептиды, способные проникать в ядро клетки-мишени, используя клеточные системы транспорта макромолекул [1-3]. К настоящему времени создан ряд таких конструкций, направленных на клетки с повышенной экспрессией рецептора ЭФР (глиобластома, рак мочевого пузыря, головы и шеи, шейки матки и другие) [2], меланокортинового рецептора первого типа (меланома) [1], рецептора фолата (рак шейки матки, яичника) [4]. Все эти МНТ с присоединенными эмиттерами ЭО показали высокую эффективность на клетках в культуре. Разработан простой и эффективный метод получения меченных ¹¹¹In МНТ с высокой начальной удельной радиоактивностью (2,7 ГБк на мг МНТ), что позволило получить на нескольких моделях экспериментальных опухолей лабораторных животных значительный эффект как по торможению роста опухолей, так и по их выживаемости [4-6] вплоть до излечения животных. Доклинические испытания МНТ-ЭФР, проведенные в МНИОИ им. П.А. Герцена и МРНЦ им. А.Ф. Цыба подтвердили высокую противоопухолевую эффективность и безопасность данного подхода при внутриопухолевом и внутриполостном введении МНТ, несущих ¹¹¹In, при терапии рака мочевого пузыря. Разработанные технологии позволяют создавать МНТ, направленные на лечение различных онкологических заболеваний.

Работа выполнена при поддержке средств гранта РФФИ № 17-14-01304.

1. Rosenkranz A.A. et al. Recombinant modular transporters for cell-specific nuclear delivery of locally acting drugs enhance photosensitizer activity. //FASEB J. 2003. Vol. 17. P. 1121.

2. Rosenkranz A.A. et al. Engineered modular recombinant transporters: application of new platform for targeted radiotherapeutic agents to α -particle emitting ^{211}At //Int'l J Radiat Oncol Biol Phys. 2008. Vol. 72. P. 193.
3. Sobolev A.S. Modular nanotransporters for nuclear-targeted delivery of Auger electron emitters //Front Pharmacol. 2018. Vol. 9. № 952.
4. Slastnikova T. A. et al. Development and evaluation of a new modular nanotransporter for drug delivery into nuclei of pathological cells expressing folate receptors //Drug Des Dev Ther. 2017. Vol. 11. P. 1315.
5. Slastnikova T.A. et al. Preparation, cytotoxicity, and in vivo antitumor efficacy of ^{111}In -labeled modular nanotransporters //Int J Nanomed. 2017. Vol. 12. P. 395.
6. Rosenkranz A.A. et al. Antitumor activity of Auger electron emitter ^{111}In delivered by modular nanotransporter for treatment of bladder cancer with EGFR overexpression //Front Pharmacol. – 2018. Vol. 9. №. 1331.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПАТОЛОГИИ СЕТЧАТКИ ПРИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ФРАКТАЛЬНОГО АНАЛИЗА И БИНАРНОГО ПРЕОБРАЗОВАНИЯ

INVESTIGATION OF RETINAL PATHOLOGY IN DIABETIC RETINOPATHY USING FRACTAL ANALYSIS AND BINARY TRANSFORMATION

Русанова И.А.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, E-mail: itusanova@yandex.ru

В настоящее время большой интерес представляет исследование проблемы нарушений микроциркуляции глаза, связанной, в том числе, с состоянием сердечно - сосудистой системы [1]. Основу патогенеза составляют такие наиболее распространенные возрастные заболевания как диабетическая ретинопатия, глаукома и макулярная дегенерация. На сегодняшний день существует большой спектр методов изучения гемодинамики глаза, направленные на диагностирование нарушений локального глазного кровотока и оценки эффективности препаратов и методов лечения. Однако проблема создания новых автоматизированных методов диагностирования нарушений микроциркуляции, сочетающих в себе неинвазивность, доступность, безопасность и простоту, остается актуальной [2]. Диабетическая ретинопатия (ДР) чаще всего становится причиной слепоты в возрастной группе 20-60 лет, и составляет долю примерно 2.5 млн. на 50 млн. слепых людей во всем мире, приводя как к ухудшению качества жизни, так и к потере трудоспособности [3]. В работах [4,5] были опубликованы исследования, в которых доказывалось, что болезненное состояние зачастую приводит к потере мультимасштабной нелинейной сложности различных физиологических процессов и к развитию их периодичности. Благодаря своей нерегулярности, фрактальные структуры проявляют стабильность и устойчивость к повреждению. Предполагают, что регулярные нелинейные системы функционируют в состояниях, далеких от равновесных. Болезненное состояние приводит к снижению степени хаоса и размерности. Однако патология не всегда может приводить к возрастанию регулярности. Отклонения в физиологической регуляции от фрактального механизма могут вызывать экстремальные беспорядочные флуктуации [6,7]. В сетчатке, вследствие заболеваний, наблюдается формирование фрактальной анатомической структуры, которая также изменяет степень своей сложности. Так как фрактальность описывает морфологические особенности сложных структур, еще 20 лет назад было предположено, что фрактальный анализ может быть использован при математическом моделировании формирования разветвленной сети ретинальных сосудов сетчатки во время развития, а также в разработке методов диагностики заболеваний глазного дна [8-11]. Предлагались различные методы анализа ретинального изображения, с различной степенью эффективности. Так были получены средние значения фрактальной размерности сетчатки в норме $D = 1.43$ и $D = 1.69$ [12]. В работе [13] было показано, что при сравнении сетчатки у пациентов на стадиях слабой и среднетяжелой степени непролиферативной диабетической ретинопатии, существенная разница наблюдается только в макулярной области, с уменьшением архитектуры сети сосудов и снижением фрактальной размерности. На сегодняшний день существует множество алгоритмов цифровой обработки изображений, разрабатываются новые более точные и эффективные методы обработки, в том числе на основе фрактального анализа, позволяющего исследовать изображения, преобразованные в неоднородную поверхность, например, с показателем яркости по высоте, либо цветового кода [14,15].

В качестве объекта исследований были взяты цифровые изображения разных стадий ДР. В соответствии с цветовым кодом рабочего пикселя поверхности объекта, в программе производился перевод цветового кода пикселя в высоту точки, с образованием трехмерного объекта с неоднородной шероховатой поверхностью. Полученные объекты были исследованы на фрактальность, согласно идеям фрактальной геометрии Б. Мандельброта и с применением ранее разработанного формализма [14,16-18]. Фрагменты исследуемых цифровых изображений имеют размеры $a = b = 273$ пикселей, предварительные операции улучшения изображений не проводились. Выявлено, что наибольшей величиной фрактальной размерности $D = 2.806$ обладает изрезанная, шероховатая поверхность разветвленной сети ретинальных сосудов сетчатки в стадии

умеренной непролиферативной ДР, а наименьшим значением – стадия тяжелой непролиферативной ДР $D=2.353$. Присутствие нетипичных (аномальных) изменений в структуре поверхности сетчатки характеризуется коэффициентом самоподобия $K < 1$ и наблюдаются также на стадии тяжелой непролиферативной ДР. При анализе изменения меры SRGB (площади треугольника в координатной системе свойств) все исследуемые поверхности ретинальных сосудов сетчатки характеризуются величиной $SRGB < 0$, с наиболее выраженным отрицательным численным значением для стадии умеренной непролиферативной ДР, с последующим уменьшением по величине для тяжелой непролиферативной стадии и тяжелой пролиферативной формы развития заболевания.

Дальнейшая обработка изображений сетчатки проводилась при помощи сканирования скользящим «окном» размером $a \times b$ пикселей. На каждом шаге сканирования определялись численные значения фрактальной размерности в области накладываемого «окна», с формированием матрицы значений в виде поля фрактальных размерностей (ПФР). Аналогично были получены поля коэффициента самоподобия K и меры SRGB. Применим к полученным полям фрактальных мер бинарное преобразование, приводящее к значительному уменьшению большого количества информации, с которой приходится работать, при помощи перевода цветного изображения $S(x,y)$ в черно-белое относительно величины некоторого «порога» S_{II} , с присвоением текущему сегменту изображения значения «1» («черный» цвет) либо «0» («белый» цвет или прозрачное «окно» при наложении бинарной маски на изображение), если исходное значение больше (меньше) порогового [19,20]. Примем за «пороговое» значение фрактальной размерности величину показателя Херста H , для коэффициента самоподобия и меры SRGB численное значение «0». Бинарное преобразование мультифрактальных поверхностей сетчатки позволяет выделить ранее визуально скрытые особенности структурно-текстурных границ образуемых кластеров в структуре разветвленной сети сосудов сетчатки, присущих каждой стадии развития заболевания. Показано, что бинарное преобразование полей фрактальных размерностей позволяет выделить существенную разницу в значениях фрактальной размерности и их распределении вблизи макулярной области как для легкой, так и для умеренной стадий диабетической ретинопатии, в отличие от ранее полученных результатов в работах других авторов [8,13]. Бинарное преобразование поля коэффициента самоподобия увеличивает информативность фрактального анализа, визуально выделяя аномальные изменения в структуре поверхности сетчатки. Бинарное преобразование поля меры SRGB выявляет высокую чувствительность даже к небольшим изменениям в цветовой гамме изображения сетчатки. Для различных стадий диабетической ретинопатии наблюдается выраженное смещение максимума распределения частоты фрактальной размерности, с присутствием определенного набора распределения принимаемых значений фрактальной размерности, что может являться паттерном в сравнительной характеристике морфологических изменений сложной структуры сетчатки. Выявлено, что сегментирование цифровых изображений сетчатки при ДР на разных стадиях заболевания позволяет оценить области с различными диапазонами значений фрактальных мер, что может помочь распознаванию характерных паттернов распространения нетипичных областей в морфогенезе микрососудистых осложнений в структуре сетчатки. Показана возможность описания патологий сложных мультифрактальных поверхностей сетчатки с учетом спектра частот фрактальных мер, что может быть полезно для увеличения диагностической информативности на разных стадиях развития диабетической ретинопатии.

1. Александров П.Н., Еникеев Д.А. Методы исследования микроциркуляции. Уфа: Диалог, 2004. .
2. Киселева Т.Н., Котелин В.И. и др. // Офтальмология. 2017. Т. 14(4). С. 283-290.
3. Viswanath K., Murray D.D. Diabetic Retinopathy: Clinical Findings and Management // Community Eye Health. 2003. Vol.16(46). P. 21-24.
4. Fadel, P.J. et al. Fractal fluctuations in human respiration // J. Appl. Physiol. 2004. 97. P. 2056-2064.
5. Goldberger A. L., Amaral L.A.N. et al. // Proc.Natl. Acad. Sci. USA (PNAS). 2002. 99 (Suppl 1). P. 2466-2472.
6. Goldberger A.L. et al. West Chaos and fractals in human physiology // Sci. Amer. 1990. 262. P. 42-49.
7. Ayers, S. The Application of Chaos Theory to Psychology // Theory & Psychol. 1997. Vol.7 (3). P. 373-398.
8. Зуева, М.В. // Офтальмология. 2014. Т. 11(1). С. 4-11.
9. Daxer, A. Characterisation of the neovascularisation process in diabetic retinopathy by means of fractal geometry: diagnostic implications // Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol. 1993a. 231. P. 681-686.
10. Avakian A. et al. // Curr Eye Res. 2002. Vol. 24 (4). P. 274-280.
11. Dharmanna L. et al. Automated Detection of Neovascular Glaucoma through Fractal Dimension Method // (IJCSIT) International Journal of Computer Science and Information Technologies. 2014. Vol.5(4). P.5252-5257.
12. Tălu, S. Fractal analysis of normal retinal vascular network // Oftalmologia. 2011. Vol.55(4). P. 11-16.
13. Avakian A. et al. Fractal analysis of region-based vascular change in the normal and non-proliferative diabetic retina // Curr Eye Res. 2002. Vol. 24 (4). P. 274-280.
14. Федер Е. Фракталы / Е. Федер. М.: Мир. 1991. 254 с.
15. Потанов А.А., Булавкин В.В. и др. / Журнал технической физики. 2005. Т. 75(5). С. 28-45.
16. Rusanova, I.A. Study of fractal structure of images of nail bed and periungual epithelium // Biomedical Engineering. 2013. Vol. 47. № 2. P. 83-85.

17. Tayurskii D., Rusanova I. The Fractal Analysis of the Images and Signals in Medical Diagnostics Fractal Analysis // Applications in Health Sciences and Social Sciences (Dr.Fernando Brambila (Ed.) InTech). 2017. chapter 3. P. 57-86.
18. Русанова И.А. Исследование особенностей морфогенеза эпителия при кожных заболеваниях с применением фрактального анализа и бинарного преобразования / В сборнике: Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине - 2018 Сборник статей Всероссийской школы-семинара. Под ред. проф. Д.А. Усанова. 2018. Саратов: Издательство Саратовский источник. С.78-81.
19. Xianyu Jin et al. Study on Fractal Characteristics of Cracks and Pore Structure of Concrete based on Digital Image Techology // Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology. 2012. P. 1-8.
20. Сальников, И.И. // Искусственный интеллект. 2011. № 3. С. 261-270.

ЭЛЕКТРОМАГНИТНОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ ТЕРМИНАЛОВ МОБИЛЬНОЙ СВЯЗИ И РАСПРОСТРАНЁННОСТЬ БОЛЕЗНЕЙ СИСТЕМЫ КРОВООБРАЩЕНИЯ

ELECTROMAGNETIC RADIATION OF MOBILE COMMUNICATION TERMINALS AND THE PREVALENCE OF DISEASES OF THE CIRCULATORY SYSTEM

Рыбалко С.Ю.¹, Яценко С.Г.²

¹ *доцент кафедры медицинской физики и информатики Физико-технического института ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» Министерство науки и высшего образования России, 295051, Симферополь, kphis012@yandex.ua*

² *доцент кафедры доцент кафедры гигиены общей с экологией Медицинской академии ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» Министерство науки и высшего образования России, 295051, Симферополь, yswet.net@mail.ru*

Ускоренные темпы развития современных технологий, базирующихся на передаче информации в радиочастотном диапазоне (РЧ) электромагнитных излучений (ЭМИ), создают необходимость совершенствования методов гигиенической оценки состояния среды обитания человека. Уровень здоровья любой популяции имеет региональную специфику, которая обусловлена особенностями взаимоотношения человека и окружающей среды. Хорошо известно, что в роли индикатора состояния целостного организма выступают функциональные показатели деятельности сердечно – сосудистой системы (ССС). В настоящее время патология ССС выходит на лидирующие места в структуре заболеваемости и смертности населения. По прогнозам экспертов, число летальных исходов от болезней системы кровообращения (БСК) будет расти. Однако учет действия ЭМП как одного из факторов формирования данного вида патологии, изучено недостаточно. Проведенные нами ретроспективные исследования (2003 – 2014 гг.) динамики распространенности БСК по отчетам Министерства Здравоохранения Республики Крым и удельного числа абонентов сотовой связи среди населения Крыма по отчетам Министерства Связи Республики Крым и ведущих мобильных операторов показали неуклонный рост исследуемых показателей. При проверке значимости корреляционной связи для двух выборок с использованием коэффициента корреляции Кендалла нами была обнаружена корреляционная связь, $\tau > 0$ ($\tau = 0,879$), на уровне значимости $p = 0,01$.

Этот факт, а также отсутствие систематических работ в сфере выявления влияния ЭМП, позволило нам запланировать дальнейшие исследования и сформулировать цель данной работы: изучить интенсивность излучения мобильных телефонов в местах их активной эксплуатации в 22-х административно-территориальных единицах Республики Крым, сопоставить их с нормами, и выявить риск по БСК для здоровья населения, пользующегося услугами мобильной связи.

Излучение мобильных телефонов (МТ) определялось на территории Крыма в местах их активной эксплуатации абонентами (микрорайоны городов, городские и сельские поселения). Количество точек замеров зависело от площади исследуемого района и варьировало от 3 до 60. В каждой точке замера уровень ЭМИ определялся последовательно от двух одинаковых МТ (Samsung G3) в режиме голосовой связи с удаленным абонентом. Заболеваемость населения республики Крым по БСК получена из «Крымского медицинского информационно-аналитического центра».

Полученные значения плотности потока энергии (ППЭ) находились в пределах от $0,82 \pm 0,02$ мкВт/см² до $2,09 \pm 0,12$ мкВт/см², среднее значение ППЭ по Крыму равно $1,35 \pm 0,07$ мкВт/см². При статистической обработке результатов получены положительные и достоверные корреляционные зависимости между средними значениями ППЭ и показателями общей заболеваемости по БСК. Среди составляющих БСК на первом месте по величине корреляционной связи стоит ишемическая болезнь сердца (ИБС) ($R = 0,503$, $p = 0,017$), на втором – болезни, характеризующиеся повышенным кровяным давлением (ПКД) ($R = 0,433$, $p = 0,044$). Обнаруженные положительные корреляционные связи между ППЭ и БСК в целом ($R = 0,471$; $p = 0,027$) указывают на воздействие ЭМИ мобильной связи на ССС с последующим возможным формированием БСК.

В результате проведенного мониторинга электромагнитной обстановки по ППЭ, создаваемой терминалами мобильной связи в Республике Крым было выявлено, что наибольшие средние значения ППЭ

выявлены в городе Симферополь, Первомайском, Красногвардейском и Черноморском районах, что определяется в первую очередь расстоянием до базовых станций (БС) и их загруженностью. Минимальные средние значения ППЭ выявлены в городах Армянск, Керчь и Феодосия, что объяснимо определенной «насыщенностью» данных территорий БС и их относительно невысокой нагрузкой.

Выявлены статистически достоверные корреляционные связи между средними значениями ППЭ и показателями общей заболеваемости по БСК, из составляющих БСК по величине корреляционной зависимости лидирует ИБС и ПКД.

Работа выполняется при поддержке РФФИ (18-013-01028 А).

ПОИСК МАРКЕРОВ СИНДРОМА ДЕФИЦИТА ВНИМАНИЯ С ГИПЕРАКТИВНОСТЬЮ (СДВГ) НА ОСНОВЕ ЦИФРОВОГО ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО КАРТИРОВАНИЯ

SEARCHING FOR DEFICIENCY DEFICIENCY SYNDROME WITH HYPERACTIVITY (ADHD) BY DIGITAL PSYCHOPHYSIOLOGICAL MAPPING

Полевая С.А.^{1,2}, Савчук Л.В.^{1,2}, Федотчев А.И.³, Селиверстова К.К.², Парин С.Б.²

¹ Приволжский исследовательский медицинский университет (ПИМУ), Нижний Новгород

² НИУ Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского (ННГУ)

³ Институт биофизики клетки РАН (ИБК РАН), Пущино, Московская область

Синдром дефицита внимания с гиперактивностью (СДВГ) является самой частой причиной нарушений поведения, школьной и социальной дезадаптации, трудностей обучения. СДВГ – одно из наиболее распространенных расстройств, которое встречается примерно у 5% как детского, так и взрослого населения [1]. Диагностика СДВГ традиционно основывается на результатах наблюдения, носит субъективный характер, обладает низкой специфичностью, чувствительностью и надежностью. Актуально развитие цифровых методов картирования психофизиологического статуса для поиска объективных маркеров СДВГ.

В работе реализовано цифровое картирование психофизиологического статуса СДВГ на основе интеграции показателей сенсомоторной активности и параметров связанной с сенсомоторными событиями вегетативной регуляции. Для цифровизации психофизиологического статуса применена технология событийно-связанной телеметрии ритма сердца [2]. Тесты сенсомоторной активности (СМА) выполнялись на базе Web-платформы ratform.arway.ru для управляемой активации когнитивных модулей. Для мониторинга variability ритма сердца и режимов вегетативной регуляции использовался Интернет-сервис cogni-pp.ru. В исследовании приняло участие 11 детей с СДВГ и 22 ребенка без диагноза (контроль). У каждого ребенка проведен мониторинг variability ритма сердца (ВРС) при выполнении 4 тестов с возрастающим уровнем сложности когнитивной нагрузки: 1. Стандартная оценка внимания и активности по компьютерный вариант теста Тулуз-Пьерона; 2. Простая сенсомоторная активность. Последовательно предъявляется 20 простых стимулов (изображения кошки и мыши) с постоянным межстимульным интервалом (2 с) и постоянным временем экспозиции (200 мс) в пяти положениях стимула на мониторе компьютера; 3. Сложная сенсомоторная активность. Дизайн совпадает со 2 тестом, за исключением необходимости нажимать на кнопку только при появлении мыши; 4. Сложная сенсомоторная активность. Последовательно предъявляются 30 стимулов (съедобные и несъедобные объекты) с постоянным межстимульным интервалом (1,5 с) и постоянным временем экспозиции (300 мс) в пяти положениях на мониторе компьютера. В тестах 2-4 регистрируется время сенсомоторной реакции, количество и тип ошибок. Режим вегетативной регуляции, связанный с сенсомоторной активностью, определялся по спектральным показателям ВРС: TP ($\text{мс}^2/\text{Гц}$) - адаптационный потенциал; HF и LF ($\text{мс}^2/\text{Гц}$) — активность парасимпатической и симпатической нервной системы, соответственно; ИВБ (LF/HF) — индекс вегетативного баланса, характеризующий напряжение регуляторных систем. Статистическая обработка: непараметрический критерий Манна-Уитни, ANOVA (метод повторных измерений), корреляционный анализ (непараметрический критерий Спирмена).

Специфические особенности сенсомоторной активности у детей с СДВГ проявляются в увеличении времени СМА в задачах разного уровня сложности по отношению к любым стимулам. При этом продолжительность моторной реакции соответствует возрастной норме, что может свидетельствовать об искажениях в когнитивном модуле функциональной системы, обеспечивающей сенсомоторную активность. Психофизиологический статус при СДВГ проявился в структуре ошибок: при сравнении с контролем больше пропусков целевых стимулов и двойных нажатий на стимулы, что может быть связано с нарушением баланса процессов возбуждения и торможения. Корреляционный анализ позволил выявить специфику связей между показателями СМА при СДВГ: в контекстах без семантической нагрузки (тесты 2 и 3) проявляется избыточное количество сильных связей; в контексте с семантической нагрузкой (тест 4) - редукция связей. Для вегетативного обеспечения СМА у детей с СДВГ характерна редукция центрального контура регуляции ритма сердца, значимое снижение мощности низкочастотных и высокочастотных компонентов спектра ВРС,

повышение напряжения регуляторных систем, сокращение количества значимых корреляций между показателями СМА и ВРС.

Цифровая карта психофизиологического статуса на основе интеграции показателей сенсомоторной активности и событийно-связанных параметров вегетативной регуляции может стать эффективным инструментом для повышения специфичности, чувствительности и надежности диагностики СДВГ у детей.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, гранты №18-013-01225_а, 18-413-520006_р_а, 19-013-00095_а.

1. Thomas R., Sanders S., Doust J., Beller E., Glasziou P. Prevalence of attention-deficit/hyperactivity disorder: a systematic review and meta-analysis. // *Pediatrics*. 2015. V. 135. P. 994–1001.
2. Polevaya S.A., Eremin E.V., Bulanov N.A., Bakhchina A.V., Kovalchuk A.V., Parin S.B. Event-related telemetry of heart rhythm for personalized remote monitoring of cognitive functions and stress under conditions of everyday activity. // *Sovremennye tehnologii v medicine*. 2019. Vol. 11. Iss. 1. P. 109–115.

ДИНАМИКА ФАКТОРА ФОН ВИЛЛЕБРАНДА В СДВИГОВЫХ ТЕЧЕНИЯХ КРОВИ DYNAMICS OF VON WILLEBRAND FACTOR IN BLOOD SHEAR FLOWS

Салихова Т.Ю.^{1,2}, Пушин Д.М.^{1,2}, Злобина К.Е.¹, Гурия Г.Т.^{1,2}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» МЗ РФ, Москва,
salikhova.t@phystech.edu

²НИУ Московский физико-технический институт, Долгопрудный

В интенсивных сдвиговых течениях крови происходит активация тромбоцитов. Макромолекулы фактора фон Виллебранда (vWF) выполняют роль посредника, с помощью которого тромбоцит «чувствует» сдвиговой поток. При низких значениях напряжения сдвига молекулы vWF присутствуют в крови в глобулярной форме. При превышении напряжением сдвига определенной критической величины, молекулы vWF претерпевают конформационные изменения, переходя в «размотанную» форму. Подобный конформационный переход увеличивает число А1 доменов молекулы vWF, доступных для связывания с поверхностными тромбоцитарными рецепторами GPIb. Образование связи между рецептором GPIb и доменом А1 ведет к передаче сигнала внутрь клетки, активации и последующей агрегации тромбоцитов. «Размотка» vWF может зависеть как от величины сдвигового напряжения, так и от времени воздействия повышенного напряжения сдвига.

Целью данной работы является изучение динамической перестройки макромолекул vWF в сдвиговых течениях. В недавней работе [1] была построена математическая модель активации тромбоцита молекулами vWF в стационарных гидродинамических условиях. Найдены условия активации тромбоцита под действием молекул vWF заданной длины при постоянной величине напряжения сдвига. Настоящая работа является обобщением указанной работы на случай нестационарного напряжения сдвига.

Построена математическая модель нестационарной динамики сворачивания/разворачивания молекулы vWF по поверхности тромбоцита в сдвиговых течениях крови. Сформулированы необходимые условия для полной размотки макромолекул vWF. Получены аналитические выражения для пороговых величин кумулятивных сдвиговых воздействий по стороны кровотока на макромолекулы vWF, адсорбированные на тромбоцитах.

Работа была поддержана Российским научным фондом (грант №19-11-00260).

1. Zlobina K.E., Guria G.T. Platelet activation risk index as a prognostic thrombosis indicator // *Scientific reports*, 2016, Vol. 6, P. 30508.

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ СОЛНЦА И ГЕОМАГНИТНОЙ ВОЗМУЩЕННОСТИ НА СОСТОЯНИЕ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ЧЕЛОВЕКА
THE EFFECT OF ELECTROMAGNETIC PERTURBATION OF THE SUN AND GEOMAGNETIC DISTURBANCES ON THE CARDIOVASCULAR SYSTEM OF HUMAN BEING

Самсонов С.Н.¹, Паршина С.С.², Петрова П.Г.³, Стрекаловская А.А.³, Кобякова С.Е.¹

¹ - Институт космофизических исследований и астрономии им. Ю.Г. Шафера СО РАН, Россия, г. Якутск, s_samsonov@ikfia.ysn.ru;

² - Медицинский университет им. В.И.Разумовского, Россия, г. Саратов, 1parshinasvetlana@mail.ru;

³ - Медицинский институт СВФУ им. М.К. Аммосова, Россия, г. Якутск, mira_44@mail.ru

Цель: Изучить влияние электромагнитного излучения Солнца (радиоизлучение и рентгеновское излучение) и геомагнитной возмущенности на сердечно-сосудистую систему больных с различными вариантами сердечно-сосудистой патологии и здоровых людей.

Объекты и методы исследования: Проанализирована динамика обращаемости больных по поводу гипертонических кризов, инфаркта миокарда и инсульта в скорую медицинскую помощь г. Якутска в зависимости от ежедневной динамики электромагнитного излучения Солнца и геомагнитной возмущенности (по данным Кр-индекса). Реакция сердечно-сосудистой системы здоровых лиц (75 чел.) изучалась в многоширотном эксперименте на широко разнесенных наблюдательных пунктах (субарктическая зона – г. Якутск, средние широты – г. Саратов). Оценивалась взаимозависимость ежедневной динамики коэффициента симметрии Т-зубца электрокардиограммы (КСТ ЭКГ) и Кр-индекса геомагнитной возмущенности.

Результаты. Установлено, что динамика обращаемости больных по поводу гипертонических кризов, инфаркта миокарда и инсульта в скорую медицинскую помощь г. Якутска в целом совпадает с динамикой изменения солнечного электромагнитного излучения (радиоизлучение и рентгеновское излучение Солнца) и геомагнитной возмущенности. При этом выявлены следующие отличия в реакции пациентов с различными вариантами сердечно-сосудистой патологии. Частота возникновения гипертонических кризов увеличивалась в дни возмущения радиоизлучения и рентгеновского излучения Солнца (первый пик обращаемости), а также через 2-4 суток после максимума геомагнитной возмущенности (второй пик обращаемости). Обращаемость по поводу инфарктов миокарда и инсультов возрастала в дни возмущения радиоизлучения и рентгеновского излучения Солнца (первый пик обращаемости), в день максимума геомагнитной возмущенности (второй пик обращаемости) и через 2-4 дня после максимума геомагнитной возмущенности (3-й пик обращаемости). Полученные результаты свидетельствуют о различной чувствительности больных с гипертоническими кризами, инфарктами миокарда и инсультами к вариациям космической погоды.

Для группы здоровых добровольцев выявлены однотипные изменения КСТ ЭКГ в ответ на вариации геомагнитной возмущенности на субарктических и средних широтах, что свидетельствует о глобальном воздействии данного параметра на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы здоровых лиц. При этом обнаружено наличие совпадения вариаций показателей ЭКГ испытуемых и геомагнитной возмущенности даже при низких значениях уровня геомагнитной возмущенности (суммарный суточный Кр-индекс ≤ 17). В исследуемые периоды не выявлено реакции КСТ ЭКГ на повышение уровня электромагнитного излучения Солнца, предшествующего увеличению геомагнитной возмущенности. Полученные данные могут свидетельствовать об отсутствии выраженной реакции миокарда здоровых лиц на электромагнитное излучение Солнца и связь функционального состояния их сердечно-сосудистой системы прежде всего с вариациями геомагнитной возмущенности.

Работа выполнена при частичном финансировании по гранту РФФИ №18-415-140002.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОРОГОВОЙ АКТИВАЦИИ КАСКАДА PI3K-AKT-MTOR
THEORETICAL ANALYSIS OF PI3K-AKT-MTOR CASCADE THRESHOLD ACTIVATION

Т.С. Сапега^{1,2}, Г.Т. Гурия^{1,2}

¹ ФГБУ “НМИЦ гематологии” Минздрава России, Россия, 125167, Москва, Новый Зыковский проезд д. 4, +7(916)361-60-96, sapega@phystech.edu

² Московский физико-технический институт, Россия, 141700, Долгопрудный, Институтский пер., д.9

В каждой клетке живого организма функционирует система внутриклеточной сигнализации. Она обеспечивает разнообразные ответы клетки на поступающие извне сигналы: изменение метаболизма, перестройка цитоскелета, деление, дифференцировка, апоптоз или уход от него [1]. Всякая система представляет собой сеть каскадных биохимических реакций, эстафетным образом передающих информацию от клеточной мембраны к ядру. Нарушения работы сигнальной системы играют значительную роль в

канцерогенезе, приводя к злокачественному перерождению клеток [2, 3]. Поэтому теоретический анализ пороговой активации каскада PI3K-Akt-mTOR представляется крайне важным..

В докладе представлена упрощённая граф-схема внутриклеточной сигнализации каскада PI3K-Akt-mTOR, построенная на основании данных из работы [4]. Целью настоящего исследования было отыскание условий динамической и параметрической потери устойчивости фосфоинозитид-3-киназного каскада. Составленная феноменологическая модель активации рассматриваемого сигнального пути описывалась системой ОДУ. Исследование фазового портрета системы в отсутствие экзогенной стимуляции позволило судить об условиях потери устойчивости в терминах модели. При анализе случая ненулевой внешней стимуляции получено явное выражение для величины порога динамической дестабилизации сигнального пути PI3K-Akt-mTOR. На основе данных о биохимических последствиях ряда генетических мутаций удалось классифицировать их по влиянию на величину порога динамической дестабилизации. Составлена таблица, содержащая оценки возможного влияния ряда известных терапевтических агентов на величину порога потери устойчивости каскада PI3K-Akt-mTOR, которая, по нашему мнению, может представлять клинический интерес.

Авторы благодарят коллег из лаборатории молекулярной гематологии д.б.н. А.Б.Сударикова и к.б.н. И.А.Якутика за ценные консультации.

Работа поддержана Российским научным фондом (грант №19-11-00260).

1. Jordan JD, Landau EM, Iyengar R. Signaling networks: the origins of cellular multitasking. // Cell 2000. 103(2): p 193.
2. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation // Cell – 2011. – 144(5): pp 646-74.
3. Giancotti FG. Deregulation of cell signaling in cancer // FEBS letters. – 2014. – 588(16): pp 2558-70.
4. И.А. Якутик, Л.С. Аль-Ради, Б.В. Бидерман, Е.А. Никитин, А.Б. Судариков. Мутации в генах MAP-киназ при волосатоклеточном лейкозе и лимфоме из клеток красной пульпы селезенки. Гематология и трансфузиология. – 2018. – Т. 63: с. 112.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННОГО МУКОЗИТА

THE EFFICACY OF PHOTOBIO-MODULATION (LLLT) FOR CORRECTION OF RADIATION-INDUCED MUCOSITIS

Е.С. Седова¹, В.И. Юсупов², Н.Н. Воробьева², А.В. Масленникова¹

¹ГБОУ ВО «ПИМУ МЗ РФ», Нижний Новгород, Pavlov.med88@gmail.com

² Институт фотонных технологий РАН, ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, Москва

Мукозит слизистой оболочки полости рта является наиболее частым и значимым осложнением лучевой терапии рака оррофарингеальной области. Мукозит тяжелой степени существенно снижает качество жизни, требует дорогостоящей сопроводительной терапии и может быть причиной незапланированных перерывов в лечении, что негативно сказывается на прогнозе заболевания. Исследования низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) в отношении слизистой оболочки полости рта доказали его эффективность для снижения частоты и тяжести мукозита, уменьшения его продолжительности и выраженности болевого синдрома. В большинстве работ воздействие НИЛИ оценивалось только по одному или двум критериям при различных параметрах лазерного воздействия (длина волны, интенсивность, зона воздействия, длительность сеансов и интервалы между ними), что существенно затрудняет сравнение и интерпретацию результатов. Во всех исследованиях, изучавших эффективность НИЛИ в этом направлении, использовали плотность энергии НИЛИ не ниже 1 Дж/см². Однако существуют данные, что более низкие дозы (менее 1 Дж/см²) также обладают эффектом стимуляции регенерации тканей, в то время как более высокие дозы ингибируют ее.

Целью исследования было сравнение эффективности низкоинтенсивного лазерного излучения красного и инфракрасного диапазона при плотности энергии менее 1 Дж/см² для коррекции мукозита у пациентов, получающих лучевую и химиолучевую терапию по поводу рака полости рта и глотки. В исследование были включены 106 пациентов, которые случайным образом были разделены на три группы. В первой группе (n=37) проводилась профилактика и коррекция мукозита в соответствии со стандартами клиники, во второй (n=36) и третьей (n=33) пациентам дополнительно проводилось воздействие на полость рта низкоинтенсивным лазерным излучением на длине волны 635 нм в дозе 0,3 Дж/см² (профилактический режим) и 0,45 Дж/см² (лечебный режим). На длине волны 780 нм доза составляла 0,6 Дж/см² при профилактическом режиме и 0,8 Дж/см² при лечебном воздействии, соответственно. Лучевая терапия проводилась на линейных ускорителях (6 МэВ) и гамма-аппарате (Co⁶⁰) в режиме стандартного фракционирования. Большинству пациентов (72 человека) был проведен курс химиолучевой терапии, 34 пациентам была проведена только лучевая терапия. Суммарно-очаговая доза составила от 64 Гр до 70 Гр в зависимости от плана облучения. Предоперационный курс лучевой терапии (СОД 44-46 Гр) получили 4 пациента, послеоперационный (СОД 44-50 Гр) – 18

пациентов. В группе стандартной коррекции мукозит 1-й степени наблюдался в 5,4% случаев (2 пациента), 2-й степени – в 56,8% (21 пациент), 3-й степени – в 37,8% (14 пациентов). В группе с дополнительным воздействием НИЛИ на длине волны 635 нм частота мукозита 1-й степени составила 19,4% (7 пациентов), 2-й степени – 55,6% (20 пациентов), 3-й степени – 8,3% (3 пациента). Шесть пациентов (16,7%) завершили лечение без осложнений. Различия между группой стандартной коррекции мукозита и группой НИЛИ 635 нм по критерию χ^2 оказались статистически значимыми ($p=0,002$). В группе, где пациентам проводилось воздействие на длине волны 780 нм, частота мукозита 1-й степени составила 15,2% (5 пациентов), 2-й степени – 63,6% (21 пациента), 3-й степени – 15,2% (5 пациентов) и два пациента (6%) завершили лечение без осложнений со стороны. Статистически значимых различий по критерию χ^2 по сравнению с группой стандартной коррекции мукозита выявлено не было ($p=0,06$). При анализе момента появления первых симптомов мукозита была выявлена статистически значимая разница по сравнению с группой стандартной коррекции как в группе воздействия НИЛИ на длине волны 635 нм, так и на длине волны 780 ($p<0,05$).

Было показано статистически значимое уменьшение продолжительности мукозита 3-й степени ($4,3\pm 1,5$ дня) в группе с дополнительным лазерным воздействием на длине волны 635 нм по сравнению с группой стандартной коррекции ($9,3\pm 3,8$ дня). В группе с воздействием на длине волны 780 нм средняя продолжительность мукозита 3-й степени составила $11,4\pm 10,8$ дня, статистически значимых различий по сравнению с группой стандартной коррекции по критерию Манн-Уитни выявлено не было ($p>0,05$). В группе стандартной коррекции мукозита развитие болевого синдрома потребовало введения наркотических анальгетиков (трамадол) у 9-ти пациентов (24,3%). В группе воздействия НИЛИ на длине волны 635 нм введение трамадола для купирования болевого синдрома потребовалось трем пациентам (8,3%). При сравнении выраженности болевого синдрома в группе с дополнительным воздействием НИЛИ на длине волны 635 нм и в группе стандартной коррекции была выявлена статистически значимая разница по критерию χ^2 ($p=0,003$). В группе использования НИЛИ на длине волны 780 нм болевой синдром, потребовавший введения трамадола, развился у двух пациентов (6,0%). При сравнении данных по купированию болевого синдрома была выявлена статистически значимая разница между группами в пользу группы НИЛИ 780 нм ($p=0,003$).

НИЛИ на длине волны 635 нм статистически значимо уменьшило частоту и тяжесть лучевого мукозита, увеличило время до момента появления его первых симптомов, сократило длительность мукозита 3-й степени и снизило потребность пациентов в обезболивающих препаратах, в том числе и наркотических анальгетиках по сравнению с группой, получавшей стандартную профилактику и коррекцию мукозита. НИЛИ на длине волны 780 нм по сравнению с группой стандартной коррекции статистически значимо увеличило время до появления первых симптомов мукозита и уменьшило выраженность болевого синдрома.

НОВЫЙ ПРОДУКТ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА 2-ГЕКСАДЕЦЕНАЛЬ РЕГУЛИРУЕТ ФУНКЦИИ НЕЙТРОФИЛОВ

A NEW PRODUCT OF OXIDATIVE STRESS 2-HEXADECENAL REGULATES NEUTROPHILS' FUNCTIONS

Семенкова Г.Н.¹, Амазгбери Н.В.¹, Лисовская А.Г.², Гусакова С.С.¹, Шадыро О.И.¹

¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь, E-mail: galina_semenkova@yahoo.com

²Университет Нотр Дам, Нотр Дам, США, E-mail: alisousk@nd.edu

2-Гексадеценаль (2-ГД) – ненасыщенный альдегид, который образуется в организме из сфингозин-1-фосфата (С1Ф) под действием фермента С1Ф-лиазы. Изменение активности этого фермента будет приводить к нарушению баланса С1Ф/2-ГД, что может выражаться в изменении функциональной активности клеток. Так, С1Ф усиливает пролиферацию и ангиогенез, а 2-ГД является индуктором апоптоза, что было показано для клеток НЕК293Т, HeLa, NIH3T3 и клеток глиомы крысы С6 [1, 2]. Ранее нами выявлен ферментативный путь образования 2-ГД в результате свободнорадикальной деструкции ряда сфинголипидов в условиях оксидативного стресса, обусловленного действием γ -, УФ-излучения и хлорноватистой кислоты. Было установлено, что добавление НОС1/ОСГ к эритроцитам, клеткам НЕК293Т и С6, а также к водным дисперсиям сфингозина, сфингозилфосфорилхолина и С1Ф приводит к образованию нестабильных хлораминов, которые быстро разлагаются посредством продукции N-центрированных радикалов с превращением в 2-ГД [3].

Основным источником НОС1 в организме является миелопероксидаза, которая максимально представлена в нейтрофилах. Эти клетки мигрируют в очаги воспаления, которые формируются при травмах, инсульте, инфекционных, нейродегенеративных, онкологических и других заболеваниях, осуществляя киллинг чужеродного материала посредством генерации активных форм кислорода и хлора (АФКХ). Следовательно, нейтрофилы, являясь источником хлорноватистой кислоты, могут быть мишенью для 2-ГД в условиях оксидативного стресса. Изучение влияния 2-ГД на функции нейтрофилов явилось целью данного исследования.

С использованием люминолзависимой хемилюминесценции определено влияние 2-ГД на генерацию АФКХ в стимулированных к фагоцитозу нейтрофилах. Установлено, что исследуемый альдегид в низких

концентрациях (до 0,35 мкмоль/л) оказывает праймирующее действие на клетки, усиливая продукцию АФКХ, а в более высоких (35–100 мкмоль/л) – значительно подавляет этот процесс. С применением специфических ингибиторов ферментов показано, что праймирующее действие 2-ГД связано с повышением вклада НАДФН-оксидазы и миелопероксидазы в этот процесс. В образовании АФКХ клетками, обработанными 2-ГД, вовлечены также фосфолипаза А₂, ферменты метаболизма арахидоновой кислоты (циклооксигеназа 2, липоксигеназа) и проапоптотический белок JNK-МАПК.

Снижение выхода АФКХ при более высоких концентрациях 2-ГД не было связано с цитотоксическим действием исследуемого альдегида. Мы предположили, что наблюдаемый эффект обусловлен ослаблением функциональной активности нейтрофилов после обработки 2-ГД (35 мкмоль/л и более). Методом флуоресценции с применением зонда JC-1 показано, что 2-ГД в диапазоне концентраций от 35 до 100 мкмоль/л вызывает дозозависимое уменьшение мембранного митохондриального потенциала, что свидетельствует о подавлении биоэнергетической эффективности митохондрий, что может быть обусловлено запуском апоптоза.

Стимуляция нейтрофилов к фагоцитозу и индуцирование апоптоза сопряжены с модификацией цитоскелета и увеличением уровня несвязанных ионов кальция в цитоплазме ($[Ca^{2+}]_i$). С использованием Alexa Fluor 532 Phalloidin и конфокальной микроскопии выявлено, что 2-ГД во всем диапазоне анализируемых концентраций вызывает перераспределение F-актина в сторону его значительного увеличения. С помощью флуоресцентного зонда Fura 2-AM зарегистрировано дозозависимое повышение $[Ca^{2+}]_i$. Методом проточной цитометрии с использованием набора Annexin V-FITC показано, что 0,35 мкмоль/л 2-ГД не влияет, а 35 мкмоль/л повышает число апоптотических клеток в образце приблизительно в два раза.

Анализируя все сказанное выше, можно заключить, что продукт свободнорадикальной фрагментации сфинголипидов 2-ГД оказывает двойственное влияние на функции нейтрофилов посредством модификации процессов внутриклеточной сигнализации. С одной стороны, этот альдегид в низких концентрациях оказывает праймирующее действие на клетки, способствуя повышению уровня АФКХ. С другой стороны, 2-ГД при более высоких концентрациях индуцирует апоптоз, что коррелирует со значительным увеличением несвязанных ионов кальция в цитоплазме, уменьшением продукции активных метаболитов кислорода и хлора и снижением мембранного потенциала митохондрий. Оба эти процесса сопряжены с реорганизацией цитоскелета.

Учитывая тот факт, что образование 2-ГД инициируется НОС1, гиперпродукция которой имеет место при оксидативном стрессе, можно предположить, что этот альдегид играет важную роль в развитии воспаления, одновременно являясь его маркером. Подтверждение этого предположения требует дальнейшего исследования 2-ГД *in vivo* и *in vitro* с целью расширения представлений о его биологической роли.

1. Kumar A. et al. The sphingolipid degradation product trans-2-hexadecenal induces cytoskeletal reorganization and apoptosis in a JNK dependent manner // Cell Signal. 2011. Vol. 23. P.1144-1152.
2. Amaegberi N.V. et al. 2-Hexadecenal inhibits growth of C6 glioma cells // Cell Biochem. Funct. 2019. P. 1–9.
3. Shadyro O. et al. Free-radical destruction of sphingolipids resulting in 2-hexadecenal formation // Lipid Insights. 2015. Vol. 8. P.1-9.

СУПЕРОКСИДГЕНЕРИРУЮЩАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ АВТООКИСЛЕНИЯ АДРЕНАЛИНА – МОДЕЛЬ ХИНОИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ КАТЕХОЛАМИНОВ И ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

THE SUPEROXIDE-GENERATING CHAIN REACTION OF ADRENALINE AUTOXIDATION IS A MODEL OF QUINOID CATECHOLAMINES OXIDATION AND ITS USE

Сирина Т.В.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино, e-mail: sirotatv@rambler.ru

Реакция автоокисления адреналина в щелочной среде моделирует процесс хиноидного окисления катехоламинов (КА). Процесс происходит через ряд последовательных этапов с образованием промежуточных соединений до конечного продукта адренохрома или более глубокого окисления до адренолутина. Эти химические превращения сопровождаются высвобождением электронов, которые реагируют с растворенным в среде кислородом в результате чего образуются супероксид анионы ($O_2^{\bullet-}$) [1, 2]. Эта реакция известна как супероксидгенерирующая и супероксиддетектирующая. Нами были разработаны новые подходы использования этой реакции для определения как активности СОД, так и детектирования про/антиоксидантных свойств различных соединений: предложена иная длина волны для определения конечного продукта реакции 347 нм, проведены полярографические исследования, применен тетразолий нитросиний для непосредственной идентификации $O_2^{\bullet-}$ [2, 3, 4]. Выполненные исследования позволяют предложить наши разработки для методического использования [4].

Важно, что этот нетривиальный путь хиноидного окисления КА при определенных условиях происходит и в организме. Известно, что при избыточном метаболизме КА имеет место нейро- и кардиотоксичность, поскольку происходит образование токсичных аминохромов и АФК, которые при

недостаточности антиоксидантной защиты могут вызывать окислительный стресс и воспаление. Метаболиты хиноидного окисления адреналина имеют отношение к этиологии шизофрении. А один из механизмов этиопатогенеза болезни Паркинсона (БП) связывают с процессом хиноидного окисления катехоламина дофамина. Процесс происходит в дофаминэргической нейронах, а также астроцитах и микроглии в определенных структурах мозга (*s.nigra*, *locus ceruleus*, *nucleus dorsalis n. vagus*). Эти структуры содержат меланин (он же нейромеланин, «темный пигмент»), продукт дальнейшего химического превращения аминокрома дофамина. Избыточное его образование характерно при БП. Этот путь превращения КА описывается «как доклиническая модель БП для поиска нового фармакологического лечения, которое остановило бы развитие этого заболевания» [6, 7]. Модельная реакция автоокисления КА адреналина могла бы использоваться, таким образом, и для поиска нейропротекторов.

В развитии БП, как известно, участвуют и ионы металлов переменной валентности (марганец, железо). Используя модельную реакцию автоокисления адреналина, нами было показано, что биологически активные ионы металлов с постоянной валентностью, Ca^{2+} и Mg^{2+} , активируют процесс хиноидного окисления КА [8], что может происходить, вероятно, и в нейронах, поскольку, ионы кальция непосредственно участвуют в синаптической передаче.

Первопричина возникновения БП неизвестна, болезнь прогрессирующая, биохимия очень сложная, необходим поиск путей ее торможения. Разработанная нами простая модель в какой-то минимальной мере, возможно, сможет внести свой вклад в борьбе с этим недугом.

1. Misra H.P., Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase // J.Biol.Chem. 1972. V.247. P. 3170.
2. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы // Вопр.Мед.Хим. 1999. Т.45. С. 263.
3. Сирота Т.В. Патент на изобретение № 2144674. Способ определения антиоксидантной активности супероксиддисмутазы и химических соединений. 1999.
4. Сирота Т.В. Стандартизация и регуляция скорости супероксидгенирующей реакции автоокисления адреналина, используемой для определения про/антиоксидантных свойств различных материалов // Биомедицинская химия. 2016. Т.62. С.650.
5. Muñoz P. et al. Dopamine oxidation and autophagy // Parkinsons Dis. 2012;2012:920953. doi: 10.1155/2012/920953.
6. Santos C. C. et.al. (2017). Aminochrome induces microglia and astrocyte activation //Toxicology in Vitro. 2017. V. 42. P.54. DOI: 10.1016/j.tiv.2017.04.004
7. Segura-Aguilar J., Huenchuguala S. Aminochrome Induces Irreversible Mitochondrial Dysfunction by Inducing Autophagy Dysfunction in Parkinson's Disease // Front Neurosci. 2018. 12:106. doi: 0.3389/fnins.2018.00106.
8. Сирота Т. В. Действие ионов металлов с постоянной валентностью на свободнорадикальный процесс автоокисления адреналина. Биофизика. 2016. Том, 61. С.22-27.

СОЗДАНИЕ МОДЕЛЕЙ ОПУХОЛИ ЖИВОТНЫХ СО СТАБИЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ РЕЦЕПТОРА ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВЫХ ТАРГЕТНЫХ ПРЕПАРАТОВ

DEVELOPMENT OF ANIMAL TUMOR MODELS POSSESSING STABLE EXPRESSION OF THE EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR FOR THE STUDY OF THE EFFECACY OF NEW TARGETED DRUGS

Сластникова Т.А.¹, Розенкранц А.А.^{1,2}, Храпцов Ю.В.¹, Уласов А.В.¹, Соболев А.С.^{1,2}

¹ – ИБГ РАН, 119334, г. Москва, ул. Вавилова, д. 34/5 e-mail: tslast@genebiology.ru

² – биологический факультет МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12.

Абсолютное большинство физических факторов, представляющих интерес для противоопухолевой терапии (фотодинамическая терапия, эмиттеры электронов Оже, эмиттеры альфа-частиц, бор-нейтрон захватная терапия), нуждаются в эффективной адресной доставке в раковые клетки-мишени. Рецептор эпидермального фактора роста (рЭФР), сверхэкспрессия которого характерна для многих видов раковых опухолей, является одной из типичных мишеней, позволяющей системе адресной доставки «узнать» раковую клетку и попасть внутрь неё.

Необходимым этапом разработки систем адресной доставки физических факторов, повреждающих опухоль, является оценка их эффективности *in vivo* на животных с экспериментальными опухолями, экспрессирующими целевой рецептор. Однако, отсутствие распространенных мышинных раковых линий, экспрессирующих рЭФР, ограничивает исследования *in vivo* дорогостоящими и не всегда адекватными из-за отсутствия полноценной иммунной системы исследованиями на иммунодефицитных животных с ксенографтами на основе раковых клеток человека, экспрессирующих рЭФР [1,2]. Поэтому целью данной

работы было создание модели опухоли животных, стабильно экспрессирующих рЭФР человека. Для достижения данной цели необходимо было получить мышиную клеточную линию со стабильной экспрессией рЭФР и способностью к рецептор-опосредованному эндоцитозу лигандов рЭФР.

В качестве модельной клеточной линии были выбраны клетки мышинной меланомы Клаудмана S91 (клон М3), обладающие способностью образовывать опухоли у сингенных мышей DBA/2. На первом этапе клетки М3 были трансдуцированы предварительно полученными лентивирусными частицами, несущими ген рЭФР человека. Стандартное клонирование по продукции РНК целевого гена не привело выявлению клонов, способных связывать меченный иодом-125 ЭФР, поэтому для отбора клеток, содержащих функциональный рЭФР, общая популяция трансдуцированных клеток была помечена ЭФР-содержащей системой адресной доставки (модульным нанотранспортером), конъюгированной с флуорофором. 5% популяции клеток с наибольшей флуоресценцией были отобраны при помощи проточного цитометра-сортера, выращены и отобраны таким же образом ещё раз. На следующем этапе из отобранных клеток были получены единичные колонии в 96-луночных планшетах, наиболее перспективные колонии были отобраны по эффективности связывания ^{125}I -ЭФР, путем анализа распределения радиоактивности в лунках планшетов при помощи фосфоримеджера. Семь отобранных таким образом клонов были выращены и дважды отобраны по способности к специфическому связыванию с ^{125}I -ЭФР. Для отобранных в результате трех клонов при помощи радиолигандного анализа было показано наличие 8,7 - 18,8 тысяч мест связывания ЭФР на клетку при константах диссоциации в пределах 2,8 - 14 нМ, по данным расчетов с использованием модели конкуренции двух лигандов за один рецептор в равновесии. На одном из полученных клонов была исследована специфическая интернализация нескольких разных нацеленных на рЭФР систем адресной доставки – модульных нанотранспортеров, содержащих в качестве лигандного модуля ЭФР или анти-рЭФР аффибоди. Все три полученных линии оказались способны вызывать опухоли у мышей линии DBA/2J после подкожной инокуляции. При помощи иммуногистохимического окрашивания срезов данных опухолей было показано сохранение экспрессии рЭФР полученных клонов *in vivo*.

В результате нами была успешно создана модель мышинной меланомы со стабильной экспрессией рЭФР человека, подходящая для проведения исследований эффективности нацеленных на рЭФР таргетных препаратов *in vivo*.

Работа выполнена при поддержке средств гранта РФФИ № 17-14-01304. При работе было использовано оборудование Центра коллективного пользования ИБГ РАН и оборудование, полученное по программе развития МГУ. Авторы выражают благодарность В.А. Писаревой за помощь в проведении экспериментов по иммуноцитохимическому окрашиванию и микроскопии.

1. Slastnikova T.A. et al. Modular nanotransporters: a multipurpose *in vivo* working platform for targeted drug delivery //Int J Nanomed. 2012. Vol. 7. P. 467.
2. Rosenkranz A.A. et al. Antitumor activity of Auger electron emitter ^{111}In delivered by modular nanotransporter for treatment of bladder cancer with EGFR overexpression //Front Pharmacol. 2018. Vol. 9. №. 1331.

НАНОЧАСТИЦЫ ВОДНОЙ ДИСПЕРСИИ ФУЛЛЕРЕНА C₆₀: ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ И НАНОЗИМНЫХ СВОЙСТВ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫМ МЕТОДОМ NANOPARTICLES OF AN AQUEOUS DISPERSION OF FULLERENE C₆₀: RESEARCH OF ANTIOXIDANT AND NANOSYMAL PROPERTIES BY THE CHEMILUMINESCENT METHOD

Созарукова М.М.¹, Михеев И.В.², Нагаева О.А.², Матвеев А.И.², Проскурнина Е.В.²

¹Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, Москва, E-mail: S_MadinaM@bk.ru

²Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, E-mail: proskurnina@gmail.com

Актуальность. В настоящее время нанопрепараты (частицы размером 1–1000 нм) все активнее применяются для целей профилактики, диагностики, а также лечения различных заболеваний. Основная функция наночастиц — адресная доставка биохимически активного компонента и обеспечение контролируемого высвобождения. Несмотря на столь возросший интерес к наномедицине и рост числа нанофармпродуктов, не каждый из предлагаемых наноматериалов пригоден для биомедицинского применения. Это связано, в первую очередь, с недостаточно полным анализом их безопасности: прямой токсичности, а также воздействия на гомеостаз. Наряду с оксидативным стрессом, все более активно используется термин «свободнорадикальный гомеостаз», подчеркивающий физиологическое значение баланса между радикал-продуцирующими и антирадикальными системами. Поэтому, любые потенциальные фармацевтические препараты для целей диагностики и терапии должны быть охарактеризованы по своей про- или антиоксидантной активности, поскольку могут влиять на соотношение про- и антиоксидантов.

Цель работы состояла в исследовании антиоксидантных и нанозимных (СОД-, пероксидазо-/каталазо-подобные активности) свойств водной дисперсии фуллерена C₆₀ в различных биохимических моделях хемилюминесцентным методом.

Методы исследования. Водная дисперсия фуллерена C_{60} (ВДФ C_{60}) была получена по запатентованной методике [1]. Регистрацию хемилюминесценции (ХЛ) проводили на приборе Lum-5773 (ДИСофт, Россия). **Антиоксидантную емкость** исследуемого образца определяли в системе генерации свободных радикалов 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорида (АБАП) в присутствии ХЛ-зонда — люминола в среде фосфатного буферного раствора (ФБР, pH 7,4). Методика описана в [2]. Свечение регистрировали до достижения стационарного уровня при 37°C, затем добавляли аликвоту нанопрепарата. В качестве аналитического сигнала была выбрана разность интенсивностей стационарных уровней: $\Delta I = I_0 - I$, где I_0 и I , $\times 10^3$ имп/с — интенсивности ХЛ до и после внесения аликвоты образца в систему, соответственно. В качестве антиоксиданта сравнения использовали мексидол (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинат). **СОД-подобную активность** оценивали в системе генерации супероксид-анион радикала: ксантин + ксантинооксидаза + люцигенин (ХЛ-зонд). В среде ФБР смешивали ксантин, люцигенин и различные концентрации анализируемой пробы, затем регистрировали ХЛ при 37°C в течение 60–100 с, после чего, не прерывая измерения, добавляли ксантинооксидазу. Аналитический сигнал — разность площадей под ХЛ-кривыми: $\Delta S = S_0 - S$, где S_0 и S , $\times 10^3$ имп — площади под ХЛ-кривыми контрольного опыта и с добавлением нанопрепарата, соответственно. Сравнение проводили с индивидуальным ферментом супероксиддисмутазой (СОД).

Результаты и обсуждение. При анализе антиоксидантных свойств в системе АБАП + люм получена линейная зависимость аналитического сигнала от концентрации ВДФ C_{60} : $\Delta I = (0.081 \pm 0.011) \times c$ (ВДФ C_{60} , мкмоль/л) + (0.008 ± 0.002) , $r = 0.997$. По данной зависимости была определена концентрация полуподавления ХЛ — $c_{0,5}$, которая может служить условной характеристикой силы слабого антиоксиданта: $c_{0,5}$ (ВДФ C_{60}) = 9.4 мкмоль/л. Для мексидола данный параметр оказался равным $c_{0,5} = 34.0$ мкМ. В случае оценки СОД-подобной активности в системе ксантин + ксантинооксидаза + люцигенин также получена линейная зависимость аналитического сигнала от концентрации ВДФ C_{60} : $\Delta S = (21.00 \pm 4.83) \times c$ (ВДФ C_{60} , мкмоль/л) + (1.29 ± 0.33) , $r = 0.998$. Так, антиоксидантная емкость ВДФ C_{60} и СОД по отношению к нейтрализации супероксидного анион-радикала при $\Delta S = 100$ составила 4.70 мкмоль/л и 4.13 нмоль/л, соответственно. По сравнению с СОД активность ВДФ C_{60} примерно на 3 порядка ниже.

Выводы. Водная дисперсия фуллерена C_{60} обладает слабыми антиоксидантными свойствами по отношению к органическим радикалам и умеренной СОД-подобной активностью.

1. Коробов М.В., Михеев И.В., Проскурнин М.А., Волков Д.С. Способ получения концентрированных водных дисперсий немодифицированных фуллеренов. 2015. #2570083.
2. Alekseev A.V., E.V. Proskurnina, Y.A. Vladimirov, Determination of Antioxidants by Sensitized Chemiluminescence Using 2,2'-azo_bis(2_amidinopropane) // Moscow University Chemistry Bulletin 67. 2012. P. 127.

ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ СЛЮНЫ CHEMILUMINESCENCE ANALYSIS OF SALIVA ANTIOXIDANT PROPERTIES

Соколова С.В.¹, Созарукова М.М.², Портнова Г.В.³, Проскурнина Е.В.¹

¹ Факультет фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва

² Институт общей и неорганической химии имени Н.С. Курнакова РАН, Москва

³ Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

Актуальность. Совокупность биохимических реакций с участием свободных радикалов, или свободнорадикальный гомеостаз, играет значимую роль как для физиологической жизнедеятельности организма на всех его уровнях, так и для различных патологических состояний. Всё большее значение приобретает необходимость оценки свободнорадикального гомеостаза в клинической лабораторной диагностике в виде описания свободнорадикального профиля пациента. Аналитическим методом, позволяющим оценить антиоксидантную ёмкость пробы, является кинетическая хемилюминесцентная фотометрия. Ценным аналитическим материалом является слюна благодаря простому, быстрому, малоинвазивному и безопасному забору из организма, что делает его возможным у пациентов при разных состояниях, а также вне зависимости от внешних условий. Слюна представляет локальный свободнорадикальный гомеостаз, а кровь — системный. Слюна может передавать текущее физиологическое состояние человека: в неё из крови попадает большинство соединений благодаря механизмам транспорта и внеклеточной ультрафильтрации в слюнных железах; биологические процессы и клеточные компоненты в крови и слюне во многом сходны [1]. То есть, локальный свободнорадикальный гомеостаз слюны может отражать состояние системного свободнорадикального гомеостаза. Таким образом, исследование антиоксидантного профиля (АОП) слюны пациента методом кинетической хемилюминесценции может рассматриваться как диагностическая методика, перспективная для внедрения в клиническую лабораторную практику.

Цель исследования. Разработка протокола исследования антиоксидантного профиля слюны с использованием метода кинетической хемилюминесценции.

Материалы и методы. Слюну брали у 13 практически здоровых доноров (12 мужчин от 20 до 25 лет и 1 женщина 32 лет). Критерий исключения: наличие воспалительных процессов в ротовой полости. В течение 3 часов до взятия образца доноры воздерживались от приёма пищи, жевательной резинки, курения. Материал собирали в пробирку Эппендорф объёмом 1,5 мл, хранили при -20°C , и после размораживания центрифугировали в течение 5 минут на 3000 об/мин. Отбирали надосадочную жидкость, непосредственно перед исследованием её разбавляли в буферном растворе $\text{K}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$ в 10 раз. Для оценки антиоксидантной активности использовали методику хемилюминесцентного (ХЛ) анализа, разработанную ранее для плазмы крови [2]. ХЛ-анализ проводили с помощью хемилюминометра “SmartLum 5773” (“ДИСофт”) с программным обеспечением “PowerGraph 3.0”. В качестве аналитической кривой получали хемилюминограмму, из которой вычисляли площадь подавления свечения, отражающую емкость сильных антиоксидантов, и разность между конечным и начальным уровнем ХЛ, отражающую емкость слабых антиоксидантов. Для исследования природы подавления свечения в слюне проводили ингибиторный анализ с использованием уриказы и аскорбатоксидазы.

Результаты и обсуждение. Показано, что антиоксидантные профили (АОП) слюны и плазмы крови отличаются. АОП плазмы крови даёт возможность расчёта трёх параметров, в то время как в АОП слюны можно выделить два параметра: площадь подавления свечения (S) и разность начального и конечного уровня ХЛ (ΔI). При этом у практически здоровых доноров ΔI равно 0, в то время как для плазмы крови референтный интервал составляет 1,2 – 2,2. Для площади подавления свечения S, медиана равна 60,94 и $\text{IQR} = 52,94$ ($Q_1 = 35,83$; $Q_3 = 88,77$). Опыты с уриказой и аскорбатоксидазой показали, что подавление свечения при ХЛ-анализе слюны здоровых доноров обусловлено присутствием в ней мочевой кислоты, как и в плазме крови.

Таким образом, можно говорить о частичной схожести между антиоксидантным профилем слюны и плазмы крови, обусловленной присутствием в них мочевой кислоты. Для понимания имеющихся различий в антиоксидантных профилях слюны и плазмы крови и возможностей использования слюны с диагностической целью необходимы дальнейшие исследования.

Работа поддержана грантом РФФИ №18-00-01511.

1. Spielmann N., Wong D.T. Saliva: diagnostics and therapeutic perspectives // Oral Dis. 2011. Vol. 4. P. 345–354.
2. Созарукова М.М., Полимова А.М., Проскурнина Е.В., Владимиров Ю.А. // Изменения в кинетике хемилюминесценции плазмы, как мера системного окислительного стресса в организме человека // Биофизика. 2016. Т. 61. С. 337–344.

АНАЛИЗ ФАЗОВЫХ ВЗАИМОСВЯЗЕЙ МЕЖДУ КОЛЕБАТЕЛЬНЫМИ ПРОЦЕССАМИ В СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЕ ЧЕЛОВЕКА

ANALYSIS OF PHASE INTERACTIONS BETWEEN OSCILLATORY PROCESSES IN HUMAN CARDIOVASCULAR SYSTEM

Танканаг А.В., Гриневич А.А., Тихонова И.В., Чемерис Н.К.

Институт биофизики клетки Российской академии наук - обособленное подразделение ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пуцинский научный центр биологических исследований РАН» РАН, Пушкино, Россия, E-mail: tav@icb.psn.ru

В сердечно-сосудистой системе человека регистрируются колебания различного происхождения, которые могут нести информацию о регуляторных процессах в организме. Например, анализ вариабельности сердечного ритма (ВСР) позволяет оценить вклад симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы в регуляцию сердечной деятельности. Кроме того, существуют различные методики оценки периферической гемодинамики, которые в последние годы приобретают высокую диагностическую значимость. В настоящее время существует две основных неинвазивных технологии для проведения подобных исследований: лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) и фотоплетизмография (ФПГ). Метод ЛДФ позволяет оценить параметры микроциркуляторного кровотока в коже исследуемого участка, тогда как фотоплетизмограмма, с одной стороны, несет информацию о регуляции в периферических сосудах кожи (локальный уровень), а с другой – отражает влияние системных процессов вегетативной регуляции, поскольку основным фактором, модулирующим кровенаполнение, является сердечный выброс. Таким образом, мы полагаем, что комплексный анализ ВСР, ЛДФ- и фотоплетизмограмм, зарегистрированных одновременно, позволит получить новые диагностические критерии для оценки состояния сердечно-сосудистой системы, поскольку, фазовые соотношения между колебательными процессами при патологиях могут быть существенно нарушены по сравнению с физиологической нормой.

Целью настоящего исследования было оценить фазовые взаимоотношения между колебаниями в сердечно-сосудистой системе человека по данным фотоплетизмографии, лазерной доплеровской флоуметрии и электрокардиографии.

В исследовании принимали участие 22 условно здоровых испытуемых (9 женщин и 13 мужчин, средний возраст 33 ± 8 лет) нормального телосложения без острых и хронических патологий. Исследование проводили в тихой комнате при 20-24 °С после 20-минутной предварительной адаптации. Во время измерения участники находились в положении лежа на спине. Для каждого испытуемого одновременно регистрировали четыре 15-ти минутные записи – электрокардиограмму (ЭКГ), дыхательный ритм, ЛДФ-грамму и фотоплетизмограмму. Скорость кожного кровотока регистрировали при помощи доплеровского флоуметра ЛАКК-02 («ЛАЗМА», Россия, длина волны 1.06 мкм, мощность излучения 1.2 мВт). При помощи аппаратно-программного комплекса «ВНС-Микро» («Нейрософт», Россия) регистрировали ЭКГ во II стандартном отведении и дыхательный ритм – посредством температурного датчика, расположенного в области рта и носа. Для последующего анализа электрокардиограммы подвергали обработке с целью обнаружения QRS-комплексов и преобразования в последовательности RR-интервалов. Динамику кровенаполнения регистрировали при помощи фотоплетизмографа «Ангиоскан» («Ангиоскан-Электроникс», Россия, длины волн 665 и 935 нм). Степень фазовой синхронизации всех зарегистрированных сигналов определяли по величине функции фазовой вейвлет-когерентности.

В ходе проведенного исследования обнаружена высокая фазовая синхронизация между колебаниями скорости микроциркуляторного кровотока кожи и динамикой кровенаполнения подушечки пальца в области низких частот (0.0095 – 0.1 Гц) и на частоте сердечных сокращений (~ 1 Гц). Также выявлена высокая фазовая синхронизация между ВСР и колебаниями скорости кожного кровотока, а также между ВСР и колебаниями кровенаполнения подушечки пальца на частотах эндотелиальной (~ 0.01 Гц) и миогенной (~ 0.1 Гц) активности. На частоте респираторного ритма (~ 0.3 Гц) выявлена высокая фазовая синхронизация между ВСР и колебаниями кровенаполнения подушечки пальца, и низкая фазовая синхронизация между ВСР и колебаниями скорости кожного кровотока. Кроме того, обнаружены различия в фазовой синхронизации динамики периферического кровотока и дыхательного ритма: выявлена высокая фазовая синхронизация между дыхательным ритмом и колебаниями кровенаполнения подушечки пальца, и низкая фазовая синхронизация – между ВСР и микроциркуляторными колебаниями объемной скорости кровотока в коже. Таким образом, показаны различия в фазовой синхронизации колебаний скорости кожного кровотока и кровенаполнения мягких тканей как с ВСР, так и с ритмом дыхания, которые могут послужить основой для новых диагностических критериев оценки состояния сердечно-сосудистой системы при сосудистых патологиях.

Работа поддержана Российским Фондом Фундаментальных Исследований (грант РФФИ № 18-015-00292).

ТЕХНОЛОГИЯ НЕИНВАЗИВНОГО МОНИТОРИНГА ГЛИКЕМИИ В СМАРТ-БРАСЛЕТЕ GOBE: ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ АЛГОРИТМА

NON-INVASIVE GLYCEMIA MONITORING TECHNOLOGY IN THE GOBE SMART-BAND: THE THEORETICAL BASIS OF THE ALGORITHM

Терентюк А.Г.¹, Ушканов В.А.¹, Пономарев В.А.^{1,2}, Соколов Е.Л.¹

¹Healbe, Санкт-Петербург, E-mail (terentuk@healbe.com)

²СПбГУ, ПМ-ПУ, Санкт-Петербург

Компанией Healbe был разработан алгоритм получения оценки уровня гликемии человека в динамике, функциональный аналог технологии CGM, основанный на неинвазивном методе измерения.

Основным методом измерения является биоэлектрическая импедансная спектроскопия. При данном измерении импеданс определяется в широком диапазоне частот, и полученные данные используются для восстановления параметров эквивалентной цепи, а именно для расчета сопротивления на нулевой и бесконечной частотах. Биологические ткани представляют собой сложные по составу гетерогенные среды, и они существенно различаются по электропроводным и диэлектрическим свойствам. Эквивалентная цепь построена по принципу, основанному на физических свойствах биологических тканей: клеточные мембраны рассматриваются как условные конденсаторы, разделяющие в цепи сопротивления внеклеточной и клеточной составляющей. Параметры, соответствующие элементам цепи, затем используются в уравнениях, предложенных Ханай (1968) для прогнозирования изменения объемных составляющих различных компарментов исследуемой части организма. [1-4]

В силу того, что в организме одновременно происходят многочисленные процессы, вызванные разными причинами, как внутренними, так и внешними, остро встает вопрос об обработке и фильтрации полученных сигналов. В докладе описывается сравнение использования различных подходов спектральной обработки (такие как Фурье и вейвлетный анализ, модовые декомпозиции). Важным в очистке сигнала от шумов не физиологической природы является применение адаптивных фильтров, учитывающих данные с параллельных измерительных модулей (датчик температуры, акселерометр, гироскоп и т.д.) [5,6]

Разности осмотических и онкотических давлений определяются градиентами концентраций глюкозы, белков, инсулина и ионов, что и определяет динамику объемов основных компартментов: клетки, интерстициальной жидкости и плазмы. Данные процессы описываются в локальной модели глюкозной динамики. Модель представляет собой систему дифференциальных уравнений. Выходными данными системы является оценка концентрации глюкозы в интерстициальной жидкости. [7,8]

Интегральная модель описывает динамику распространения, секреции и утилизации глюкозы и инсулина на уровне всего организма. В ней учитываются физиологические процессы, происходящие в поджелудочной железе, ЖКТ, расход глюкозы в инсулинзависимых и инсулиннезависимых тканях, работу печени по поддержанию глюкозного гомеостаза. Входными данными для модели могут являться как количество принятой с пищей глюкозы, так и уровень гликемии в интерстиции.

В силу того, что набор параметров локальной и интегральной модели является уникальным для каждого человека, то возникает задача их подбора методами машинного обучения и регрессионного анализа.

На основании данного алгоритма будет создан измерительный модуль, интегрированный в смарт-браслет GoBe, производимый на базе компании Healbe.

1. K.S. Cole "Permeability and impermeability of cell membranes for ions." Cold Spring Harb Symp Quant Biol 8: 110-122, 1940.
2. J.R. Matthie, P.O. Withers, M.D. Van Loan and P.L. Mayclin "Development of a commercial complex bio-impedance spectroscopic system for determining intracellular water and extracellular water volumes." Proceedings of the 8th International Conference on Electrical Bio-Impedance, Kuopio, Finland, 1992, p.203- 205.
3. K. Bereneis, U. Keller, "Bioelectrical impedance analysis during acute changes of extracellular osmolality in man." Clinical Nutrition, vol. 19(5), pp. 361–366, 2000.
4. U. M. Moissl, P. Wabel, P. W. Chamney, I. Bosaeus, N. W. Levin, A. Bopsy-Westphal, ... N. J. Fuller, "Body fluid volume determination via body composition spectroscopy in health and disease." Physiological Measurement, vol. 27(9), pp. 921–933. 2006.
5. M. A. Colominas, G. Schlotthauer, M. E. Torres, "Improved complete ensemble EMD: A suitable tool for biomedical signal processing." Biomedical Signal Processing and Control, vol.14, pp.19–29. 2014.
6. Н.Т. Сафиуллин "Разработка методики анализа временных рядов с помощью преобразования Хуанга-Гильберта" УРФУ, Диссертации. Новосибирск, 193 с. 2015
7. E. Breda, M. K. Cavaghan, G. Toffolo, K. S. Polonsky, and C. Cobelli, "Oral glucose tolerance test minimal model indexes of beta-cell function and insulin sensitivity." Diabetes, vol. 50, pp. 150–8, 2001.
8. J. J. Meier, J. D. Veldhuis, and P. C. Butler, "Pulsatile insulin secretion dictates systemic insulin delivery by regulating hepatic insulin extraction in humans." Diabetes, vol. 54, pp. 1649–1656, 2005.

ТЕХНОЛОГИЯ НЕИНВАЗИВНОГО МОНИТОРИНГА ГЛИКЕМИИ В СМАРТ-БРАСЛЕТЕ GOBE: РЕАЛИЗАЦИЯ АЛГОРИТМА

NON-INVASIVE GLYCEMIA MONITORING TECHNOLOGY IN THE GOBE SMART-BAND: IMPLEMENTATION OF THE ALGORITHM

Терентюк А.Г.¹, Ушканов В.А.¹, Пономарев В.А.^{1,2}, Соколов Е.Л.¹

¹Healbe, Санкт-Петербург, E-mail (terentuk@healbe.com), ²СПбГУ, ПМ-ПУ, Санкт-Петербург

Компанией Healbe был разработан алгоритм получения оценки уровня гликемии человека в динамике, функциональный аналог технологии CGM, основанный на неинвазивном методе измерения.

Измерительный модуль, определяющий электрические параметры участка тела человека, включает два токопроводящих электрода, размещаемых на теле человека, операционный усилитель и микроконтроллер. Микроконтроллер выполнен с возможностью работы в трех режимах: в режиме измерения импеданса участка тела человека, в режиме измерения активного сопротивления кожи человека и в режиме измерения разности потенциалов между участками кожи тела человека. В режиме измерения импеданса участка тела человека микроконтроллер на выходе порта ввода-вывода обеспечивает формирование сигнала заданной частоты, на которой измеряют импеданс участка тела человека.

Включение электродов в цепь отрицательной обратной связи (ООС) операционного усилителя позволяет при заданных электрических параметрах на выходе порта ввода-вывода микроконтроллера, к которому через резистор подключен инвертирующий вход операционного усилителя, а также известных для операционных усилителей соотношениях сопротивлений во входной цепи, цепи ООС и токов в этих цепях, определять по значению выходного напряжения операционного усилителя, поступающего на вход аналого-цифрового преобразователя (АЦП) микроконтроллера, значение импеданса, активного сопротивления участка тела между электродами или разность потенциалов между участками кожи, к которым приложены электроды. Использование микроконтроллера обеспечивает формирование на выходе порта ввода-вывода требуемых электрических параметров, задающих режим измерения. [1]

Для обработки нестационарного биомедицинского сигнала используется ансамблевая эмпирическая модовая декомпозиция, которая не использует априорный базис и не требует подбор внутренних параметров преобразования. Декомпозиция представляет исходный сигнал в виде суммы компонент, которые получены с помощью адаптивных базисов преобразования, определяемых исходными данными. После разделения на компоненты проводится выделение значащих мод, представляющих собой полезный биологический сигнал. Обработанный сигнал передается в систему, содержащую локальную и интегральную модели, описанные в докладе: “Технология неинвазивного мониторинга гликемии в смарт браслете GoVe: теоретические основы алгоритма”. [2,3,4]

Алгоритм расчёта был реализован в виде программно-вычислительного комплекса, включающего в себя модули обработки сигнала, загрузки входных данных, расчета и визуализации результата.

В силу уникальности набора параметров для каждого человека, задача параметризации локальной и интегральной модели является трудоемкой, и требует применения методов машинного обучения и регрессионного анализа. На первом этапе производится подбор оптимальных коэффициентов для соответствия глюкозных кривых референсной выборке, полученной экспериментально. На втором этапе необходимо провести классификацию полученных наборов параметров по различным группам (например, разделенным по антропометрическим или географическим признакам). В последствии набор параметров будет выбираться автоматически, в зависимости от вводной информации.

Проводилось два типа тестов: стандартный тест OGTT, и повседневное ношение, при котором браслет GoVe собирал информацию, анализируя данные биоимпеданса в течение дня. В ходе исследования приводилось сравнение надежности оценки гликемии с помощью GoVe по сравнению с референсом (датчик CGM, тест полоски, лабораторные исследования). Данные были получены из эксперимента, в том числе с помощью добровольцев в лабораторных условиях. Статистический анализ был основан на подходе Бланд-Алтмана и проведен на измерениях площади под кривой (AUC) GoVe и Референса. Также был рассчитан коэффициент корреляции внутри класса. Статистические данные с экспериментов будут представлены в докладе.

Непрерывный мониторинг глюкозы проводился с помощью датчика FreeStyle Libre. Оценивали следующие параметры: средний уровень глюкозы, вариабильность уровня глюкозы. Уровень глюкозы в капиллярной крови оценивался в клинично-диагностической лаборатории АО "СЗЦДМ", кроме того, участники исследования осуществляли самоконтроль уровня глюкозы с помощью глюкометра One Touch Select (соответствует ГОСТ ISO 15197-2011).

1. Патент РФ № 2522949, 20.07.2014. Устройство для измерения электрических параметров участка тела. Патент России № 2522949. 2014. Бюл. № 20. / Мисюченко И.Л., Рубин М.С., Соколов Е.Л. Патентообладатель(и): Общество с ограниченной ответственностью "Хилби"
2. M. A. Colominas, G. Schlotthauer, M. E. Torres, “Improved complete ensemble EMD: A suitable tool for biomedical signal processing.” *Biomedical Signal Processing and Control*, vol.14, pp.19–29. 2014.
3. Н.Т. Сафиуллин “Разработка методики анализа временных рядов с помощью преобразования Хуанга-Гильберта” УРФУ, Диссертации. Новосибирск, 193 с. 2015
4. Долгаль А.С., Христенко Л.А. Применение эмпирической модовой декомпозиции при обработке геофизических данных’, *Известия Томского политехнического университета. Инжиниринг георесурсов*. 2017. Т. 328. № 1. 100–108

ПРОДУКЦИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА ПЕРИТОНЕАЛЬНЫМИ МАКРОФАГАМИ МЫШЕЙ ПРИ СОВМЕШНОМ ДЕЙСТВИИ ЛИГАНДОВ TLR2

REACTIVE OXYGEN SPECIES PRODUCTION BY MOUSE PERITONEAL MACROPHAGES AT COMBINED INFLUENCE OF TLR2 LIGANDS

Теселкин Ю.О., Хорева М.В., Бабенкова И.В.

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, E-mail: teselkin-box@mail.ru

Toll-подобный рецептор 2 (Toll-like receptor 2 – TLR2) занимает особое место среди представителей семейства TLRs. Этот рецептор экспрессируется на клетках миелоидного ряда и вовлечен в распознавание разнообразных структурных компонентов бактерий, паразитов, грибов, вирусов. TLR2 распознает эти структурные компоненты посредством образования гетеродимерных комплексов с TLR1 (TLR2/1) или с TLR6 (TLR2/6). Каждая гетеродимерная пара различает свой набор лигандов. Например, TLR2/1 распознают триацилированные липопептиды и пептидогликан (PG) грамположительных бактерий, TLR2/6 – диацилированные липопептиды, липотейхоевые кислоты и зимозан (Zym). При взаимодействии TLRs фагоцитов с лигандами происходит активация внутриклеточных сигнальных путей, одним из проявлений которой является продукция активных форм кислорода (АФК). Имеются данные по TLR2-опосредованной продукции АФК фагоцитами при их активации одним стимулом. Однако в организме фагоциты могут взаимодействовать одновременно с несколькими лигандами. Эффекты действия на фагоциты двух и более лигандов TLR2 ранее не рассматривались.

Цель работы – изучить совместное действие лигандов TLR2 (Zym и PG) на продукцию АФК перитонеальными макрофагами мышей.

Исследования выполнены на 50 мышах-самцах линии Balb/c в возрасте 2–3 месяцев. Проводили выделение резидентных перитонеальных макрофагов. В качестве лигандов TLR2 были выбраны Zym (*Saccharomyces cerevisiae*, InvivoGen, США) и PG (*Staphylococcus aureus*, InvivoGen, США). Для оценки продукции АФК макрофагами мышей при их стимуляции лигандами TLR2 был использован метод люминол-зависимой хемилюминесценции (ХЛ). Исследуемые пробы общим объемом 1 мл содержали 2×10^5 макрофагов, 100 мкМ люминола в растворе Хенкса (рН 7,4). Интенсивность ХЛ регистрировали в течение 45 мин после введения стимула (Zym или PG либо смеси этих лигандов). Для определения интенсивности стимулированной ХЛ (Iхл) рассчитывали разность между максимальной интенсивностью свечения, регистрируемой в наблюдаемый период времени, и интенсивностью спонтанного свечения. Измерения выполняли на хемилюминометре Lum-5773 (ООО «ДиСофт», Россия). При изучении праймирующего влияния PG на кислородный метаболизм макрофагов клетки (2×10^5 на 1 мл) инкубировали в присутствии PG (0,5 мкг/мл) в течение 1 ч в среде RPMI-1640, содержащей 100 мкг/мл гентамицина сульфата и 2 мМ глутамина, в CO₂-инкубаторе при 37°C в атмосфере 5% CO₂. Контролем служили макрофаги, инкубируемые без PG.

Зависимости Iхл перитонеальных макрофагов от концентрации добавляемых к ним Zym или PG представляли собой кривые насыщения. Постоянные уровни Iхл регистрировались при концентрациях Zym 100-200 мкг/мл, PG – 50-100 мкг/мл, что можно объяснить отсутствием на клетках свободных рецепторов в условиях избытка лиганда. Совместное влияние Zym и PG на продукцию АФК макрофагами изучали в три этапа. (1) Для одновременной стимуляции клеток использовались концентрации Zym (10 мкг/мл) и PG (2,5 мкг/мл), которые были меньше насыщающих в 10 и 20 раз соответственно. (2) Одновременная стимуляция клеток проводилась при насыщающей концентрации Zym (200 мкг/мл) и концентрации PG (2,5 мкг/мл), используемой на первом этапе. (3) Zym (10 мкг/мл) добавляли к клеткам, предварительно подвергнутым в течение 1 ч воздействию PG (0,5 мкг/мл) в концентрации, не вызывающей их активации.

В первой серии экспериментов Iхл макрофагов была достоверно выше, чем интенсивности свечения клеток, стимулированных каждым из лигандов в отдельности, и не отличалась от их суммы. Наблюдаемый эффект аддитивности обусловлен отсутствием конкуренции лигандов за общие места связывания – TLR2. Оба лиганда занимают доступные места связывания, а часть TLR2 остается свободной. Во втором случае регистрируемая Iхл макрофагов достоверно не отличалась от значения, полученного при стимуляции клеток только Zym, но была выше Iхл клеток при их стимуляции только PG. Этот результат можно объяснить с позиции конкуренции между исследуемыми лигандами за общие TLR2. Когда концентрация Zym соответствовала насыщающей, а концентрация PG была той же, что и в первом случае, наблюдалось действие только Zym, который, по-видимому, имел преимущества перед PG в конкуренции за TLR2. В третьей серии экспериментов установлено, что добавление Zym к клеткам, предварительно подвергнутым воздействию PG, сопровождалось увеличением Iхл в 1,9 раза по сравнению с показателем для клеток, инкубируемых без PG. Последний результат можно объяснить эффектом предстимуляции клеток под влиянием PG.

Таким образом, продукция АФК перитонеальными макрофагами мышей при совместном воздействии на них лигандов TLR2 – Zym и PG – зависит от соотношения концентраций лигандов. При этом выявлены три эффекта: аддитивность стимулирующего действия используемых лигандов, конкурентное связывание лигандов и эффект предстимуляции макрофагов пептидогликаном. Аналогичные эффекты могут иметь место в организме, где фагоциты подвергаются одновременному влиянию различных лигандов TLRs.

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ВОДНЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЙ КАРАГАНЫ ГРИВАСТОЙ (*CARAGANA JUBATA* (PALL.) POIR.)

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS CONTAINING IN AQUEOUS EXTRACTS OF *CARAGANA JUBATA* (PALL.) POIR.

Теселкин Ю.О., Бабенкова И.В., Какорин П.А.¹

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, E-mail: teselkin-box@mail.ru

¹Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва

Известно, что оксидативный стресс является важным патогенетическим фактором развития многих заболеваний человека. Одна из актуальных задач медико-биологических исследований – разработка лекарственных препаратов и биологически активных добавок к пище, обладающих антиоксидантными свойствами. В качестве наиболее перспективных антиоксидантов рассматриваются вещества растительного происхождения. В этой связи представляет интерес изучение антиоксидантной активности (АОА) экстрактов из

караганы гривастой (КГ), используемой в народной медицине Восточной Сибири, Бурятии, Тувы при заболеваниях печени и желудка, атеросклерозе, воспалительных заболеваниях кожи и слизистых оболочек.

Цель работы – изучение АОА биологически активных веществ водных извлечений из надземной части КГ *in vitro* и на модели острого гепатита, индуцированного ацетаминофеном.

Для исследования был выбран вид водного извлечения – отвар, который готовили в соотношении 1:10 согласно общепринятым рекомендациям. При проведении экспериментов на животных использовали лиофилизат водного извлечения КГ, полученный, как описано в работе [1]. Эксперименты выполняли на 30 аутбредных белых крысах-самцах линии Wistar массой 200–220 г. Животные были разделены на три группы. Первая группа (n=10) – контрольная – крысы с острым гепатитом; 2-я (n=10) – опытная – крысы с острым гепатитом, получавшие водное извлечение КГ; 3-я группа (n=10) – интактная. Продолжительность эксперимента составила 14 дней. В течение 7 дней животным опытной группы внутривенно вводили раствор лиофилизата водного извлечения КГ, разведенный дистиллированной водой, в дозе 308 мг/кг. Животным контрольной группы вводили дистиллированную воду. На 7-й день у животных 1-й и 2-й групп через 1 ч после соответствующих введений индуцировали острый гепатит. Для этого использовали ацетаминофен в дозе 1000 мг/кг, однократно. Следующие 7 дней животные контрольной и опытной групп получали воду и исследуемый препарат в тех же дозах. На 15-й день животных выводили из эксперимента и забирали образцы печени. Готовили 2% гомогенаты (масса/объем) с использованием холодного физиологического раствора, содержащего 1 мМ ЭДТА. Далее образцы центрифугировали в течение 20 мин при 4000g и 4°C и использовали супернатанты для определения АОА.

АОА водных извлечений КГ и супернатантов гомогенатов печени крыс определяли по ингибированию ими хемилюминесценции (ХЛ) люминола, индуцированной водорастворимыми радикалами, образующимися при термическом разложении 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорида (АБАП). Определяемым показателем была величина латентного периода ХЛ. Измерение ХЛ проводили на хемилюминометре Lum-1200 (ДиСофт, Россия). Реакционная среда имела следующий состав: 10 мкМ люминола, 1 мМ ЭДТА и 1 мМ АБАП в 50 мМ Трис-НСl буфере, содержащем 0,14 М NaCl, pH 8,0 [2]. Стандартным антиоксидантом был тролокс. АОА водных извлечений КГ и печени крыс выражали в виде тролоксового эквивалента – в мкмоль тролокса на 1 г сухого вещества растительного сырья и в мкмоль тролокса на 1 г сырой ткани.

Добавление водных извлечений КГ в систему АБАП-люминол на стадии стационарного свечения приводило к появлению латентного периода ХЛ, величина которого увеличивалась прямо пропорционально количеству добавляемого отвара. АОА водных извлечений КГ составила $43,73 \pm 2,18$ мкмоль/г.

Развитие острого гепатита сопровождалось снижением АОА печени. Этот показатель у крыс контрольной группы составил $2,92 \pm 0,10$ мкмоль/г и был на 37% ниже, чем у интактных животных – $4,64 \pm 0,12$ мкмоль/г ($p < 0,05$). У крыс опытной группы, получавших водное извлечение КГ, значение АОА составило $4,07 \pm 0,17$ мкмоль/г, не отличалось от полученного для интактных животных и было на 39% выше, чем у животных контрольной группы ($p < 0,05$). Снижение АОА печени у крыс контрольной группы, по-видимому, обусловлено усилением расходования эндогенных антиоксидантов в условиях активации реакций свободнорадикального окисления при ацетаминофен-индуцированном экспериментальном гепатите. Введение животным опытной группы водных извлечений КГ позволило увеличить антиоксидантную защиту печени.

Антиоксидантные эффекты водных извлечений КГ, обнаруженные в условиях *in vitro* и *in vivo*, определяются, по-видимому, содержащимися в них флавоноидными соединениями, что подтверждено методом ВЭЖХ [1].

1. Kakorin P.A. et al. Biologically active compounds in aqueous extracts of *Caragana jubata* (Pall.) Poir. // *Pharm Chem J.* 2018. Vol. 51. P. 1014.
2. Чехани Н.Р. и др. Антиоксидантная активность растений, используемых в этномедицине Тувы // *Вестник РГМУ.* 2012. № 6. С. 66.

КИНЕТИКА РЕСПИРАТОРНОГО ВЗРЫВА В КРОВИ КАК НОВЫЙ МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЙ ПОДХОД К МОНИТОРИНГУ СОСТОЯНИЯ БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

KINETICS OF RESPIRATORY BURST IN BLOOD AS A NEW METHODOLOGICAL APPROACH FOR MONITORING THE STATE OF PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA

Тихонова И.В.¹, Гриневич А.А.¹, Косякова Н.И.², Сафронова В.Г.¹

¹Институт биофизики клетки РАН - обособленное подразделение ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН» РАН, Пушкино, Россия, E-mail: irinka_ti27@mail.ru

²Больница Пушкинского научного центра Российской академии наук, Пушкино, Россия

Активные формы кислорода (АФК) играют ключевую роль в патогенезе бронхиальной астмы (БА) за счет накопления и активации гранулоцитов в легких. Чрезмерное образование АФК способствует развитию окислительного стресса, который приводит к бронхоспастическому синдрому и переходу воспалительного процесса в хроническую форму. Данные по взаимосвязи состояния больных БА и уровня АФК, продуцируемых изолированными гранулоцитами крови противоречивы: в одних случаях показано усиление генерации АФК клетками, а в других - наоборот, ее подавление. Кроме того, поскольку хронический воспалительный процесс лежит в основе БА, то несмотря на постоянное применение пациентами лекарственных препаратов, существует высокий риск развития осложнений. Однако четкой связи между тяжестью заболевания и активностью клеток крови, продуцирующих АФК, в настоящее время не установлено. Поэтому, необходимы простые и быстрые методы для мониторинга состояния больных БА с целью предотвращения обострений. В этой работе мы предлагаем тестирование реактивности гранулоцитов периферической крови при БА на основе временного хода респираторного ответа на опсонизированный зимозан (ОЗ) в цельной крови с использованием люминол-зависимой хемилуминесценции, в качестве меры продукции АФК, и кинетики его активации.

Целью настоящего исследования было изучение кинетики генерации АФК в ответ на микробную провокацию в периферической крови у больных БА вне обострения и в период обострения средней тяжести, а также оценка дискриминационной мощности кинетических параметров для мониторинга состояния больных.

В исследовании принимали участие 18 больных БА с обострением средней тяжести (1 группа), 62 больного БА вне обострения (2 группа) и 43 условно здоровых испытуемых без острых и хронических патологий (3 группа). Для всех участников проводилась оценка функции внешнего дыхания и клинический анализ. Генерация АФК гранулоцитами в периферической крови оценивалась методом люминол-зависимой хемилуминесценции (ХЛ). После регистрации спонтанного уровня АФК для инициации дыхательного взрыва добавляли опсонизированный зимозан (ОЗ) в диапазоне концентраций от 3,9 до 250 мкг/мл. Рассчитывали следующие кинетические параметры: лаг-период, скорость развития ответа, амплитуда, продукция АФК, Тмакс. Для оценки состояния гранулоцитов образцы крови предварительно инкубировали с бактериальным пептидом N-formyl-MLF (fMLF) в подпороговой концентрации 0,01 мкМ, после чего дыхательный взрыв инициировали ОЗ (15,6 мкг/мл). К клиническим функциональным параметрам и кинетическим параметрам дыхательного взрыва был применен метод анализа ROC-кривых для оценки их дискриминационной мощности.

В ходе проведенного исследования мы получили следующие результаты. В группе больных БА вне обострения параметры функции внешнего дыхания достоверно не отличались от соответствующих параметров в контрольной группе. У больных с обострением такие дыхательные параметры, как объем форсированного выдоха за 1 с и пиковая скорость выдоха, были достоверно ниже параметров в группе больных вне обострения и контроле. Во всех группах испытуемых кинетические параметры ответа на ОЗ зависели от дозы ОЗ: лаг-период и Тмакс уменьшались с ее возрастанием, тогда как скорость развития ответа, амплитуда и продукция АФК возрастали. У больных БА вне обострения была выявлена усиленная реактивность гранулоцитов в периферической крови: значительное уменьшение лаг-периода, увеличение скорости развития ответа и продукция АФК относительно контроля, а также ослабленная реакция на праймирование. Полученные данные могут свидетельствовать о том, что у больных БА гранулоциты в периферической крови находятся в праймированном состоянии. Иная картина наблюдалась у больных БА с обострением. В данной группе больных, напротив, наблюдалась замедленная кинетика генерации АФК в периферической крови: лаг-период и Тмакс значительно превышали значения в двух других группах, в то время как продукция АФК была снижена. Амплитуды ответов достоверно не различались между группами. Вероятно, наблюдаемые различия вне обострения и при обострении связаны с гетерогенностью популяции гранулоцитов в крови и различным соотношением клеток с праймированным и депраймированным статусом. Анализ ROC-кривых показал высокую дискриминационную мощность кинетических параметров генерации АФК, опосредованной фагоцитозом. При этом, среди кинетических параметров Тмакс определен как наиболее значимый статистический предиктор для выявления больных с определенным статусом заболевания. Таким образом, результаты нашей работы показали, что кинетика респираторного взрыва в периферической крови является простым и адекватным тестом для мониторинга состояния больных бронхиальной астмой.

Работа поддержана Российским научным фондом (грант № 16-15-00248).

АКТИВАЦИЯ ТРОМБООБРАЗОВАНИЯ В СДВИГОВЫХ ТЕЧЕНИЯХ

TROMBOSIS ACTIVATION IN SHEAR FLOWS

Узлова С.Г.¹, Пономарев И.А.^{1,2}, Злобина К.Е.¹, Гурия Г.Т.^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

²НИУ Московский физико-технический институт, Долгопрудный, uzlova.s@blood.ru

Биофизика свертывания крови исследует сложное поведение макромолекул в условиях гидродинамического потока в сосудах со сложной геометрией и их взаимодействие с клетками крови. Несмотря на значительный объем знаний, накопленных в этой области, некоторые вопросы остаются нерешенными. Один из таких вопросов - почему в многочисленных исследованиях гидродинамической активации свертывания крови авторы указывают разные значения для критической скорости сдвига.

В данной экспериментальной работе проверяется гипотеза о зависимости критической сдвиговой скорости активации тромбоцитов от мультимерности фактора фон Виллебранда (VWF) [1].

Работа выполняется на экспериментальной установке, собранной на основе конического вискозиметра (Brookfield CAP 2000+), дополненного системой оптической регистрации активационно-агрегационных процессов. Материалы: обогащенная тромбоцитами плазма, отмытые тромбоциты и препарат фракционированного VWF. Регистрация агрегации тромбоцитов производится методом светорассеяния [2].

Были построены параметрические диаграммы агрегации тромбоцитов от скорости сдвига и концентрации добавляемого VWF с фиксированным распределением по мультимерности.

Результаты работы могут использоваться для создания новых тестов гидродинамической активации тромбоцитов в потоках крови в присутствии молекул фактора Виллебранда.

Работа была поддержана Российским научным фондом (грант №19-11-00260).

1. Zlobina K.E., Guria G.T. Platelet activation risk index as a prognostic thrombosis indicator // Scientific reports, 2016, Vol. 6, P. 30508.

2. Avtaeva Y.N., Mel'nikov I.S., Gabbasov Z.A. Real-Time Recording of Platelet Adhesion to Fibrinogen-Coated Surface under Flow Conditions // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2018. – Т. 165. – №. 1. – С. 157.

ГОМОТИПИЧЕСКАЯ МЕЖКЛЕТОЧНАЯ КОММУНИКАЦИЯ КАК НОВЫЙ МЕХАНИЗМ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ КЛЕТОК ЛЕЙКОЗА

НOMOTYPIC CELL-TO-CELL COMMUNICATION AS A NEW MECHANISM OF DRUG RESISTANCE OF LEUKEMIA CELLS

Фадеев Р.С., Кобякова М.И., Евстратова Я.В., Сенотов А.С., Фадеева И.С., Краснов К.С.¹, Акатов В.С.

Институт Теоретической и Экспериментальной Биофизики РАН, Пущино, fadeevrs@gmail.com

¹Тульский Государственный Университет, Тула

Острый лейкоз (ОЛ) является результатом ряда соматических мутаций, произошедших в примитивной мультипотентной миелоидной гемопоэтической клетке или, в некоторых случаях, в более дифференцированных бластных формах. Злокачественно трансформированные гемопоэтические клетки более устойчивые к индукции клеточной гибели и более активно пролиферирующие по сравнению с нормальными мультипотентными гемопоэтическими клетками костного мозга. При клональной экспансии злокачественно трансформированных гемопоэтических клеток, происходит подавление нормального гемопоэза. В настоящее время, острый лейкоз – наиболее распространённое онкологическое заболевание среди людей до 35 лет (около 30% встречаемости). По различным источникам, эффективность терапии ОЛ колеблется от 15 до 70%, и с возрастом снижается.

Одной из основных причин недостаточной эффективности терапии ОЛ считается формирование лекарственной устойчивости, то есть устойчивости к действию химиотерапевтических препаратов. Лекарственную устойчивость (ЛУ) можно разделить на два типа: приобретенную (вторичную) и конститутивную (первичную или *de novo*). Приобретенная лекарственная устойчивость развивается в ходе терапии, изначально чувствительных к химиотерапии лейкозных клеток. В основном, данный тип ЛУ связывают с гиперэкспрессией белков транспортеров системы множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) (Р-гликопротеина (Pgp), MRP1-MRP-5, BCRP) и/или с повышением их активности. В тоже время использование ингибиторов белков семейства МЛУ в клинической практике показало их низкую эффективность. Другой, и более важной, является первичная лекарственная устойчивость, которая формируется до проведения курсов химиотерапии и связана, в основном, с защитным действием патологически неизмененных стромальных клеток костного мозга.

Полученные нашим коллективом данные показывают, что не только нормальные стромальные клетки костного мозга могут способствовать формированию первичной лекарственной устойчивости у лейкозных клеток, но и сами лейкозные клетки, взаимодействуя между собой (гомотипическое взаимодействие), могут образовывать трехмерные многоклеточные структуры, в которых происходит выраженное повышение устойчивости как к апоптозу индуцированному повреждением ДНК, так и к рецептор-опосредованному апоптозу [1-2]. Сходное повышение устойчивости известно для эпителиальных опухолевых клеток, при образовании трехмерных клеточных сфероидов. В свою очередь, многоклеточные трехмерные структуры клеток ОМЛ имеют достаточно «рыхлую» структуру и легко разрушаются при слабых гидродинамических воздействиях. Исходя из этого существование их возможно только в паренхиме костного мозга, но не в периферических кровеносных и лимфатических сосудах, с быстрыми потоками жидкостей. Необходимо отметить, что применение противоопухолевых препаратов является эффективным относительно только лейкозных клеток в периферической крови поскольку, лейкозные клетки, локализованные в костном мозге, остаются целыми, что и определяет рецидив заболевания.

В докладе обсуждаются роль и механизмы резистентности клеток острого лейкоза к индукции клеточной гибели, опосредованные гомотипическим межклеточным взаимодействием.

Работа выполнена при финансовой поддержке Правительства РФ (Договор №14.Z50.31.0028), РФФ (№19-75-20145) с использованием приборной базы ЦКП ИТЭБ РАН.

1. Фадеев Р.С. и соавт. Ингибирование активации NF- κ B снижает устойчивость клеток острого миелоидного лейкоза к TRAIL-индуцированному апоптозу в многоклеточных агрегатах. *Биофизика*. 2015. Т. 60. № 6. С. 1146-1150.
2. Фадеев Р.С. и соавт. Клеточная агрегация повышает лекарственную устойчивость клеток острого миелоидного лейкоза. *Биологические мембраны*. 2015. Т. 32. № 2. С. 125-134.

ПРЯМОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФИБРИНОГЕНА С ЛИПИДНЫМИ МИКРОЧАСТИЦАМИ МОДУЛИРУЕТ КИНЕТИКУ СВЕРТЫВАНИЯ И СТРУКТУРУ СГУСТКА

DIRECT INTERACTION OF FIBRINOGEN WITH LIPID MICROPARTICLES MODULATES CLOTTING KINETICS AND CLOT STRUCTURE

Файзуллин Д.А., Валиуллина Ю.А., Сальников В.В., Зуев Ю.Ф.

Казанский институт биохимии и биофизики - обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки "Федеральный исследовательский центр "Казанский научный центр Российской академии наук", г. Казань, E-mail: dfazullin@mail.ru

В настоящее время известно, что ферменты каскада коагуляции могут взаимодействовать с липидными микрочастицами (ЛМ) природного или искусственного происхождения, циркулирующими в крови [1]. Такие взаимодействия могут модулировать гемостаз. Меньше известно о последствиях прямого взаимодействия фибриногена / фибрина с ЛМ [2]. Используя очищенные системы, мы показали, что липидный состав и размер ЛМ могут оказывать значительное влияние на кинетику полимеризации фибрина и морфологию сгустка, а также на лизис фибрина [3]. Представлены экспериментальные данные доказывающие, что эффект является следствием адсорбции фибриногена на поверхности ЛМ. Адсорбция фибриногена в каталитически благоприятной ориентации приводит к ускорению индуцированной тромбином полимеризации фибрина, благодаря локальному концентрирующему эффекту, и включению ЛМ в структуру сгустка. Влияние размера ЛМ заключается в создании пространственных ограничений для роста фибриновых волокон, что приводит к образованию пористых сгустков из разветвленных волокон с множеством ветвлений. Таким образом, непосредственное взаимодействие фибриноген - ЛМ представляет собой существенный фактор гемостаза, который следует учитывать при анализе заболеваний свертывания крови и разработке искусственных липидных частиц.

Работа частично поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований и Правительства Республики Татарстан (проект № 18-415-160011). Сканирующая электронная микроскопия выполнена в Междисциплинарном центре аналитической микроскопии Казанского федерального университета.

1. Набиуллина Р. М., Мустафин И. Г., Зуев Ю. Ф., Файзуллин Д. А., Литвинов Р.И., Зубаирова Л.Д. Влияние микровезикул крови на кинетику полимеризации и ферментативного гидролиза фибрина // Доклады Академии Наук. 2015. Том 562 (1); С. 111-114.
2. Zubairova L. D., Nabiullina R. M., Nagaswami C., Zuev Yu. F., Mustafin I. G., Litvinov R.I., Weisel J.W. Circulating Microparticles Alter Formation, Structure, and Properties of Fibrin Clots // *Sci Rep*. 2015. Vol. 5. P. 1-13.
3. Бакирова Д.Р., Файзуллин Д.А., Валиуллина Ю.А., Сальников В.В., Зуев Ю.Ф. Влияние состава липидной поверхности на формирование и структуру фибриновых сгустков // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 2017 г., Том 163, № 6, С. 687-691.

РАДИКАЛ-ПРОДУЦИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК РАКА ЯИЧНИКОВ ИНТАКТНЫХ И ДЕФИЦИТНЫХ ПО ГЕНУ КАСПАЗЫ-2

RADICAL-PRODUCING ACTIVITY OF INTACT AND CASPASE-2-DEFICIENT OVARIAN CANCER CELLS

Федорова М.В, Копеева Г.С, Проскурнина Е.В.

1 – Факультет фундаментальной медицины, МГУ М.В. Ломоносова, Москва, theklazontag@yandex.ru

Свободные радикалы, или активные формы кислорода, играют важную роль не только в жизнедеятельности клетки, но и участвуют в индукции апоптоза – запрограммированной клеточной гибели. Основные источники АФК в клетке — митохондриальные и микросомальные дыхательные цепи. Один из ключевых ферментов апоптоза - каспаза-2 – запускает процесс гибели клеток при повреждениях ДНК. Более того, отсутствие данного белка ускоряет возникновение и развитие некоторых типов опухолевых заболеваний, а также ведет к устойчивости раковых клеток к лекарственной терапии. Также было показано, что нокаут по гену каспазы-2 приводит к усилению окислительного стресса у мышей и ускорению процессов старения. Поэтому для исследования функций каспазы-2 в организме представляет интерес сопоставление активности митохондриальных и микросомальных радикал-продуцирующих систем в клетках с нормальным уровнем этого фермента и дефицитных по нему.

Целью работы была оценка радикал-продуцирующую активность культуры клеток рака яичников Саov-4 - интактных и дефицитных по каспазе-2 - методом люцигенин-активированной хемилюминесценции при помощи оригинальной методики в присутствии доноров электронов.

Исследования проводили на приборе Lum-1200 (ДИСофт, Россия). Хемилюминесценцию суспензии клеток регистрировали в присутствии люцигенина после добавления восстановительных эквивалентов НАДН и НАДФН. Исследовали следующие культуры клеток Саov-4 (количество клеток в пробе примерно 2 млн): интактные (Wild Type, WT), нокаутных по гену каспазы-2 с помощью метода CRISPR-Cas (Cr), и экспрессирующих малую шпилечную РНК, снижающую синтез каспазы-2 (Sh).

Хемилюминограмма состояла из двух частей – базальная люцигенин-активированная хемилюминесценция, отражающая продукцию свободных радикалов митохондриями, НАДН-стимулированная, отражающая активность НАДН-зависимых микросомальных ферментов, прежде всего цитохром b5-редуктазы, согласно литературным данным, и НАДФН-стимулированная ХЛ, отражающая, предположительно, активность цитохрома Р-450. Найдено, что по уровню базальной хемилюминесценции, отражающей митохондриальную продукцию супероксидного анион-радикала, нет различий между клетками дикого типа и дефицитных по каспазе-2.

Для выяснения источника продукции супероксидного анион-радикала при добавлении НАДН и НАДФН были получены хемилюминограммы НАДН-стимулированной ХЛ в присутствии мерсалила (ингибитор цитохрома b5-редуктазы) и НАДФН-стимулированной ХЛ в присутствии ципрофлоксацина (ингибитора микросомального окисления). Мерсалиловая кислота ингибировала НАДН-зависимую хемилюминесценцию, следовательно, это свечение, действительно, обусловлено продукцией супероксидного анион-радикала с участием цитохрома b5-редуктазы. Ципрофлоксацин ингибировал НАДФН-зависимую хемилюминесценцию, из чего следует, что она обусловлена реакциями с участием цитохрома Р-450.

Далее при помощи указанных протоколов изучали вклад в продукцию супероксидного анион радикала двух микросомальных цепей — системы цитохром b5-редуктазы и системы цитохрома Р-450. В клетках дикого типа уровень продукции супероксидного радикала системой цитохром-b5-редуктазы был примерно в два раза выше уровня продукции супероксидного анион-радикала системой цитохрома Р-450. В клетках с дефицитом по каспазе-2 уровень как НАДН-, так и НАДФН-стимулированной хемилюминесценции был меньше примерно в 2 раза, чем в клетках дикого типа, что свидетельствует о связи каспазы-2 и продукции радикалов системами микросомального окисления.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПЛЮРОНИКА F-127 НА ФОСФОЛИПИДНЫЕ ЛИПОСОМЫ
МЕТОДОМ ^{31}P ЯМР**

**RESEARCH OF THE EFFECT OF PLURONIC F-127 ON PHOSPHOLIPID LIPOSOMES BY ^{31}P
NMR METHOD**

Шайхуллина М.М.¹, Халиуллина А.В.^{1,2}, Филиппов А.В.^{1,2}

¹Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Институт физики, г. Казань, milyausha96@list.ru

²Казанский Государственный Медицинский Университет, г. Казань

Липосомы являются перспективными системами адресной доставки лекарственных веществ. Водорастворимые (гидрофильные) лекарственные вещества могут быть заключены во внутреннее пространство липосом, а жирорастворимые (гидрофобные) включаются в фосфолипидный бислой. Однако, применение традиционных липосом в качестве систем доставки лекарств сталкивается с проблемами из-за их нестабильности и короткого времени циркуляции в кровеносном русле [1]. Наиболее эффективным методом преодоления этих недостатков является модификация поверхности липосом полимерами. Наряду с общеизвестным модификатором полиэтиленгликолем, плюроники были предложены в качестве интересной альтернативы благодаря коммерческой доступности и низкой стоимости.

Плюроники – синтетические блоксополимеры гидрофильного этиленоксида и гидрофобного пропиленоксида. Они обладают низкой токсичностью, амфифильностью и хорошей совместимостью с лекарственными веществами. Плюроник F-127, состоящий из 70% гидрофильного блока, является одним из широко применяемых на практике плюроников. Данный вид плюроника одобрен для использования в качестве вспомогательной компоненты в пероральных и офтальмологических растворах, пародонтальных гелях и местных эмульсиях [2].

Нами исследовались особенности фазового поведения системы, состоящей из фосфатидилхолина, холестерина и плюроника F-127, при варьировании температуры и концентрации плюроника по данным ^{31}P ЯМР спектроскопии. В работе были приготовлены четыре образца: образец **1** – водный раствор фосфатидилхолина (ФХ), образец **2** – водный раствор ФХ и холестерина (массовое отношение 8:1), образец **3** – водный раствор ФХ, холестерина и плюроника F-127 (8:1:4), образец **4** – водный раствор ФХ, холестерина и плюроника F-127 (8:1:8). Холестерин в исследуемую систему добавлен с целью препятствия перехода фосфолипидов в твердую фазу и увеличения стабильности системы. Регистрация спектров проводилась на импульсном ЯМР спектрометре Avance III TM фирмы «Bruker» на ядрах ^{31}P с частотой 161,97 МГц в диапазоне температур 20-55°C.

Анализ спектров ^{31}P ЯМР образцов **1** и **2** указывает на нахождение исследуемых систем в ламеллярной жидкокристаллической фазе L_α – в области формирования липосом (многослойных везикул) во всем исследуемом диапазоне температур. Спектры обеих систем (с холестерином и без него) практически совпадали, указывая на то, что используемое количество холестерина (8:1) было слишком мало, чтобы существенно изменить дальний порядок фосфолипидов. Для образцов **3** и **4** с плюроником F-127 кроме ламеллярной жидкокристаллической фазы наблюдается еще наличие изотропной фазы во всем исследуемом диапазоне температур. Доля характерного изотропного ЯМР сигнала при увеличении концентрации плюроника в 2 раза увеличилась с 3% до 10%. Появление изотропной фазы в исследуемой системе, вероятнее всего, обусловлено движением мицелл плюроника, которые захватывают фосфолипиды.

1. Weiwei G. et al. Liposome-like nanostructures for drug delivery // J. Mater. Chem. B, 2013, Vol. 1, P.6569-6581.

2. Dumortier G. et al. A review of poloxamer 407 pharmaceutical and pharmacological characteristics // Pharmaceutical Research, 2006, Vol. 23, N. 23, P. 2709-2728.

ПРАЙМИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ КАТИОННЫХ БЕЛКОВ НЕЙТРОФИЛОВ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ**PRIMING EFFECT OF NEUTROPHIL CATIONIC PROTEINS ON PLATELET FUNCTIONAL ACTIVITY**

Шамова Е.В.¹, Григорьева Д.В.¹, Горудко И.В.¹, Свешникова А.Н.², Соколов А.В.^{3,4}, Черенкевич С.Н.¹,

¹Белорусский государственный университет, Минск, shamova@tut.by

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

³ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, biochemsokolov@gmail.com

⁴ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА России, Москва

В настоящее время хорошо известна роль тромбоцитов в процессах гемостаза и тромбообразования, однако в последнее время все больше внимания уделяется выяснению механизмов взаимодействия системы гемостаза и иммунной системы. Так, например, показано, что тромбоциты обладают иммуномодулирующими свойствами, а лейкоциты участвуют в процессах тромбообразования [1, 2]. Взаимодействие иммунной системы и системы свертывания крови происходит на множестве уровней, про большинство из которых в настоящее время получены только ограниченные сведения. Поскольку при множестве патологических процессов, ассоциированных с воспалительной реакцией организма, наблюдается повышенное тромбообразование, исследование механизмов внутриклеточной сигнализации тромбоцитов в присутствии секреторных белков нейтрофилов является актуальной задачей. Целью данной работы стало исследование влияния катионных белков гранулярного аппарата нейтрофилов миелопероксидазы (МПО) и лактоферрина (ЛФ) на функциональную активность тромбоцитов.

Тромбоциты выделяли из венозной донорской крови, стабилизированной цитратом натрия (1:9) путем последовательного центрифугирования. МПО выделяли из экстракта замороженных лейкоцитов здоровых доноров и очищали с помощью аффинной хроматографии на гепарин-сефарозе, гидрофобной хроматографии на фенил-сефарозе и гель-фильтрации на сефакириле S-200 HR. В работе использовали рекомбинантный ЛФ, выделенный из молока трансгенных коз-продуцентов, который по своим физико-химическим характеристикам не отличался от ЛФ грудного молока [3].

Ранее нами было установлено, что МПО, белок азурофильных гранул нейтрофилов, оказывает потенцирующее действие на тромбин- и АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов [4]. В данной работе показано, что ЛФ (100-500 мкг/мл), белок специфических гранул нейтрофилов, также концентрационно-зависимым образом увеличивал степень и скорость агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ. Анализ внутриклеточной Ca^{2+} -сигнализации в тромбоцитах показал, что данный эффект секреторных белков лейкоцитов связан с их способностью усиливать агонист-индуцированный Ca^{2+} -ответ в клетках.

Известно, что ионы кальция играют важную роль в экспонировании фосфатидилсерина (ФС) на внешней поверхности тромбоцитов, формируя так называемую «прокоагулянтную мембрану», способную специфически связывать факторы свертывания, значительно ускоряя протекание реакций с их участием [5]. Поэтому далее с помощью проточной цитометрии исследовали влияние гранулярных белков нейтрофилов на способность активированных тромбоцитов экспонировать ФС. Обнаружено, что в присутствии МПО и ЛФ наблюдалось достоверное усиление процесса экспонирования ФС на поверхности тромбоцитов, активированных CRP (Collagen-Related Peptide), о чем свидетельствовало увеличение интенсивности флуоресценции аннексина V.

Активация тромбоцитов сопровождается структурными перестройками цитоскелета клеток, поэтому в данной работе с помощью лазерной конфокальной микроскопии исследовали также влияние МПО и ЛФ на структурную организацию актинового цитоскелета тромбоцитов. В работе показано, что секреторные белки нейтрофилов ЛФ и МПО инициировали реорганизацию актинового цитоскелета тромбоцитов в отсутствие дополнительных стимулов, что проявлялось в дезорганизации кортикального актинового цитоскелета и росте новых актиновых филаментов. При адгезии тромбоцитов на фибриногене в присутствии МПО и ЛФ наблюдалось увеличение количества стрессовых фибрилл в клетках, что является следствием усиления процессов адгезии тромбоцитов на фибриногене.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о праймирующем действии секреторных белков нейтрофилов на функциональную активность тромбоцитов (агрегационную активность, прокоагулянтные свойства, внутриклеточную Ca^{2+} -сигнализацию и структурную организацию актинового цитоскелета), что может быть причиной нарушения тромбоцитарного звена гемостаза при воспалительных и инфекционных процессах.

Работа выполнена при поддержке грантов БРФФИ Б19PM-024, Б18P-058.

1. Morrell C.N. et al. Emerging roles for platelets as immune and inflammatory cells//Blood. 2014. Vol. 123. P. 2759.
2. Cerletti C. et al. Platelet-leukocyte interactions in thrombosis//Thromb. Res. 2012. Vol. 129, № 3. P. 263.
4. Лукашевич В.С. и др. Получение рекомбинантного лактоферрина человека из молока коз-продуцентов и его физиологические эффекты//Доклады НАН Беларуси. 2016. Т. 60, № 1. С. 72.
3. Gorudko I.V. et al. Myeloperoxidase modulates human platelet aggregation via actin cytoskeleton reorganization and store-operated calcium entry//Biol. Open. 2013. Vol. 2, № 9. P. 916.
5. Panteleev M.A. et al. Two subpopulations of thrombin-activated platelets differ in their binding of the components of the intrinsic factor X-activating complex//J. Thromb. Haemost. 2005. Vol. 3, № 11. P. 2545.

РАДИКАЛЫ В СТРУКТУРАХ КЛЕТКИ RADICALS IN THE CELL STRUCTURES

Шановалов Ю.А., Тулеуханов С.Т., Абдрассилова Ж.Т., Швецова Е.В.

РГП Казахский национальный университет им. аль Фараби, Алматы, yu.shapovalov@mail.ru

К радикалам относят атомы или молекулы, имеющие неспаренный электрон, который определяет их высокую нестабильность и активность, связанную со стремлением радикалов захватить или отдать лишний электрон. В биологических объектах различают природные и чужеродные радикалы. Известно, что чужеродные радикалы оказывают негативное влияние на клетки живых организмов: окисляют аминокислоты, белки, повреждают и дезорганизуют клеточные структуры и биологические мембраны. Возникновение чужеродных радикалов связано с физическим воздействием на клетки радиации, ультрафиолетового облучения, химического действия ксенобиотиков. Для снижения агрессивного влияния радикалов на организм человека и животных в биологических объектах имеются специализированные ферментные системы антиоксидантной защиты, а также применяются различные антиоксиданты.

В отличие от чужеродных радикалов, в живых системах преобладают природные радикалы, которые выполняют ключевую роль в процессах жизнедеятельности клеток: в реакциях биосинтеза, окислительного фосфорилирования, регуляции липидного обмена, процессах митоза, метаболизма и др. Ежедневно каждая клетка генерирует миллионы соединений, обладающих естественной радикальной природой, которые затем участвуют в одноэлектронных биохимических процессах.

Существенную роль в радикальных окислительно-восстановительных реакциях клетки выполняют коферменты NAD, NADP, FAD, FMN, CoQ и др., которые являются акцепторами электронов для одной группы ферментов в полиферментном комплексе и донорами для другой. Коферменты способны образовывать промежуточные радикальные структуры и комплексы с переносом заряда (КПЗ) в биологических мембранах, обеспечивая перенос энергии и транспорт электронов. При этом восстановление и окисление метаболитов сопровождается циклической ферментативной регенерацией коферментов.

К группе переносчиков энергии и электронов, широко распространенных в растительном и животном мире относят природные органические пигменты - каротиноиды, имеющие сопряженную систему связей. Каротиноиды могут взаимодействовать со свободными радикалами тремя способами, при этом всегда образуются радикалы каротиноидов. При взаимодействии с полиеновой структурой каротиноидов образуется радикал Car-R^{\cdot} ; в реакции с отделением атома водорода - Car-H^{\cdot} ; при переносе электронов - $\text{Car}^{+\cdot}$.

Каротиноиды образуют КПЗ с биоорганическими соединениями, имеющими свободно-радикальную форму хинона. Например, коферменты FAD, FMN, а также рибофлавин имеют в своем составе изоаллоксазиновое кольцо, которое при восстановлении образует радикал семихинона. Важную роль в транспорте окислительно-восстановительных эквивалентов отводят небелковому переносчику электронов и протонов - коферменту Q (CoQ), который также способен приобретать форму свободного радикала - семихинона (CoQH^{\cdot}). Ферментативная реакция с участием коферментов NAD, NADP протекает через две одноэлектронные стадии, в результате первой из них образуются промежуточные свободные радикалы коферментов NAD^{\cdot} или NADP^{\cdot} , имеющие хиноидную структуру в никотинамидном нуклеотиде.

Одноэлектронный характер взаимодействия каротиноидов и их комплексов с хинонами в полярных средах исследован в работе [1]. Образование катион-радикалов каротиноидов в реакции с хинонами показало, что на первой стадии образуется КПЗ, а затем ион-радикальная пара [$\text{Car}^{+\cdot} + \text{Q}^{\cdot}$]. Конечными продуктами являются аддукты каротиноида с хиноном ($\text{Car} - \text{Q}$) и *цис* - изомеры каротиноида. Образование КПЗ в реакциях β -каротина, кантаксантина и 8'-апо - β -каротина-8'-аля с хинонами были зарегистрированы методом оптической спектроскопии и ЭПР.

Каротиноиды, в основном, локализуются в липофильной области БМ, где образуют стабильные комплексы. Вытянутая светочувствительная электропроводящая структура каротиноидов формирует КПЗ с липидами в липофильной области биологической мембраны, образуя катион- и анион радикалы, обеспечивая перенос энергии и электронов. Проводилось изучение образования КПЗ между β - каротином и липидом - кардиолипином. Для кардиолипина в видимой области спектра не были обнаружены полосы поглощения, тогда как β -каротин имеет характерные полосы при 425, 450, 475 нм. Существенное расширение (до 100 нм) полосы поглощения β -каротина в длинноволновую область наблюдается при образовании комплекса кардиолипина и β -каротина. Незначительное смещение полос поглощения в длинноволновую область до 480 нм было получено для комплекса β - каротин-лецитин относительно исходной длины - 450 нм. Проведенные экспериментальные исследования показали, что система каротин - липид образует КПЗ, посредством которого возможен электронный перенос через липидо-каротиноидную структуру биологической мембраны. Были проведены модельные исследования по изучению переноса электронов в двухэлектродном биологическом генераторе тока с использованием иммобилизованной на электропроводном носителе фермент-кофакторной системы алкогольдегидрогеназа - никотинамидадениндинуклеотид (LADH-NAD).

1. Polyakov N., Leshina T. Certain Aspects of the reactivity of carotenoids. Redox Processes and complexation//Успехи химии 2006, Т.75, №12, С.1175-1192.

ИССЛЕДОВАНИЕ РАДИОЗАЩИТНЫХ СВОЙСТВ ХИМЕРНОГО БЕЛКА PSH, ОБЛАДАЮЩЕГО АКТИВНОСТЬЮ ПЕРОКСИДАЗЫ И СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ, НА МОДЕЛИ ТОТАЛЬНОГО ОБЛУЧЕНИЯ МЫШЕЙ РЕНТГЕНОВСКИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ

STUDY OF THE RADIOPROTECTIVE PROPERTIES OF CHIMERIC PROTEIN PSH WITH PEROXIDASE AND SUPEROXIDE DISMUTASE ACTIVITY, ON THE MODEL OF TOTAL X-RAY IRRADIATION OF MICE

Шарапов М.Г.¹, Новоселов В.И.¹, Брусков В.И.², Гудков С.В.^{3,4}

¹Институт биофизики клетки РАН, Пушино, Россия, E-mail: sharapov.mg@yandex.ru

²Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушино, Россия,

³Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия,

⁴Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва

Основным поражающим фактором ионизирующего излучения являются образование в организме большого количества свободных радикалов и активных форм кислорода (АФК), которые приводят к окислительному повреждению всех основных биологических макромолекул и развитию окислительного стресса. В этой связи, наибольшее распространение среди радиопротекторов получили препараты антиоксидантного действия, т.к. они подавляют процессы свободно-радикального окисления и способны снизить поражающее действие ионизирующего излучения [1]. Однако, многие химические радиопротекторы имеют серьезные побочные эффекты и эффективны в сублетальных дозах, что ограничивает их применение. Использование природных антиоксидантов в качестве радиопротекторов, в особенности ферментов-антиоксидантов, которые нетоксичны и на несколько порядков эффективнее низкомолекулярных антиоксидантов является перспективным подходом [2]. Расширение субстратной специфичности препаратов антиоксидантного действия также является актуальной задачей. В этом смысле весьма перспективным является создание химерных ферментов-антиоксидантов, способных нейтрализовать все основные типы АФК. С помощью генно-инженерных методов нами был получен химерный белок PSH, который состоит из марганецсодержащей супероксиддисмутазы (MnSOD) и пероксиредоксина 6 (Prx6) [3]. MnSOD дисмутирует супероксид в H₂O₂, а Prx6 способен нейтрализовать различные неорганические и органические гидропероксиды, что позволяет химерному белку PSH нейтрализовать максимально широкий спектр АФК.

На мышах линии Кv:SHK проведено исследование радиозащитных свойств белка PSH при его внутривенном введении. Средняя продолжительность жизни контрольных мышей облученных рентгеновским излучением в дозе 7 Гр (1 Гр/мин) составляет 7 сут, а максимальное время дожития 13 сут. Животные, получавшие внутривенное введение PSH (40 мкг/г) за 15 минут до воздействия рентгеновского излучения в дозе 6 Гр, оставались в живых в течение 30 суток. При увеличении поглощенной дозы до 7 Гр к 30-ым суткам оставались в живых ~ 95%, при дозе 8 Гр ~ 50%, а при дозе 9 Гр ~ 10% животных, получавших PSH (40 мкг/г). Средняя продолжительность жизни мышей, получавших PSH перед облучением в дозе 10 Гр составляет 5 сут, а максимальное время дожития 8 сут. Для контрольных животных, получавших внутривенную инъекцию изотонического раствора за 15 минут до облучения, LD_{50/30} ~ 6,1 Гр, а при внутривенном введении раствора PSH (40 мкг/г) LD_{50/30} ~ 8,0 Гр. Соответственно фактор изменения дозы (ФИД) для PSH при его внутривенном введении за 15 мин до облучения ~ 1,30.

Исследовано влияние внутривенного введения раствора PSH (40 мкг/г), на содержание лейкоцитов, гранулоцитов и тромбоцитов в периферической крови мышей, облученных в дозе 7 Гр. В контрольной группе животных, не получавших инъекцию PSH, количество лейкоцитов и гранулоцитов к 7-му дню эксперимента уменьшилось почти на 95%, количество тромбоцитов также снизилось на 95% к 9-му дню. В крови животных, получавших PSH, количество лейкоцитов и гранулоцитов к 7-му дню снизилось на 80% и 75% соответственно, а количество тромбоцитов к 9-му дню снизилось лишь на 50%. В дальнейшем в группе контрольных облученных мышей количество лейкоцитов, гранулоцитов и тромбоцитов продолжало снижаться вплоть до их смерти. В группе животных, которым вводили PSH, к 14 суткам после облучения, количество форменных элементов крови начинало расти, а к 30-му дню наблюдается почти полное восстановление. Кроме того, введение PSH (40 мкг/г) животным до облучения снижает процент полихроматофильных эритроцитов, содержащих микроядра, примерно на 60% по сравнению с облученным контролем. Таким образом, введение PSH перед облучением в сублетальных и летальных дозах, способствует сохранению клеток костного мозга, снижает тяжесть радиационно-индуцированной тромбо- и лейкопении, а также способствует росту выживаемости животных.

Работа поддержана грантом РФФИ 19-04-00080-а.

1. Sharapov M.G., Novoselov V.I., Gudkov S.V. Radioprotective Role of Peroxiredoxin 6 // *Antioxidants (Basel)*. 2019 Vol. 8 (1). pii: E15.
2. Гудков С.В., Попова Н.Р., Брусков В.И. Радиозащитные Вещества: История, Тенденции и Перспективы // *Биофизика*. 2015. Т. 60. № 4. С. 801-811.
3. Шарапов М.Г., Новоселов В.И., Равин В.К. Получение Химерного Фермента, Совмещающего Активность Супероксиддисмутазы и Пероксидазы // *Биохимия*. 2016. Т. 81. № 4. С. 571-579.

ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ КОМПЛЕКСА ПРОТОННОЙ ТЕРАПИИ «ПРОМЕТЕУС» ДЛЯ БИОФИЗИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА ЖИВОТНЫХ

APPLICATION OF PROTON THERAPY COMPLEX "PROMETEUS" FOR BIOPHYSICAL STUDIES ON ANIMALS

Шемяков А.Е.¹, Смирнова Е.Н., Розанова О.М.¹, Заичкина С.И., Сорокина С.С., Дюкина А.Р., Белякова Т.А.¹, Балакин В.Е.¹

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, alshemyakov@yandex.ru

¹Физико-технический центр ФИАН им. П.Н. Лебедева РАН, Протвино

В настоящее время протонная терапия (ПТ) используется для лечения многих видов онкологических заболеваний. Она особенно подходит в тех случаях, когда другие способы лечения не могут обеспечить должного терапевтического эффекта, а традиционная лучевая терапия представляет большой риск для пациента. ПТ особенно результативна для лечения опухолей глаза и глазной впадины, опухолей головного мозга, рака предстательной железы и детской онкологии. В России существует 5 центров ПТ: на базе ПИЯФ в г.Гатчина, на базе ОИЯИ в г.Дубна, ЛДЦ МИБС г.Санкт-Петербург, МРНЦ г.Обнинск, на базе ФТЦ ФИАН г.Протвино. Зачастую протонные центры являются медицинскими учреждениями или находятся на территории медицинских комплексов, что накладывает ограничения на регулярное использование данных установок для исследовательских целей.

На базе ФТЦ ФИАН в г.Протвино комплекс протонной терапии «Прометеус» разрабатывается и эксплуатируется в рамках научно-исследовательского предприятия, что предоставляет возможность проведения физических и биологических экспериментов. Данный комплекс состоит из компактного синхротрона диаметром 5 м и массой 15 т, встроенной рентгеновской трубки и детектора, кресла для иммобилизации пациента, комплекта программного обеспечения. Установка способна ускорять протоны в диапазоне энергий 30-330 МэВ. Облучение объектов-мишеней осуществляется в импульсном режиме методом сканирования тонким пучком протонов заданного объема. Диаметр пучка зависит от энергии и составляет 5 - 20 мм. На терапевтической установке «Прометеус» также можно формировать протонные пучки с модифицированным пиком Брегга и облучать до пика, в пике и после пика Брегга. Для проведения биофизических экспериментов разработана специальная платформа для размещения объектов в поле облучения, позволяющая облучать с разных направлений. В программу контроля и управления установкой были внесены дополнения, позволяющие быстро составлять планы облучения по заданным координатам на платформе и с заданной интенсивностью пучка. Для каждого эксперимента проводится как минимум одна процедура съемки проекций при вращении платформы на 360 градусов и восстанавливается трехмерный объект для анализа и планирования облучения. Все данные по текущему эксперименту: расположение объекта, проекции, трехмерная модель, планы облучения и т.д. вносятся в базу данных, параллельную базе данных пациентов. Таким образом, каждый эксперимент может быть восстановлен из архива и воспроизведен повторно без проведения долгих подготовительных процедур. Появление такого оборудования создало предпосылки для создания исследовательского модуля, на котором проводятся эксперименты на культурах нормальных и опухолевых клеток мышей, лимфоцитах здоровых и с разными формами и стадиями онкозаболеваний людей, а также лабораторных животных в условиях тотального и локального облучения разных частей тела.

В результате был проведен комплекс радиобиологических и биофизических исследований в условиях *in vivo* и *in vitro* с использованием разнообразных методик в зависимости от способов доставки пучков протонов, дозы и объемов облучения. Эксперименты на модельных объектах внесли существенный вклад при освоении и отладке оборудования, апробирования разных вариантов позиционирования, контроля корректной доставки дозы, решения проблем дозиметрии. Получены уникальные экспериментальные данные по определению относительной биологической эффективности протонов при облучении животных как низкими, так и высокими дозами с использованием батареи современных чувствительных тестов, отработаны схемы гипофракционированного лечения солидной карциномы Эрлиха у мышей, исследованы проблемы рецидивирования опухолей после радиотерапии, что вносит важный вклад в понимание специфики действия протонов на живые объекты. Полученные данные открывают новые возможности для развития ПТ и использования их при оценке радиационной нагрузки при длительных космических полетах.

О ПУТЯХ ВКЛЮЧЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ МАГНЕТИТА В СОСТАВ ЛИПОСОМ НА ОСНОВЕ СОЕВОГО ЛЕЦИТИНА

WAYS OF INCLUSION OF MAGNETITE NANOPARTICLES IN THE COMPOSITION BY LIPOSOM ON THE BASIS OF SOYA LECITHIN

*Шилова Е.В., Колтаков И.А., Артюхов В.Г.
ФГБОУ ВО ВГУ*

На сегодняшний день наночастицы применяют в различных областях биологии и клинической медицины. Липосомы, нагруженные железосодержащими наночастицами (магнитолипосомы), позволяют комбинировать диагностику и лечение, инкапсулируя контрастные агенты для МРТ вместе с терапевтическими средствами. Более того, использование липосом решает проблему растворимости и коллоидной устойчивости магнитных наночастиц, которые могут коагулировать и формировать агрегаты в кровеносном русле, что приводит к эмболии сосудов и ишемическому повреждению клеток. Включение магнетита в состав липосом может происходить различными путями, наиболее предпочтительным из которых является введение магнитных наночастиц в состав липидного бислоя. Это позволяет сохранить объём внутренней полости липосом для включения большего количества лекарственного вещества. [1,2] В связи с этим изучение возможных путей включения наночастиц магнетита в липосомы из соевого лецитина представляет большой практический интерес.

Наночастицы магнетита получали методом соосаждения, используя хлорид железа (III) и сульфат железа (II) в соотношении 2/1 в концентрации 30 ммоль/л по железу. В качестве осадителя использовали 1% раствор аммиака. Поверхность полученных наночастиц магнетита модифицировали цетилтриметиламмония бромидом (ЦТАБ) в концентрации 0,06М. После лиофильного высушивания контрольных наночастиц и комплекса магнетит-ЦТАБ вводили в составе натрий-фосфатного буфера в липосомы, которые готовили методом гиратации/регидратации.

На первом этапе нами был определён размер синтезированных нами МНЧ методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ). В ходе проведённых исследований было установлено, что размер МНЧ магнетита составил $4,23 \pm 1,19$ нм. Состав полученных наночастиц контролировали методом рентгеновской дифракции при помощи рентгеновского дифрактометра ARL X'TRA (Thermo Scientific). Обнаруженные на рентгенограммах наночастиц пики $2\theta = 18; 30,20; 35,53; 43,1; 53,5; 57,1$ соответствуют пикам стандартного образца магнетита (PDF-2 карта №880315), а пики $2\theta = 33^\circ$ и $53,5^\circ$ соответствуют структуре маггемита ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) (PDF-2 карта № 00-052-1449). Присутствие рефлексов фазы маггемита связано с термодинамической неустойчивостью магнетита, который при комнатной температуре и в кислородной атмосфере быстро окисляется до $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$. Процесс окисления магнетита происходит вследствие диффузии катионов железа Fe^{2+} к поверхности наночастиц, где Fe^{2+} окисляется до Fe^{3+} , формируя тонкий слой $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$.

Оценку встраивания магнетита в липосомы производили спектрофотометрическим методом, регистрируя электронные спектры поглощения растворов, образованных после разрушения липосом в 1% Triton-X100 и центрифугирования при 50000 об/мин.

Процент встраивания оценивали по формуле: $H\% = 100 - D_{\text{лиз}}^{412} / D_{\text{исх}}^{412} \times 100\%$, где $H\%$ - количество включённого в мембрану липосом магнетита, в процентах; $D_{\text{лиз}}^{412}$ - оптическая плотность раствора после разрушения и центрифугирования липосом, $D_{\text{исх}}^{412}$ - оптическая плотность исходного коллоидного раствора магнетита в буфере.

Исследования показали, что в случае магнетита без оболочки наблюдается включение 48,2% магнетита, при использовании покрытия в виде ЦТАБ в липидный бислой включается 74,4% магнетита. Таким образом, покрытие наночастиц магнетита молекулами ЦТАБ способствует встраиванию наночастиц в структуру липидного бислоя липосом, освобождая место внутренней полости липосом для переноса лекарственных препаратов. Установление механизмов встраивания наночастиц магнетита в состав липосом из соевого лецитина позволит усовершенствовать технологии получения магнитолипосом для применения в клинической практике.

1. Triggered Release from Liposomes through Magnetic Actuation of Iron Oxide Nanoparticle Containing Membranes Esther Amstad, J. Kohlbrecher, E. Müller, Thomas Schweizer, Marcus Textor, and Erik Reimhult. *Nano Lett.*, 2011, 11 (4), pp 1664–1670

2. Low-dose chemotherapy of hepatocellular carcinoma through triggered-release from bilayer-decorated magnetoliposomes Y Chen, Y Chen, D Xiao, A Bose, R Deng, GD Bothun. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 116, 452-458. 2014

ИЗУЧЕНИЕ ВЯЗКОСТИ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК С ПОМОЩЬЮ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО МОЛЕКУЛЯРНОГО РОТОРА И ВРЕМЯ-РАЗРЕШЕННОЙ МИКРОСКОПИИ FLIM ПРИ ХИМИОТЕРАПИИ

STUDYING THE TUMOR CELLS VISCOSITY USING FLUORESCENT MOLECULAR ROTOR AND TIME-RESOLVED MICROSCOPY FLIM DURING CHEMOTHERAPY

Шимоллина Л.Е.^{1,2}, Ширманова М.В.¹, Куимова М.К.³, Лукина М.М.¹, Игнатова Н.И.¹, Загайнова Е.В.¹

¹ ФГБОУ ВО «ПИМУ», 603005, Нижний Новгород, Россия

² ФГБОУ ВПО «ННГУ им. Н.И. Лобачевского», 603950, Нижний Новгород, Россия

³ Имперский колледж Лондона, Лондон, Великобритания

Вязкость является одним из важнейших свойств, характеризующих биологическую систему. Изменение значения вязкости отражается на физических и химических процессах, имеющих первостепенное значение для клетки. В биологических системах изменения вязкости на внутриклеточном уровне могут быть связаны с серьезными изменениями физиологического состояния клетки и развитием заболеваний, в том числе рака.

В связи с повсеместным распространением онкологических заболеваний, поиск новых и усовершенствование существующих методов лечения рака представляет собой актуальную задачу. На сегодняшний день химиотерапия широко используется для лечения разных форм рака, однако до сих пор описаны не все физиологические реакции, возникающие при её действии на живую опухолевую клетку. Тем не менее, недавние исследования показали, что от вязкости мембраны зависит ее проницаемость для химиопрепаратов [1] и вязкость опухолевых клеток уменьшается в процессе терапии цисплатином [2]. Кроме того, значение вязкости выше у клеток, резистентных к химиопрепаратам [3]. Исследование действия препаратов на вязкостные свойства живых клеток важно для глубокого понимания механизмов их цитотоксичности.

Целью исследования было изучение микровязкости клеток колоректального рака человека и мышцы в культуре с помощью молекулярного ротора BODIPY2 [4] и время-разрешенной флуоресцентной микроскопии FLIM в процессе терапии препаратами платинового ряда.

Исследование было выполнено на культурах опухолевых клеток СТ26 (колоректальный рак мышей) и НСТ116 (колоректальный рак человека). Измерения вязкости осуществлялись с использованием молекулярного флуоресцентного ротора BODIPY2 [4]. Химиотерапия клеток СТ26 проводилась препаратом цисплатин в дозе 2.57 мкМ (IC50). Индукцию химиорезистентности проводили на клетках НСТ116 путем длительной инкубации с оксалиплатином. С помощью двухфотонной флуоресцентной микроскопии с опцией временного разрешения FLIM на многофотонном томографе MPTflex (JenLab, Германия) осуществлялась регистрация времени жизни флуоресценции молекулярного ротора. Имиджинг клеток СТ26 проводился через 10 минут, 1, 3, 6 и 24 часов инкубации с цисплатином. Имиджинг клеток НСТ116, длительно инкубированных с малой дозой оксалиплатина, производился в сравнении с клетками того же пассажа без воздействия на разных временных точках после начала индукции.

Вязкость мембран клеток СТ26 до проведения химиотерапии составила 319 ± 30 сП. Полученное значение хорошо коррелирует с данными, полученными для исследования вязкости опухолевых клеток СТ26 в системе *in vivo* на мышах с опухолью [5].

В процессе инкубации клеток СТ26 с цисплатином в первый час мониторинга наблюдалось снижение вязкости мембраны по сравнению с контролем с 319 ± 30 сП до 271 ± 33 сП. К 6 часам инкубации значения вязкости стали сравнимы с контрольными значениями и составили 305 ± 25 сП, а через 24 часа инкубации было зарегистрировано значительное увеличение микровязкости до 384 ± 29 сП ($p=0.005$).

В ходе работы была предпринята попытка оценить изменения микровязкости цитоплазматической мембраны клеток колоректального рака человека НСТ116 на ранних этапах формирования резистентности к оксалиплатину. В процессе индукции химиорезистентности к оксалиплатину была зарегистрирована тенденция к увеличению вязкости мембраны с 458 сП до 560 сП при использовании дозы $1/10IC_{50}$, $1/2 IC_{50}$ и IC_{50} . Кроме того, отмечалась высокая гетерогенность вязкости среди химиорезистентных клеток.

Таким образом, в ходе работы впервые были выполнены измерения вязкости мембран опухолевых клеток методом FLIM с флуоресцентным молекулярным ротором при воздействии препаратами платинового ряда. Полученные данные об изменении вязкости под действием препаратов могут свидетельствовать о новых механизмах их действия, не связанных с повреждением ДНК. Перспективным направлением дальнейших исследований является оценка вязкостных изменений химиорезистентных опухолевых клеток в модели *in vivo* при терапии данными препаратами.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (проект № 18-29-09054).

1. Taylor K. et al. Brit. J. of Canc., 1995
2. Rebillard A. et al. Canc. Res., 2007
3. Huang Z. et al. Canc. Cell Inter., 2003
4. Bull J. A. and Kuimova M. K., Chem. Commun., 2013
5. Shimolina L.E. et al. Sci Rep., 2017

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ИМИДЖИНГ И ЛЕЧЕНИЕ ОПУХОЛЕЙ С ПОМОЩЬЮ НОВЫХ ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫХ БЕЛКОВ

FUNCTIONAL IMAGING AND TREATMENT OF TUMORS USING NEW FLUORESCENT PROTEINS

Ширманова М.В.^{1*}, Лукина М.М.¹, Дружкова И.Н.¹, Полозова А.В.¹, Лукьянов К.А.², Белоусов В.В.², Д.В. Южакова¹, Загайнова Е.В.¹

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород *shirmanovam@mail.ru

²Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва

Основное и наиболее широкое приложение генетически-кодируемых флуоресцентных белков связано с генетическим маркированием белков, субклеточных компартментов и целых клеток и их наблюдением в разных системах, включая организм модельных животных. Благодаря разработке обширного ряда генетически кодируемых сенсоров и фототоксичных белков, область применения флуоресцентных белков значительно расширилась. Поскольку ткани животных обладают плохой проницаемостью для света, применение генетически кодированных сенсоров и фотосенсибилизаторов в сложных опухолевых моделях - многоклеточных сфероидов и опухолях животных - остается нетривиальной задачей.

В наших исследованиях были разработаны оригинальные методики функциональной визуализации раковых клеток и тканей от микро- до макроскопического масштаба и прямого фотоповреждения раковых клеток с помощью флуоресцентных белков. В докладе будут представлены результаты по оценке цитоплазматического pH сенсором SypHer-2, визуализации клеточного цикла сенсором Fucci-Red и фотодинамической терапии с белком KillerRed. В качестве моделей для каждого из инструментов использовались монослойные клеточные культуры, опухолевые сфероиды и на опухоли мышей.

Обратный градиент pH с повышенными цитозольными и пониженными внеклеточными значениями по сравнению с нормальными тканями является отличительной чертой солидных опухолей. Новый генетически кодированный pH-сенсор SypHer2 открывает возможность ратиометрической оценки pH при возбуждении флуоресценции на двух длинах волн [1,2]. Визуализация pH в опухолевых сфероидов показала значительную разницу между центральной и периферической зонами на микроскопическом уровне, с более щелочным pH в периферических и более кислым pH в центральных слоях клеток [2]. С помощью флуоресцентного имиджинга на уровне целой опухоли была обнаружена высокая степень меж- и внутриопухолевой гетерогенности pH. Кроме того, мы исследовали взаимосвязь между цитозольным pH и реакцией раковых клеток на химиотерапию цисплатином *in vitro* и *in vivo* [3]. Выраженная способность поддерживать слабощелочной pH цитозоля была обнаружена в выживающих клетках, в отличие от умирающих.

Потеря контроля над регуляцией клеточного цикла – принципиальная черта раковых клеток. Для визуализации фаз клеточного цикла недавно был разработан сенсор Fucci-Red на основе двух красных флуоресцентных белков с разными временами жизни флуоресценции. Возбуждение и регистрация эмиссии в одном спектральном канале позволяет комбинировать сенсор с другими флуорофорами, например, эндогенными метаболическими кофакторами, делая возможным мультипараметрический имиджинг. В работе на опухолевых сфероидов было показано преобладание клеток в S/G2/M фазах в периферических слоях. В опухолях животных показана высокая корреляция процентного содержания S/G2/M-клеток с количеством митозов. Предложены методики визуализации клеточного цикла в опухолях *in vivo* с помощью FLIM-микроскопии и FLIM-макроимиджинга [4].

Фототоксичные белки KillerRed и miniSOG - первые генетически-кодируемые фотосенсибилизаторы [5,6]. В наших исследованиях мы оценивали их фототоксичность на опухолевых сфероидов и моделях опухолей животных. Была продемонстрирована возможность вызывать выраженные патоморфологические изменения и ингибирование роста опухоли у мышей с помощью KillerRed. В попытке добиться лучшего противоопухолевого эффекта проводилось сравнение непрерывного и импульсного лазерного режима. Показано, что импульсный режим обеспечивает более высокую скорость фотовыгорания KillerRed и miniSOG без повышения температуры и, в целом, может быть более эффективен. Благодаря стабильной экспрессии в конкретном клеточном компартменте, эти белки представляют собой хороший инструмент для изучения механизмов и моделирования эффектов фотодинамической терапии ФДТ.

Таким образом, флуоресцентные белки в сочетании с технологиями флуоресцентной визуализации представляют собой ценный инструмент для *in vivo* исследований опухолевой прогрессии и для разработки новых подходов к лечению рака.

Работа поддержана грантами РФФИ №18-29-01022, 17-00-00193, 18-42-520027.

1. Matlashov ME et al. Fluorescent ratiometric pH indicator SypHer2: applications in neuroscience and regenerative biology. *Biochim Biophys Acta* 1850(11):2318–2328 (2015)
2. Shirmanova MV, et al. Intracellular pH imaging in cancer cells *in vitro* and tumors *in vivo* using the new genetically encoded sensor SypHer2. *Biochim Biophys Acta* 1850:1905–1911 (2015)
3. Shirmanova, MV et al. Chemotherapy with cisplatin: insights into intracellular pH and metabolic landscape of cancer cells *in vitro* and *in vivo*, *Scientific Reports* 7, 8911 (2017)
4. Shchslavskiy VI, et al. Fluorescence time-resolved macroimaging. *Opt Lett.* 43(13), 3152-3155 (2018)
5. Shirmanova M, et al. Towards PDT with Genetically Encoded Photosensitizer KillerRed: A. *PLoS ONE* 10(12): e0144617 (2015)
6. Ryumina, A.P., et al. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects.* 2013; 1830(11): 5059 - 5067

ТРАНСЛЯЦИОННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИМПУЛЬСНОЙ МАГНИТОТЕРАПИИ В НЕЙРООНКОЛОГИИ

TRANSLATIONAL POSSIBILITIES OF PULSED MAGNETOTHERAPY IN NEUROONCOLOGY

Попов И.А., Шихлярова А.И., Жукова Г.В., Росторгуев Э.Е., Атмачиди Д.П., Протасова Т.П., Гусарева М.А., Тимошкина Н.Н., Потемкин Д.С., Арапова Ю.Ю., Стасов В.В.

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» МЗ РФ, Ростов-на-Дону, shikhliarova.a@mail.ru

Благодаря техническому прогрессу и формированию фундаментальных основ применения магнитотерапии (МТ) в нейроонкологии, укрепилась ее биофизическая платформа (1). Изучена роль биотропных параметров и алгоритмы воздействий, критерии оценки и механизмы неспецифического противоопухолевого влияния различных частотных диапазонов от крайне- до сверхнизкочастотных (СНЧ) (2,3). Нацеленность современных технологий на специфическое повреждение опухолевых глиальных клеток с помощью резонансных систем типа ResonanceGeneratingFields (США) или СВЧ с частотой крутильных колебаний ДНК безусловно оправдана, но имеет ряд сложностей трансляции в клинику. Широкую клиническую популярность приобретает транскраниальная импульсная магнитотерапия (ИМТ) в неврологии, однако высказываются сомнения в существенном влиянии на жизнеспособность клеток злокачественных новообразований. Вместе с тем, воздействия импульсным магнитным полем увеличивается чувствительность клеток исследуемых культур к ионизирующему излучению. По-видимому, комбинация неспецифической и специфической компоненты ИМТ может определить решение этой проблемы как при монофакторном режиме использования, так и в комплексе с лучевой терапией злокачественных опухолей.

В работе исследовано влияние СНЧ режимов ИМТ и лучевой терапии (ЛТ) при раздельном и сочетанном воздействии на рост клеточной культуры глиобластомы человека T98G. Воздействие импульсным магнитным полем проводилось на аппарате "Нейро-МС/Д терапевтический расширенный" компании "Нейрософт" в режиме сверхнизких частот $F=0,3$ Гц ($t=5$ мин), $F=3$ Гц ($t=1$ мин), $F=9$ Гц ($t=1$ мин) при $B=300$ мТл или 15 мТл, t общее = 7 мин. Влияние ионизирующего излучения осуществляли в дозе 10 Гр на аппарате TheratronEquinox фирмы BestTheratronics, в качестве источника излучения использовался кобальт-60. Один культуральный планшет являлся контрольным и не подвергался ни лучевому, ни ИМТ воздействию. Результаты оценивали через три и через двадцать четыре часа после воздействия.

Были получены достоверные различия в уровне митотического индекса, процентном соотношении количества мертвых клеток к их общему количеству (летальность). Через 3 часа после лучевого воздействия выявлен максимальный уровень летальности. При сочетании воздействий ионизирующего излучения с ИМТ при индукции 15 мТл, значения летальности оставались на том же высоком уровне. Монофакторные воздействия ИМТ как с индукцией 15 мТл, так и с индукцией 300 мТл способствовали снижению митотического индекса в $3,6-2,4$ раза соответственно, а также увеличению в $2,4-2,5$ раз летальности культуры относительно контроля. Максимальное снижение митотического индекса было зафиксировано через 24 часа после воздействия ИМТ 15 мТл и соответствовало уровню в $4,7$ раза ниже, чем в контроле.

Полученные результаты свидетельствуют о доступности сверхнизкочастотных слабых ИМП к интимным механизмам регуляции клеточного деления, что подтверждает их ингибирующее влияние на жизнеспособность культуры клеток глиобластомы человека T98G. Это указывает на перспективы применения импульсной транскраниальной магнитотерапии в качестве сопроводительного метода лечения в нейроонкологии.

1. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С., Шихлярова А.И. Антистрессорные реакции и активационная терапия. Реакция активации как путь к здоровью через процессы самоорганизации. – Екатеринбург: «Филантроп», – 2003. – 336 с.
2. Жукова Г.В. Использование принципов активационной терапии для повышения противоопухолевой эффективности электромагнитных воздействий в эксперименте: Дис. ... докт. биол. наук. Ростов н/Д., – 2006. – 50 с.
3. Шихлярова А.И. Роль биотропных параметров электромагнитных полей в повышении неспецифической противоопухолевой резистентности: Автореф. дис. докт. биол. наук. – Ростов-н/Д., – 2001. – 50 с.

ФОТОИНАКТИВАЦИЯ ПОКОЯЩИХСЯ ФОРМ MYCOBACTERIUM SMEGMATIS ПОСРЕДСТВОМ ИХ ЭНДОГЕННЫХ ПОРФИРИНОВ

PHOTOINACTIVATION OF DORMANT MYCOBACTERIUM SMEGMATIS DUE TO ITS ENDOGENOUS PORPHYRINS

Шлеева М.О., Савицкий А.П., Никитушкин В.Д., Соловьев И.Д., Казачкина Н.И., Переваров В.В., Капрельянц А.С.

Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва, 119071, Россия

Возбудитель туберкулеза (ТБ) - *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) способен в неблагоприятных условиях образовывать покоящиеся формы, которые не только приобретают устойчивость ко всем известным антибактериальным препаратам, но и способны десятилетиями сохранять жизнеспособность в организме человека и переходить в активное состояние, вызывая возобновление болезни. Покоящиеся формы микобактерий, в частности *Mtb*, сильно отличаются по своим биохимическим и микробиологическим характеристикам от активно размножающихся бактерий. В экспериментальных моделях *in vitro*, в которых массово образуются «некультивируемые» покоящиеся формы *Mtb*, обладающие незначительной метаболической активностью, известные противотуберкулезные препараты не активны.

Ранее нами было обнаружено, что быстрорастущий родственник возбудителя ТБ - *Mycobacterium smegmatis* (*Msm*) способен накапливать эндогенно некоторые свободные порфирины, а именно, копропорфирин III и уропорфирин III, а также их метиловые эфиры (Nikitushkin, 2016) во время перехода в покоящееся состояние. Протеомный анализ *Msm* выявил значительную выраженность ферментов синтеза порфирина (порфибилиногендеаминаза, дегидратаза дельта-аминолевулиновой кислоты, декарбоксилаза уропорфириногена) в покоящихся *Msm* (п*Msm*), в отличие от активных микобактерий (Trutneva, 2018).

Целью данной работы являлось детальное изучение накопления порфиринов при переходе активных *Msm* в покоящееся состояние, а также оценка эффективности фотодинамической инактивации покоящихся микобактерий.

Увеличение концентрации метилированных форм копропорфирина в стационарной фазе в клетках *Msm* (через 6 дней роста) коррелировало с развитием постепенного подкисления культуры и началом снижения метаболической активности микобактерий, что, в свою очередь, сопровождалось образованием овоидных покоящихся форм, в отличие от палочковидных бактерий логарифмической фазы роста. Конфокальная микроскопия п*Msm* выявила неравномерность распределения флуоресценции по овоидам. Методом микроспектроскопии доказана порфириновая природа флуоресценции п*Msm*.

Мы оценили влияние света с разными длинами волн, излучаемого пятью светодиодами на жизнеспособность п*Msm*. Наибольшая инактивация микобактерий наблюдалась при 400 и 570 нм, что совпадает с основным максимумом спектра поглощения экстрагированных порфиринов (около 400 нм и 550-600 нм). При использовании светодиода 400 нм п*Msm* быстро погибали, демонстрируя снижение числа колониеобразующих единиц (КОЕ) с 10^7 до 2×10^4 , однако продолжающееся освещение не приводило к дальнейшему падению КОЕ. Подобное быстрое изменение КОЕ в течение первых пяти минут освещения было обнаружено при использовании лазера 570 нм, однако, в последнем случае наблюдалось дальнейшее медленное снижение КОЕ до 10^2 при более длительном освещении. Метаболически активные клетки *Msm*, полученные из экспоненциальной фазы роста, не были чувствительны к освещению в течение 60 минут.

Это исследование впервые демонстрирует возможность *in vitro* фотоинактивации покоящихся форм микобактерий. Современные исследования в этой области в основном направлены на использование экзогенно добавленных фотосенсибилизаторов для проведения ФДИ микобактерий. Обнаруженный нами факт самопроизвольного накопления эндогенных порфиринов при переходе микобактерий в состояние покоя является уникальным и расширяет горизонты применения фотодинамической терапии по отношению к возбудителю туберкулеза.

Работа поддержана грантом РФФ № 19-15-00324.

1. Nikitushkin VD, Shleeva MO, Zinin AI, Trutneva KA, Ostrovsky DN, Kaprelyants AS. The main pigment of the dormant *Mycobacterium smegmatis* is porphyrin. FEMS Microbiol Lett. 2016; 363(19).
- 2 Trutneva K.A, Shleeva MO, Nikitushkin VD, Demina GR, Kaprelyants AS. Protein composition of *Mycobacterium smegmatis* differs significantly between active cells and dormant cells with ovoid morphology. Front. Microbiol., 2018, 9:2083.

ВЛИЯНИЕ ДИКАРБОНИЛОВ НА ТОНУС ИЗОЛИРОВАННЫХ СОСУДОВ КРЫС THE INFLUENCE OF DICARBONYLS ON THE TONE OF ISOLATED VESSELS OF RATS

Мох В.П., Шумаев К.Б.¹, Дорожук А.Д., Рууге Э.К.²

Федеральное государственное бюджетное учреждение Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, vmokh@mail.ru

¹Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва, tomogov@mail.ru

²Физический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва

Известно, что при развитии ряда заболеваний возникает карбонильный и окислительный стресс, которые приводят к дисфункции эндотелия [1-3]. Одним из самых реакционноспособных соединений, накапливающихся при карбонильном стрессе, является α -оксоальдегид метилглиоксаль. Это активное дикарбонильное соединение образуется при неферментативном окислении сахаров, а также в ходе метаболизма триозофосфатов, треонина и ацетона [4]. Важно отметить, что метилглиоксаль влияет на уровень ключевого вазодилатора - оксида азота (NO) [1, 2]. Изомером метилглиоксаля является малоновый диальдегид (МДА) накопление которого происходит при усилении перекисного окисления липидов в условиях окислительного стресса [4]. Несмотря на структурное сходство метилглиоксаля и МДА их действие в биологических системах существенно различается [5]. В связи с этим мы изучали кратковременное действие данных дикарбониллов на тонус кольцевого фрагмента аорты крыс.

Показано, что метилглиоксаль вызывает дозозависимое расслабление фрагмента аорты нормотензивных крыс. Так, этот α -оксоальдегид в концентрации 3×10^{-4} М снижает тонус изолированного сосуда до 20% от контроля. В этой же концентрации малоновый диальдегид снижает тонус сосуда до 80%, однако при более низких дозах МДА сокращение фрагмента аорты напротив увеличивается на 20%. Расслабление сосуда вызванное карбахолином и нитропруссидом (донор NO) более выражено на фоне 1 мМ метилглиоксаля по сравнению с 1 мМ МДА. Таким образом, исследуемые дикарбониллы по-разному влияют на зависимое и независимое от эндотелия расслабление. Метилглиоксаль потенцирует, а МДА уменьшает расслабление изолированного сосуда. После отмывки дикарбониллов, наблюдались значительные отличия в восстановлении основных функциональных реакций сосудов. В случае метилглиоксаля характеристики сосудов восстанавливались полностью, тогда как после МДА происходит выраженное ухудшение основных тонических реакций сокращения и расслабления, причём особенно снижается ответ на норадреналин.

На основании полученных данных можно заключить, что исследуемые дикарбонильные соединения не только являются продуктами различных метаболических путей, но и заметно отличаются по влиянию на функциональные характеристики сосудов. Действие метилглиоксаля является обратимым и может быть связано с его влиянием на метаболизм NO. В наших экспериментах с помощью спектроскопии ЭПР было обнаружено, что метилглиоксаль может участвовать в образовании таких метаболитов оксида азота, как динитрозильные комплексы железа. Установлено, что при модификации биомолекул метилглиоксалем возникают новые лиганды этих комплексов. Известно, что динитрозильные комплексы железа с тиольными лигандами обладают широким спектром биологической активности [6], в том числе являются эффективными вазодилаторами [7]. С другой стороны, метилглиоксаль влияет на уровень супероксидного радикала [8, 9], который играет важную роль в утилизации NO в биологических системах. Вместе с тем, действие МДА может быть связано с необратимой модификацией белков сосудистой стенки, в том числе с образованием внутри и межмолекулярных сшивок [3, 4].

Работа поддержана грантами РФФИ № 18-015-00125 и 19-015-00444.

1. Dhar A. et al. Methylglyoxal scavengers attenuate endothelial dysfunction induced by methylglyoxal and high concentrations of glucose // *British J Pharmacol.* 2010. Vol. 161. P. 1843–1856.
2. Jo-W.A. et al. Glyoxalase I reduces glycative and oxidative stress and prevents age-related endothelial dysfunction through modulation of endothelial nitric oxide synthase phosphorylation // *Aging Cell.* 2014. Vol. 13. P. 519-528.
3. Samsonov M.V. et al. Impact of Atherosclerosis- and Diabetes-Related Dicarboxyls on Vascular Endothelial Permeability: A Comparative Assessment // *Oxid Med Cell Longev.* 2017. Vol. 2017.
4. Vistoli G. et al. Advanced glycoxidation and lipoxidation end products (AGEs and ALEs): an overview of their mechanisms of formation // *Free Radic Res.* 2013. Vol. 47. P. 3–27.
5. Ланкин В.З. и др. Влияние дикарбониллов на кинетические характеристики глутатионпероксидазы // Доклады Академии наук. - Биохимия и биофизика. 2017. Т. 475. С. 706-709.
6. Vanin A.F. Dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands as a “working form” of endogenous nitric oxide // *Nitric Oxide.* 2016. Vol. 54. P. 15–29.
7. Vanin A.F., Mokh V.P. et al. Vasorelaxing activity of stable powder preparations of dinitrosyl iron complexes with cysteine or glutathione ligands // *Nitric Oxide.* 2007. Vol. 16. P. 322-330.
8. Шумаев К.Б. и др. Механизм образования супероксидного радикала при взаимодействии L-лизина с дикарбонильными соединениями // Биохимия. 2009. Т. 74 С. 568-574
9. Шумаев К.Б. и др. Взаимодействие супероксидных радикалов с активными дикарбонильными соединениями // Биофизика. 2017. Т. 62. С. 237-242.

РОЛЬ ДИНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА В СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОМ ОКИСЛЕНИИ БИОМОЛЕКУЛ**THE ROLE OF IRON DINITROSYL COMPLEXES IN FREE RADICAL OXIDATION OF BIOMOLECULES*****Шумаев К.Б., Пугаченко И.С., Космачевская О.В., Топунов А.Ф., Ванин А.Ф.¹, В.П. Мох², Рууге Э.К.^{2,3}***Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва, tomogov@mail.ru¹Институт химической физики имени Н.Н. Семёнова Российской академии наук, Москва²Федеральное государственное бюджетное учреждение Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва³Физический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва

Активные формы кислорода и азота играют ключевую роль в процессах свободнорадикального окисления различных биологических молекул. Известно, что оксид азота (NO) и его метаболиты могут как стимулировать, так и ингибировать реакции свободнорадикального окисления [1]. Вместе с тем, NO является важнейшей сигнальной молекулой, в том числе благодаря модификации реакционноспособных групп и регуляторных сайтов белков и других биополимеров. Динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) являются метаболитами оксида азота, имеющими широкий спектр физиологического действия [2-5]. ДНКЖ с тиольными лигандами подавляют агрегацию тромбоцитов и апоптоз в клеточных культурах, стимулируют восстановление организма после термических травм, снижают зону инфаркта на изолированном сердце животных, обладают выраженным гипотензивным действием, предотвращают развитие эндометриоза и некоторых видов рака. Многие физиологические эффекты ДНКЖ могут быть связаны с их антиоксидантными и прооксидантными свойствами. В связи этим мы исследовали влияние ДНКЖ на свободнорадикальное окисление и окислительную модификацию биологически важных молекул.

Ранее нами было показано, что ДНКЖ с глутатионовыми лигандами эффективно перехватывают супероксидный анион-радикал, продуцируемый дыхательной цепью митохондрий [4]. С помощью метода хемилюминесценции установлено, что ДНКЖ снижают уровень супероксида, генерируемого в ферментативной системе ксантин-ксантинооксидаза. Кроме того, ДНКЖ перехватывают пероксильные радикалы, образующиеся в ходе распада водорастворимого азоинициатора (2,2'-азобис-(2-амидинопропан) дигидрохлорида, ААРН), а также ингибируют перекисное окисление в липосомах и мицеллах ненасыщенных жирных кислот. Методом спектроскопии ЭПР спиновых ловушек получены аналогичные результаты при образовании алкоксильных и пероксильных радикалов в системе, содержащей хлорноватистую кислоту (HOCl) и гидропероксид трет-бутила. Взаимодействие этих органических свободных радикалов с глутатионовыми ДНКЖ позволяет объяснить протекторные свойства последних при индуцированном HOCl гемолизе эритроцитов. Следует отметить, что в наших экспериментах антирадикальное действие ДНКЖ обусловлено как тиольными, так и NO-лигандами этих комплексов. В то же время, после разрушения ДНКЖ в исследуемых модельных системах может усиливаться продукция свободно-радикальных интермедиатов перекисного окисления. Действительно, при распаде ДНКЖ высвобождаются ионы железа, которые реагируют с пероксидами и HOCl с образованием свободных радикалов. Вместе с тем, активные формы кислорода влияют на вазодилаторное действие ДНКЖ. Нельзя также исключить, что продукты реакций ДНКЖ с супероксидом и пероксинитритом играют важную роль в формировании биологически активных нитролипидов.

Окислительная модификация белков также происходит по свободно-радикальному механизму [3, 4]. Такая модификация приводит к формированию карбонильных производных аминокислотных остатков. Известно, что важной мишенью активных форм кислорода и азота является гемоглобин [3]. Нами показано, что ДНКЖ связанные с глутатионом или с остатками Cys93 бета-субъединицы гемоглобина ингибируют формирование карбонильных продуктов после обработки этого белка пероксинитритом.

Исходя из полученных данных можно предположить, что благодаря связыванию ионов железа, NO, тиолов или других редокс-активных лигандов динитрозильные комплексы железа являются “триггерами” процессов свободно-радикального окисления в биологических системах.

Работа поддержана грантами РФФИ № 18-015-00125 и 19-015-00444, а также 18-34-00561_мол_а.

1. Hummel S.G. et al. Nitric oxide as a cellular antioxidant: a little goes a long way// *Free Rad Biol Med.* 2006, V. 40, P. 501.
2. Vanin A.F. Dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands as a “working form” of endogenous nitric oxide // *Nitric Oxide*, 2016, Vol. 54, P. 15–29.
3. Shumaev K.B. et al. Dinitrosyl iron complexes bound with haemoglobin as markers of oxidative stress // *Meth Enzymol.* 2008, Vol. 436, P. 441–457.
4. Shumaev K.B. et al. Dinitrosyl iron complexes: Formation and antiradical action in heart mitochondria // *Biofactors* 2018, Vol. 44, P. 237-244
5. Hsiao H.-Y. et al. Fe in biosynthesis, translocation, and signal transduction of NO: toward bioinorganic engineering of dinitrosyl iron complexes into NO-delivery scaffolds for tissue engineering // *Dalton Trans.* 2019.

**ГЛОБАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КРИВЫХ ЗАТУХАНИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ФЛУОРОФОРОВ
ЛИПОФУСЦИНОВЫХ ГРАНУЛ ИЗ РЕТИНАЛЬНОГО ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ ГЛАЗА
ЧЕЛОВЕКА**

**GLOBAL ANALYSIS OF FLUORESCENCE DECAY CURVES OF LIPOFUSCIN GRANULE
FLUOROPHORES FROM RETINAL PIGMENT EPITHELIUM OF THE HUMAN EYE**

*М.А. Яковлева¹, А.Ш. Радченко¹, Т.Б. Фельдман^{1,2}, А.А. Костюков¹, П.М. Арбуханова³, С.А. Борзенко³,
В.А. Кузьмин¹, М.А. Островский^{1,2}*

¹Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, *E-mail: lina.invers@gmail.com

²МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

³Межотраслевой научно-технический комплекс “Микрохирургия глаза” им. С.Н. Фёдорова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

В настоящее время предпринимаются попытки усовершенствования неинвазивного метода аутофлуоресценции (АФ) глазного дна - перспективного метода диагностики дегенеративных заболеваний сетчатки и ретиального пигментного эпителия (РПЭ). В его основе лежит получение изображения, создаваемого флуоресценцией липофусциновых гранул (ЛГ), которые накапливаются в клетках РПЭ. Флуоресцентные свойства ЛГ обусловлены наличием в них флуорофоров - бисретиноидов (А2Е и др.) и продуктов их фотоокисления и фотодеградации (А2Е_{дег}). Нами было показано, что с возрастом и при патологии в составе ЛГ повышается относительное содержание А2Е_{дег}, но только в случае патологии наблюдается смещение максимума их флуоресценции в коротковолновую область. Чтобы использовать спектральные характеристики АФ для усовершенствования этого диагностического метода, важно определить соответствие времен жизни флуоресценции со спектральными характеристиками флуорофоров ЛГ. Целью данной работы была регистрация кривых затухания флуоресценции хлороформного экстракта из ЛГ при различных длинах волн возбуждения и детектирования. Это было необходимо для выявления различных групп флуорофоров и определения их вклада в суммарную флуоресценцию хлороформного экстракта ЛГ из клеток РПЭ кадаверных глаз человека. Кадаверные глаза без визуализированной патологии были получены из Глазного тканевого банка ФГБУ МНТК “Микрохирургия глаза” им. академика С.Н. Федорова Минздрава России. Измерения времени жизни флуоресценции проводили при помощи метода подсчета коррелированных во времени фотонов. Для исследования сложной флуоресцентной системы, такой как ЛГ в РПЭ, мы применили глобальный анализ (восстановление спектров флуоресценции по кривым распада для отдельных компонентов времени), который определяет компоненты с различным временем жизни в смеси. Анализ кривых затухания флуоресценции показал наличие трех групп флуорофоров с временами жизни флуоресценции $\tau_1=0,2$ нс, $\tau_2=1,5$ нс и $\tau_3=5,6$ нс, для которых были рассчитаны спектры флуоресценции. Первая и вторая группа флуорофоров, с более короткими временами жизни флуоресценции (τ_1 и τ_2), характеризуются более длинноволновой флуоресценцией, в то время как третьей группе флуорофоров с наибольшим временем жизни флуоресценции ($\tau_3=5,6$ нс) соответствует более коротковолновый максимум флуоресценции. Спектральные свойства группы 3, полученные в данном исследовании, а также наши предыдущие результаты, свидетельствуют о том, что эти вещества относятся к окисленным бисретиноидам (А2Е_{дег}), у которых максимум флуоресценции более коротковолновый. Таким образом, было показано, что продукты фотоокисления и фотодеградации бисретиноидов имеют более длительное время жизни флуоресценции (среднее значение около 6 нс), более коротковолновый максимум флуоресценции (в диапазоне 530–580 нм) и значительный вклад (более 30%) в общую флуоресценцию по сравнению с остальными флуорофорами ЛГ. Таким образом, вклад окисленных бисретиноидов в кинетику затухания АФ является важной характеристикой для анализа данных микроскопии времени жизни флуоресценции. Предполагается, что увеличение среднего времени жизни флуоресценции при патологии возрастной макулярной дегенерации обусловлено увеличением относительного содержания окисленных бисретиноидов по сравнению с не окисленными. Принимая во внимание тот факт, что повышенный уровень окисленных бисретиноидов является индикатором патологических процессов в ретиальном пигментном эпителии, представленные данные служат ценным материалом для усовершенствования метода аутофлуоресцентной диагностики при детектировании времен жизни флуоресценции флуорофоров ЛГ.

Работа выполнена при поддержке Программы фундаментальных исследований президиума РАН № 18 «Биомедицинские технологии: инновационные разработки».

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ОММОХРОМОВ ГЛАЗА МУХИ ЧЕРНАЯ ЛЬВИНКА HERMETIA ILLUCENS

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE EYE OMMOCHROMES OF THE FLY BLACK SOLDIER HERMETIA ILLUCENS

Донцов А.Е.¹, Садыкова В.С.², Ушакова Н.А.³

¹ – ФГБУН Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва, 119334, e-mail: adontsovnick@yahoo.com

² – ФГБНУ Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе РАН, г. Москва, Большая Пироговская ул., д. 11, стр. 1, e-mail: sadykova_09@mail.ru

³ – ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции имени А.Н. Северцова РАН, г. Москва, 119071, e-mail: naushakova@gmail.com

Оммохромы широко распространены среди беспозвоночных животных, в том числе у насекомых. Оммохромы необходимы для экранирования света, они регулируют спектральную чувствительность сложного глаза, обеспечивают антиоксидантную защиту ретикулярных и пигментных клеток, а также необходимы в процессе детоксикации излишков триптофана [1]. В настоящей работе впервые показано, что оммохромы проявляют антибактериальную активность.

Оммохромы были изолированы из глаз мухи «черная львинка» (“black soldier fly” BSF) *H. illucens*. Методом тушения хемилюминесценции люминола показано, что оммохромы BSF проявляют высокую антирадикальную активность, а также имеют стабильный сигнал ЭПР с высокой концентрацией парамагнитных центров. Обнаружено, что оммохромы способны оказывать антимикробную активность. Спектр антибактериального действия оммохромов определяли с использованием тест-культур штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий диско-диффузионным способом. Спектр антимикотической активности оммохромов определяли на тест-культурах условно патогенных грибов и бактерий из коллекции культур ФГБНУ «НИИНА». Показано, что оммохромы BSF проявляют антимикробную активность в отношении *Bacillus subtilis* ATCC 6633 в концентрации 1 мкг/диск и антифунгальное действие в отношении *Candida albicans* ATCC 2091 и *Aspergillus niger* INA 00760 в концентрации 1 мг/диск. Предполагается, что антибактериальная активность оммохромов BSF может быть обусловлена наличием в их структуре феноксазинового кольца, которое также присутствует у антибиотиков актиномицинов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 19-04-00411/19) и Минобрнауки России (ГЗ тема АААА-А18-118042490053-3).

[1]. Островский М.А., Зак П.П., Донцов А.Е. Меланосомы глаза позвоночных и оммохромы глаза беспозвоночных как экранирующие клеточные органеллы // Известия РАН. Серия биологическая. 2018. № 6. С. 658–668.

ГИДРОГЕЛИ НА ОСНОВЕ ФИБРОИНА ШЕЛКА RAILEY СПОСОБСТВУЮТ РЕГЕНЕРАЦИИ ПОЛНОСЛОЙНЫХ КОЖНЫХ РАН

RAILEY SILK FIBROIN HYDROGELS PROMOTE REGENERATION OF FULL-LAYERED SKIN WOUNDS

Bit A., Gupta S., Siromyatnikova V.Y³, Masgutova G.A., Zakirova E.Y., Zhuravleva M.N., Gatina Z.B., Salafutdinov I.I.¹

National Institute of Technology, Raipur, arinbit.bme@nitrr.ac.in
Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, ¹sal.ilnur@gmail.com

Коконсы тутового шелкопряда экорасы Railey (Chhattisgarh Khadi Gram Udyog, Chhattisgarh, India) измельчали и инкубировали в водном растворе 0,2 М NaHCO₃ при 90 °С в течение 1 часа и трижды промывали ультрачистой водой для клееподобного белка серицина. Затем волокна растворяли в растворе Аджисавы (CaCl₂: C₂H₅OH: H₂O = 1: 2: 8) при 100 °С. Полученный раствор диализовали против ультрачистой воды с использованием диализной мембраны (LA393, MWCO 12-14 кДа, Himedia) в течение 72 часов. После диализа получаемый нестабильный раствор фиброина центрифугировали, супернатант замораживали и лиофилизировали при -80 °С в течение 2 дней, чтобы получить лиофилизированный порошок фиброина шелка, который может длительно храниться при комнатной температуре.

На основе полученного порошка фиброина шелка Railey (RSF) и хитозана (Cs), используемого в качестве желирующего агента, получали гидрогели, в том числе с добавлением оксида графена (GO):
1) RSF/Cs (0,06 г RSF+1000 MilliQ) + (0,02г Cs + 1000 мкл 1% уксусной кислоты)

2) RSF/Cs/GO (0,06г RSF+1000 мкл MilliQ) + (0.02г Cs + 1000 мкл 1% уксусной кислоты) + (0,0001 г GO + 10 мкл MilliQ)

3) Cs (0.02г Cs + 1000 мкл 1% уксусной кислоты + 1000 мкл MilliQ) – контроль

Анализировали влияние гидрогелей на культуры клеток фибробластов кожи человека. Покрывали гидрогелями монослойные культуры фибробластов. Через 1 час после добавления гелей в группе RSF/Cs клетки сохраняли нормальную фибробластоподобную морфологию; в группе геля RSF/Cs/GO клетки слегка округлялись; в группе Cs клетки округлые, частично отделялись от пластика. После 24 часов культивирования под гелями в группах RSF/Cs, RSF/Cs/GO клетки имели нормальную фибробластоподобную морфологию, в группе Cs значительная часть клеток отделилась от пластика, сохранились лишь по периферии лунки. Для анализа цитотоксичности фибробласты высевали на планшет, предварительно покрытый гидрогелями, культивировали 96 часов, после чего проводили MTS тест. Все варианты гидрогелей поддерживали пролиферацию фибробластов, которая была выше при использовании геля RSF/Cs. Низкая пролиферация клеток на геле Cs связана с подкислением им среды.

У крыс на спине формировали полнослойный дефект кожи диаметром 1 см, который покрывали 300 мкл гидрогеля и тканевым пластырем. На 7 и 14 сутки ткани забирали для гистологического исследования. Через 7 дней после образования раны и нанесения геля RSF/Cs раневой дефект влажный, представлен хорошо васкуляризированной грануляционной тканью, нижележащий слой содержит неупорядоченные пучки коллагеновых волокон, окрашенных в светло-голубой цвет. Наблюдается краевая эпителизация. Размер неэпителизованного дефекта до 2547 мкм в диаметре. Через 14 дней рана становится сухой, остаточное заживление происходит под струпом. Дно раны полностью эпителизовано во всех случаях, толщина эпидермиса в центральной части меньше, чем в окружающей ткани. Подстилающая соединительная ткань дермы содержит кровеносные сосуды, железы и волосные фолликулы, толстые пучки коллагеновых волокон приобрели ретикулярную ориентацию, окрашены в интенсивный синий цвет. Окрашивание панцитокератином (AE1 / AE3) не показало существенных различий в экспрессии этого маркера во вновь образованном эпителии и в неповрежденной коже.

Выводы. Гидрогели RSF/Cs, RSF/Cs/GO, Cs биосовместимы с фибробластами кожи человека и поддерживают их пролиферацию. Разработанные гидрогели эффективны в регенерации полнослойных кожных ран.

THEORETICAL STUDY FOR TRAPPING OF MAGNETIC MICROCAPSULES IN THE BLOOD STREAM UNDER MAGNETIC FIELD EFFECT

S.F.Salem¹, V.V. Tuchin^{1,2,3,4}

¹Department of Optics and Biophotonics, Saratov State University, Saratov 410012, Russia

²Interdisciplinary Laboratory of Biophotonics, Tomsk State University, Tomsk 634050, Russia

³Laboratory of Molecular Imaging, Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow 119071, Russia

⁴Institute of Precision Mechanics and Control of the Russian Academy of Sciences, Saratov 410028, Russia

The paper presents theoretical in vitro study for predicated trapping for capsules through environment Newtonian and viscous fluid (blood) under static magnetic field this field is strong and come from permanent magnet outside tube. The capsules produced by polymeric multilayer microcapsules (layer by layer technique). The capsule size in the micrometer range allows for capsule used in many applications such as drug delivery system for drug targeting. In our work the trapping of capsules performed by pumping of the mixture of microcapsule suspension and rate blood through a glass tube .The tube has a rectangular cross section with length l and width w and when the tube was completely filled by the mixture a permanent magnet localized outside the tube and perpendicular for the flow direction, this magnet helps the capsules directed to the wall of tube and a trapping because the strength of magnet is high in this region. Mechanism for trapping occurs by adding a layer from magnetic nano particles (Fe_3O_4) to the shell of microcapsules in order to help capsules responding to the magnetic field. The behavior of magnetic microcapsules in permanent magnetic connected by magnetic nanoparticles behavior under the field and the magnetic properties of these particles. So, under uniform magnetic field the capsules aligned with the lines of magnetic field strength under non uniform magnetic field the capsules move towards the area which the magnetic field strength is high and the concentration of capsules in this region is large and this help for trapping capsules in this area because the concentration of capsule in this area is high. This trapping depend on many parameters such as magnetic field strength and this field static and strong which sufficient for trapping the capsules. The other parameters include the distance of magnet from the tube and the inlet velocity of fluid .By increasing the distance of magnet from tube, the trapping for capsules decrease. Also trapping decreases by increasing the inlet velocity of fluid, the dominant drag force and decreasing the magnetic force which responsible for trapping. The equations of motions governed by the combination between Maxwell equations for magnetism, Navier stokes equation for fluid which considered fluid (blood) Newtonian fluid. The equations of motions and magnetic field equations solved by Ansys software This work is very important for many

biomedical applications and bioengineering such as magnetic resonance imaging (MRI), magnetic drug delivery and targeting, magnetic separation and transport and carrying the drug for the treatment of cancer hyperthermia.

Keywords: Magnetic drug targeting(MDT), magnetic nanoparticles(MNPs Fe₃O₄), blood flow, magnetic microcapsules, Newtonian fluid, permanent magnet, magnetic drug delivery(MD).

[1] Voronin, D., Sindeeva, O., Kurochkin, M., Mayorova, O., Fedosov, I., Semyachkina-Glushkovskaya, O., Gorin, D., Tuchin, V., Sukhorukov, G. In vitro and in vivo visualization and trapping of fluorescent magnetic microcapsules in a blood stream. ACS Applied Materials & Interfaces , 2017, 9 (8), 6885–6893.

[2] Sadighian, S., et al., Doxorubicin-conjugated core-shell magnetite nanoparticles as dual-targeting carriers for anticancer drug delivery. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2014. 117: p. 406-413.

[3] Thiesen Band Jordan A Clinical applications of magnetic nanoparticles for hyperthermia Int. J.Hyperthermia , 2008,24 467–74.

[4] Frey, N.A., et al., Magnetic nanoparticles: synthesis, functionalization, and applications in bioimaging and magnetic energy storage. Chemical Society Reviews, 2009, 38(9): 2532-2542.

[5] Li X L, Yao K L and Liu Z L CFD study on the magnetic fluid delivering in the vessel in high-gradient magnetic field J. Magn. Magn. Mater. 2008, 320 1753–58.



ВЛИЯНИЕ ВАКУУМНОГО УСТРОЙСТВА НА НОВОРОЖДЕННЫХ ПРИ РОДОВСПОМОЖЕНИИ EFFECT OF VACUUM DEVICE ON THE NEONATES IN VACUUM ASSISTED DELIVERIES

Sardagi V.R., Sardagi M.R.

Medical academy named after Crimean Federal University, Simferopol
sardagivachana@gmail.com, sardagimahaling@gmail.com

Out of the different operative vaginal deliveries, vacuum assisted deliveries(VAD) appears to be more promising. Unlike other types of operative assisted deliveries, VADs are safe for the mother, but they affect the newborn negatively. According to the criteria for its usage established by the American College of Obstetricians and Gynaecologists, 2000, VADs can be used only when there is prolongation of the 2nd stage of labour, non reassuring foetal status, maternal exhaustion or elective usage by patient.

The flexing median application is the right position to apply to the neonatal head that will avoid any neck injuries during labor. And also, it helps in maintaining flexed position for head delivery. When the vacuum is applied to the head, traction force is applied only when the mother's uterus contracts. And in between the contractions, the traction force is either reduced or maintained. During pulling, the rim of the vacuum applied on the foetus, compresses the scalp tissues under it. And in between the pulling, the blood and fluid is pulled into circular tissue bed under the cup. This causes chignon formation, which prevents sliding and forms a wedge. It should disappear in a time period of 1 to 2 days after the delivery. But if it exists any longer, it indicates an abnormality.

Vacuum assisted delivery can cause superficial scalp wounds like cuts. When the vacuum pressure is applied, it first pulls the scalp and the underlying tissues into it. Meanwhile, if a vein or an artery of the head of the foetus is injured, there is hematoma formation which can be of two types; cephalohematoma (blood in the subperiosteal space) or subgaleal hematoma. This abnormal pressure can also lead to Caput succedaneum (skull oedema), intracranial haemorrhage or even retinal haemorrhage. Skull fractures are also seen. Linear skull fractures, depressed skull fractures and occipital osteodiastasis are the three types of skull fractures due to VADs. Also, after the formation of bruise or intracranial haemorrhage, since the liver of the neonate is not fully developed (according to the fourth trimester theory), there is an increased RBC breakdown and bilirubin formation without proper excretion. This leads to neonatal jaundice; yellow discoloration of the skin and mucosa due to bilirubin deposition.

More severe effects will be observed in a mechanically caused injury during VAD. The stretching of the neck can injure the nerves leading to Erb's palsy or a brachial plexus injury. Brain damage during the process can lead to permanent disability.

Секция 14. Биофизика сложных систем.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ КАЛЬЦИЕВОГО ОТВЕТА НА АКТИВАЦИЮ В ТРОМБОЦИТАХ**MOLECULAR MECHANISMS OF PLATELETS CALCIUM ACTIVATION RESPONSE*****Балабин Ф.А., Жижайкина И.Е.¹, Пащенко И.А.², Пантелеев М.А.² Свейшникова А.Н.^{1,2}***

Центр Теоретических Проблем Физико-химической Фармакологии РАН, 119991, Москва, ул. Косыгина, д. 4

¹Первый МГМУ им. Сеченова, Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2²Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Физический факультет, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, строение 2

Тромбоциты – циркулирующие в крови безядерные клеточные фрагменты, которые выполняют важнейшую функцию предотвращения кровотечений при повреждении сосуда. Для этого тромбоциты способны к активации – комплексу процессов, включающих приобретение способности к агрегации, адгезии, изменению формы, выбросу гранул с активаторами и переходу в прокоагулянтное состояние. Управляющим внутриклеточным сигналом активации тромбоцита является изменение концентрации ионов кальция в цитозоле [1]. Известно, что в клетках пациентов с мутациями, приводящими к аномальным размерам тромбоцитов и концентрациям АТФ, наблюдаются отклонения в динамике концентрации внутриклеточного кальция, поэтому механизм, который мог бы описывать такие отклонения, также вызывает большой интерес.

Цель данной работы – определение молекулярных механизмов формирования кальциевого ответа в тромбоцитах человека. Для решения были поставлены следующие задачи: во-первых, на основании экспериментальных данных количественно и качественно описать форму кальциевых пиков для здоровых доноров; во-вторых, построить математическую модель динамики концентрации кальция в тромбоците, которая бы описывала форму кальциевых пиков, наблюдаемую в эксперименте; в-третьих, сделать предсказания о том, как изменится поведение модели при изменении объема клетки и концентрации АДФ.

Для получения данных о динамике концентрации кальция в одиночных тромбоцитах здоровых доноров, нагруженных флуоресцентными зондами на ионы кальция, использовалась скоростная киносъемка, примененная к микроскопии полного внутреннего отражения. Применялись проточные камеры с конструкцией, обеспечивающей специфическую адгезию тромбоцитов к подложке и динамическую смену растворов. Для интегрирования и анализа модели использовались пакеты Python 3.6 PyDSTool, NumPy и SciPy.

Для здоровых доноров были поставлены серии экспериментов по определению кинетики кальциевого ответа одиночных тромбоцитов, иммобилизованных на нейтральной или активирующей подложке. По ответу одиночные тромбоциты могут быть разделены на три качественно различных категории: постоянная низкая концентрация кальция, осцилляции концентрации кальция и постоянно высокая концентрация кальция в цитозоле. Более половины тромбоцитов во всех случаях демонстрировали осцилляции. Несимметричная форма спайка концентрации кальция в этих осцилляциях является наиболее характерной с коротким временем возрастания и длительным временем убывания. При этом было показано, что среди всех параметров спайка, наименее меняющимися от донора к донору оказались ширина спайка и времена роста и спада, которые составили 1.5 ± 0.5 , 0.5 ± 0.25 и 1.2 ± 0.4 с, соответственно. В всех случаях скорость спада кальциевого пика превышала скорость роста, то позволило подтвердить первоначальное наблюдение о том, что форма кальциевого спайка асимметрична.

Для описания полученных экспериментальных данных была модифицирована модель Кайзера – де Янга [2]. Для описания формы кальциевого спайка был произведен учет кооперативности работы рецепторов к инозитолтрифосфату вкупе с включением в модель буферизации ионов кальция в цитозоле и эндоплазматическом ретикулуме. В результате интегрирования модели было показано, что уменьшение объема клетки и значения параметра, связанного с внутриклеточной концентрацией АТФ, приводит к росту частоты осцилляций и среднего уровня концентрации кальция в тромбоците.

В результате работы можно сделать вывод, что частота осцилляций концентрации кальция и форма одиночных спайков определяются буферизацией ионов кальция в цитозоле клетки и, возможно, кооперативной работой рецепторов к инозитолтрифосфату.

Работа поддержана грантом РФФ №17-74-20045

[1] С. С. Шахиджанов и соавт. // УФН. — 2019. DOI: 10.3367/UFNe.2018.05.038335

[2] Кластеризация рецепторов к инозитолтрифосфату определяет форму пика осцилляций кальция в цитозоле тромбоцита / Ф. А. Балабин, Д. С. Морозова, А. С. Майоров и др. // Вестник Московского университета. Серия

[3] Физика, астрономия. — 2018. — Т. 2018, № 5. — С. 63–70.

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА КАЛЬЦИЕВОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ ПРИ АКТИВАЦИИ ПУРИНЕРГИЧЕСКИХ РЕЦЕПТОРОВ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

THEORETICAL STUDY OF CALCIUM SIGNALIZATION DURING THE ACTIVATION OF PURINERGIC RECEPTORS IN MESENCHYMAL STROMAL CELLS

Болдова А.Е., Свешникова А.Н.

Мезенхимальные стромальные клетки (МСК) – мультипотентные стволовые клетки, обладающие способностью к пролиферации и самовосстановлению. Клетки данного вида способны дифференцироваться в ткани различных типов, например, костную, адипоцитарную, хрящевую, а также нервную и мышечную. Потенциал их использования в регенеративной медицине довольно значительный. Соответственно, данный тип клеток является объектом пристальных исследований. На сегодняшний день активно изучаются такие процессы как дифференцировка и пролиферация. Однако все они являются долговременными. В то же время не так много внимания уделяется непродолжительным процессам, например, передаче сигналов посредством диффузии ионов кальция в клетке. А, ведь, именно этот механизм может существенно повлиять на дальнейшую судьбу МСК. Один из способов подобного воздействия - активация внутриклеточных гранул, которые могут содержать разнообразные факторы роста и другие активные соединения. Секреция гранул способна значительно изменить клеточное микроокружение, что может кардинальным образом отразиться на пролиферации, дифференцировке и миграции клеток в организме.

Целью данной работы является построение достоверной модели кальциевой сигнализации в мезенхимальных стромальных клетках при активации рецептора, сопряженного с G-белком, вследствие которой происходит секреция внутриклеточных везикул.

В качестве метода исследования была построена компьютерная модель гомогенной системы, описывающая изменение концентрации ионов свободного кальция в цитозоле. Данная система включает несколько ключевых блоков: активация рецептора при связывании с лигандом; генерация «кальциевого импульса»; передача вторичного посредника – инозитол трифосфата (IP_3), а также поведение соответствующего рецептора; и, наконец, секреция гранул, опосредованная изменением концентрации кальция во внутриклеточном пространстве. В качестве основы для построения каждой части были использованы и модифицированы следующие модели: схема Линдермана [1] (рецептор, сопряженный с G-белком), модель Снейда [2] (работа IP_3 -рецептора 2 типа), а также модель Полити [3] (динамика кальция в цитозоле и ЭПР).

Построенная модель согласуется с известными экспериментальными данными, описывающими кальциевый ответ мезенхимальных стромальных клеток при активации АДФ. При рассмотрении выхода кальция из внутренних депо под действием IP_3 наблюдается переход к новому состоянию с постоянным значением концентрации Ca^{2+} в цитозоле. Подобный результат ожидаем, поскольку в данной редуцированной модели отсутствуют механизмы кальций-зависимой активации и инактивации рецепторов. Путем добавления положительной (зависимость активности фосфолипазы C от уровня внутриклеточного Ca^{2+}) и отрицательной (уменьшение пропускающей способности IP_3 -рецептора при большом уровне Ca^{2+}) обратных связей можно получить как режимы устойчивых или быстро затухающих осцилляций, так и состояния, качественно мало отличающиеся от вычисленных ранее (переход к новому устойчивому состоянию с постоянным значением). Однако многообразие различных вариантов поведения для реальных МСК на этом не исчерпывается. Например, в работе [4] уровень внутриклеточного кальция изменялся по принципу «Все-или-Ничего»: в ответ на добавление АДФ только определенной концентрации наблюдается одиночный кальциевый пик, в то время как при более низких дозах активатора система не покидает состояния равновесия. Тем не менее, воспроизвести подобный ответ в модели невозможно в случае, если система замкнута (отсутствует передача кальция между внутренним и внешним пространством). Путем добавления Ca-АТФазы мембраны можно реализовать отток ионов из цитозоля и тем самым организовать внутриклеточный кальциевый ответ должным образом. Существенной особенностью данной системы является наличие рецептора, сопряженного с G-белком, благодаря которому возможно провести определенную зависимость между концентрацией активатора и типом кальциевого ответа. Сложный характер поведения концентрации Ca^{2+} позволяет предсказать поведения выхода гранул из цитозоля. Модель дает возможность описать секрецию гранул в ответ на активацию не только МСК, но и других типов клеток, например, тромбоцитов при развитии осцилляторного кальциевого ответа или сигнала по механизму все-или-ничего.

Таким образом, в результате работы была построена модель кальциевой сигнализации мезенхимальных стромальных клеток, отражающая выход гранул при воздействии АДФ посредством передачи кальция. Работа поддержана грантом РФФИ 17-74-20045.

1. Kinzer-Ursem T. L., Linderman J. J. // Both Ligand-and Cell-Specific Parameters Control Ligand Agonism in a Kinetic Model of G Protein–Coupled Receptor Signaling// PLoS Computational Biology, 2007, Vol. 3, pp. 84-94;
2. Sneyd J., Dufour J.-F. //A dynamic model of the type-2 inositol trisphosphate receptor//PNAS, 2001, V.99, pp. 2398;
3. Politi A., Gaspers L. D.//Models of IP_3 and Ca^{2+} Oscillations: Frequency Encoding and Identification of Underlying Feedbacks// Biophysical Journal, 2006, Vol. 90, pp. 3120–3133;
4. Kotova P. D., Bystrova M. F. //Coupling of P2Y receptors to Ca^{2+} mobilization in mesenchymal stromal cells from the human adipose tissue// Cell Calcium, 2018, Vol.71, pp. 1-14.

ДИНАМИЧЕСКИЕ УЛЬТРАДИСПЕРСНЫЕ СТРУКТУРЫ В ДВУМЕРНОЙ ОТКРЫТОЙ СИСТЕМЕ С ФАЗОВЫМ ПЕРЕХОДОМ ПЕРВОГО РОДА

DYNAMIC ULTRADISPERSE STRUCTURES IN TWO-DIMENTIONAL OPEN SYSTEM WITH FIRST-ORDER PHASE TRANSITION

Ботин А.С.^{1,2,3}, Буравцев В.Н.², Попов М.С.²

¹НИИ Скорой помощи им. Н.В.Склифосовского, Москва, E-mail: alexbotin@yandex.ru

²Институт химической физики РАН, Москва, E-mail: biogr@bk.ru

³Институт биохимической технологии и нанотехнологии Российского университета дружбы народов, Москва

В настоящее время известны многочисленные физические и химические системы, находящиеся далеко от равновесия, в которых происходит образование пространственно-временных структур. Они включают в себя, в частности, образование структур гидродинамической и конвективной природы в жидкостях и жидких кристаллах, макроскопические структуры в химических реакциях (распределенная среда с периодической химической реакцией Белоусова-Жаботинского) и т.д..

Однако до сих пор в синергетике довольно слабо представлены объекты и явления «неравновесной кристаллографии». Типичными примерами таких процессов являются: распространение волны фазового перехода первого рода, превращение гомогенной фазы в гетерогенную с образованием ячеистых структур, расслоение фаз в сверхкритических условиях и т.д.. Особый интерес представляют исследования явлений такого класса в открытых системах, аналогичных возбудимым средам с восстановлением, их пространственной и временной организации.

Исследовано явление периодической кристаллизации и плавления поверхностного слоя системы, находящейся в изотермических условиях при температуре, близкой к температуре фазового перехода. Система представляет собой разбавленный раствор летучей примеси (NH₃ или C₂H₅OH) в воде и состоит из микрочастиц твердой фазы растворителя (H₂O), распределенных в поверхностном слое раствора; они агрегируют между собой и образуют двумерную дисперсную систему. Размеры частиц твердой фазы в процессе их эволюции варьируют от 0.1 до 10 микрон. Система открыта: примесь диффундирует в систему из резервуара и испаряется с поверхности. В известной области параметров и граничных условий в системе возникают диссипативные структуры, а также автоволны структурной перестройки. Установлено, что фронт волны затвердевания представляет собой бегущий фрактальный кластер, волна плавления также масштабно-инвариантна. Многообразие динамических режимов системы вызвано наличием метастабильных состояний при кооперативном взаимодействии ее элементов и влиянием поверхностных эффектов. Предложены, исследованы и обсуждаются математические модели явления.

Изучение кинетических закономерностей неравновесных фазовых переходов и процессов самоорганизации с их участием в различных физических, химических и биологических системах представляется в настоящее время чрезвычайно актуальным для понимания многих явлений, как в химической физике, так и в физической химии, а также в биологии.

СТАТИСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МЕХАНИЧЕСКОЙ ДЕФОРМАЦИИ НА КЛЕТОЧНЫЕ ДВИЖЕНИЯ В РАННЕМ РАЗВИТИИ XENOPUS LAEVIS

STATISTICAL DETERMINATION OF IMPACT OF MECHANICAL DEFORMATION ON CELL MOVEMENTS DURING EARLY DEVELOPMENT OF XENOPUS LAEVIS

Бредов Д.В., Володяев И.В.

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра эмбриологии, лаборатория биофизики развития, 119991, Москва, Россия, d2707bredov@yandex.ru

В основе пространственной реорганизации зародышевых листков, их подразделения на различные эмбриональные структуры и последующего органогенеза при индивидуальном развитии организмов лежат скоординированные в пространстве и времени коллективные клеточные движения. На сегодняшний момент накоплено множество данных о сигнальных механизмах, регулирующих согласованность коллективных клеточных движений, однако они до сих пор остаются объектом всестороннего изучения. Это связано, в том числе, с мультидисциплинарностью биологии развития, и потому – возможностью применения различных по своей природе исследовательских подходов.

Как определить «коллективность» клеточной миграции? Одним из ключевых критериев коллективности является наличие у клеток внутри ансамбля устойчивого преимущественного направления движения (англ. «directional persistence»), рассчитываемого как отношение перемещения к длине траектории. Механизмы, лежащие в основе этого, хорошо изучены молекулярно-биологическими методами. Отдельного внимания заслуживают исследования, продемонстрировавшие, что хотя отдельные клетки (и даже небольшие клеточные группы) сохраняют клеточную поляриность и способность к локомоции, они оказываются неспособны

поддерживать преимущественное направление в отсутствие механического взаимодействия клеток внутри пласта через клеточные контакты [1,2]. Более детальные эксперименты позволяют предположить, что в основе таких коллективных явлений лежит механозависимая реорганизация цитоскелета [3]. Причём, механические стимулы способны не только поддерживать клеточные движения в тех тканях, где они происходят в нормальном развитии, но и индуцировать их в эктопических участках [4]. В свою очередь, клеточные движения сами являются источником микродеформаций, которые также могут выступать в качестве механических стимулов, регулирующих различные клеточные функции [5,6].

Другим, реже используемым критерием коллективности клеточных движений, является параметр порядка. Эта величина более активно используется в идейно смежном с исследованием коллективных клеточных движений разделе физико-математических наук, изучающих поведение систем дискретных элементов, способных осуществлять направленное движение, т.н. «self-propelled particles», или SPP [7,8]. Известно, что в системах SPP при пороговых концентрациях элементов возникают различные типы масштабных изменений состояния элементов, которые можно интерпретировать, как аналог фазовых переходов, где в роли критического параметра выступают величины случайных движений элементов – шумы [7]. Интересно, что пороговые явления наблюдаются и в клеточных системах [9], а в качестве шумов в них могут выступать флуктуации в клеточных движениях: мигрирующая клетка (в т.ч. в составе ансамбля) не движется строго прямолинейно, траектории движения отдельных клеток складываются из малоамплитудных смещений, постоянно отклоняющихся от результирующего перемещения. При нарушениях коллективной миграции эти малоамплитудные смещения усиливаются и начинают доминировать над направленным движением [1,10].

В рамках этого подхода, помимо использования параметра порядка, инструментом исследования коллективных клеточных движений становится анализ распределения скоростей клеток [11]. В нашей лаборатории этот метод применялся ранее [12] при изучении механозависимых клеточных движений в ходе гаструляции *Xenopus laevis*. Однако использованный в этих исследованиях метод изменения механического статуса внутри клеточного пласта утратил актуальность и требует модификации. Кроме того, представляет интерес сравнение наблюдаемых явлений с аналогичными процессами в нормальном развитии. Наши эксперименты продолжают эти исследования и предлагают более детальный и воспроизводимый подход к изучению механозависимых клеточных движений: автоматизированную регистрацию с последующим статистическим анализом клеточных движений на основании полуавтоматизированной обработки серий цифровых микрофотографий флуоресцентно окрашенных тканей.

В данной работе изучали влияние механической деформации на коллективные клеточные движения в эпизкотодерме *X. laevis* (Daudin). Зародыши, инъецированные на стадии 2-х бластомеров РНК флуоресцентных специфических маркеров – мембранного GAP43-GFP и ядерного H2B-mCherry – подвергали центрифужной микрофото съемке на лазерном сканирующем конфокальном микроскопе в период гаструляции (стадии 10,5—11 согласно [13]). Затем осуществляли регистрацию клеточных границ (а на их основании – выбранных характеристик клеточных движений) на последовательных кадрах съёмки с помощью специального свободно распространяемого программного обеспечения [14].

1. Dumortier J.G. et al. Collective mesendoderm migration relies on an intrinsic directionality signal transmitted through cell contacts // Proc. Natl. Acad. Sci. 2012. Vol. 109, № 42. P. 16945–16950.
2. Sonavane P.R. et al. Mechanical and signaling roles for keratin intermediate filaments in the assembly and morphogenesis of *Xenopus* mesendoderm tissue at gastrulation // Development. 2017. Vol. 144, № 23. P. 4363–4376.
3. Weber G.F., Bjerke M.A., DeSimone D.W. A Mechanoresponsive Cadherin-Keratin Complex Directs Polarized Protrusive Behavior and Collective Cell Migration // Dev. Cell. Elsevier Inc., 2012. Vol. 22, № 1. P. 104–115.
4. Belousov L. V., Louchinskaia N.N., Stein A.A. Tension-dependent collective cell movements in the early gastrula ectoderm of *Xenopus laevis* embryos // Dev. Genes Evol. 2000. Vol. 210, № 2. P. 92–104.
5. Vasilyev A. et al. Mechanical stretch and PI3K signaling link cell migration and proliferation to coordinate epithelial tubule morphogenesis in the zebrafish pronephros // PLoS One. 2012. Vol. 7, № 7.
6. Evstifeeva A.Y., Luchinskaia N.N., Belousov L. V. Stress-generating tissue deformations in *Xenopus* embryos: Long-range gradients and local cell displacements // BioSystems. Elsevier, 2018. Vol. 173, № September. P. 52–64.
7. Vicsek T., Zafeiris A. Collective motion // Physics Reports. 2012. Vol. 517, № 3–4. P. 71–140.
8. Marchetti M.C. et al. Hydrodynamics of soft active matter // Rev. Mod. Phys. 2013. Vol. 85, № 3. P. 1143–1189.
9. Doxzen K. et al. Guidance of collective cell migration by substrate geometry // Integr. Biol. (United Kingdom). 2013. Vol. 5, № 8. P. 1026–1035.
10. Bjerke M.A. et al. FAK is required for tension-dependent organization of collective cell movements in *Xenopus* mesendoderm // Dev. Biol. Elsevier, 2014. Vol. 394, № 2. P. 340–356.
11. Trepap X., Fredberg J.J. Plithotaxis and emergent dynamics in collective cellular migration // Trends in Cell Biology. Elsevier Ltd, 2011. Vol. 21, № 11. P. 638–646.
12. Troshina T.G., Glagoleva N.S., Belousov L. V. // Russ. J. Dev. Biol. Springer, 2011. Vol. 42, № 5. P. 301.
13. Faber J., Nieuwkoop P.D. Normal table of *Xenopus laevis* (Daudin) // A Syst. Chronol. Surv. Dev. from Fertil. Egg till End Metamorph. Garl. Sci. 1994.
14. Heller D. et al. EpiTools: An Open-Source Image Analysis Toolkit for Quantifying Epithelial Growth Dynamics // Dev. Cell. Elsevier Ltd, 2016. Vol. 36, № 1. P. 103–116.

БИОФИЗИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ РАЗВИТИЯ НАДОРГАНИЗМЕННЫХ СИСТЕМ
BIOPHYSICAL CRITERIA OF OVERORGANISMIC SYSTEMS DEVELOPMENT

Брильков А. В., Брилькова Е. В.¹, Жабрун И. В., Логинов Ю. Ю.²

Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, E-mail: abrilkov@sfu-kras.ru; ijabrun@sfu-kras.ru

¹Институт биофизики ФИЦ СО РАН, г. Красноярск, E-mail: evmorbril@mail.ru

²Сибирский государственный университет науки и технологий им. акад. М. Ф. Решетнева, г. Красноярск,
E-mail: loginov@sibsau.ru

Известно, что критерием микроэволюции для обоих типов открытых систем (и для хемостата, и для турбидостата) при лимитировании роста популяций недостатком субстрата является возрастание потока субстрата, использованного популяцией, победившей в конкуренции [1]. Однако в случае ограничения роста популяций микроорганизмов избытком субстрата, которое тоже достаточно распространено в мире микроорганизмов (субстратное ингибирование), это не так. Так, в наших экспериментах при субстратном ингибировании роста дрожжей и бактерий фенолом, которые использовали его в качестве единственного источника углерода и энергии, закономерностью микроэволюции в турбидостате, наоборот, является снижение потока токсичного субстрата, использованного популяцией. Можно заметить, что и в тех, и других примерах микроэволюции популяций происходит снижение зависимости популяции от контролирующего рост фактора [1].

Интродукция экзогенных микроорганизмов (в том числе и ГМО) широко предлагается в последнее время как один из перспективных подходов для биоаугментации, т. е. очищения и улучшения почвенных и водных экосистем. Считается, что микроорганизмы, обладающие высокой катаболической активностью (у которых выше отношение μ_{\max}/k_s для данного субстрата) наиболее приемлемы для интродукции. Однако, в отношении высокотоксичных соединений, таких как, например, фенол и его производные, это может быть неверно. Штаммы бактерий и их сообщества, обладающие высокой фенол-деградирующей способностью, часто оказывались менее конкурентоспособными по сравнению с низкоактивными штаммами после их интродукции в загрязненные почвы. Важную роль в ускорении биodeградации токсичных соединений в почвенных экосистемах, и в целом, в успехе интродукции новых видов играет состав и структура сообщества микроорганизмов [2].

Оценка возможности выживания микробных популяций после интродукции в лабораторные и природных экосистемы остается до сих пор предметом острых дискуссий, в особенности, когда речь заходит о выживаемости ГМО. В наших экспериментах по интродукции трансгенных бактерий *E.coli*, содержащих клонированные гены биolumинесценции фотобактерий в плазидах, в лабораторные водные микроэкосистемы показано, что популяция трансгенных бактерий вполне конкурентоспособна с гетеротрофными микроорганизмами в водных лабораторных микрокосмах, что приводит к ее успешному включению в цепи питания микроэкосистем, как гетеротрофного звена. При различных уровнях абиотических факторов, например, при интенсивном цветении микроводорослей или его отсутствии, клетки трансгенных бактерий (ГМО), устойчиво сохраняются в составе микрофлоры микрокосмов.

Таким образом, несмотря на определенное знание конкретных закономерностей функционирования природных сообществ и их звеньев, механизмы влияния факторов среды и закономерности развития надорганизменных систем при антропогенном воздействии во многих случаях до сих пор остаются невыясненными. Их установление, определение границ устойчивости биосистем является важной задачей для теоретической биофизики и экологии.

1. Дегерменджи А. Г. Сравнительный анализ эволюции гиперциклов Эйгена и микробных популяций в открытых системах. / Печуркин Н. С., Никифорова Н. В., Дегерменджи А. Г. // Биофизика. – 1982. – Т. 27, №2. – С. 297-303.
2. Loreau, M. From Population to Ecosystems: Theoretical Foundations for a New Ecological Synthesis. – Princeton: Princeton University Press. – P. 1-297.

**МЕТОДИКА АВТОСЕЛЕКЦИИ АКТИВНЫХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ,
УТИЛИЗИРУЮЩИХ ТОКСИЧЕСКИЕ ПОЛЛЮТАНТЫ ДЛЯ ОЧИЩЕНИЯ И ВОССТАНОВЛЕНИЯ
ПРИРОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ**

**METHOD OF AUTOSELECTION OF MICROBIAL ACTIVE STRAINS UTILIZED TOXICAL
POLLUTANTS FOR NATURAL ECOSYSTEMS PURIFICATION AND REMEDIATION**

Брилькова Е. В., Брильков А. В., Логинов Ю. Ю.

Институт биофизики ФИЦ СО РАН, г. Красноярск, E-mail: evmorbril@mail.ru

Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, E-mail: abrilkov@sfu-kras.ru

Сибирский государственный университет науки и технологий им. акад. М. Ф. Решетнева, г. Красноярск,
E-mail: loginov@sibsau.ru

Целью работы является усовершенствование методов быстрого выделения (автоселекции) активных штаммов микроорганизмов, утилизирующих токсические соединения (фенольный ряд) для очищения и восстановления природных экосистем на примере почвенных экосистем вблизи крупных лесо- и дерево-обрабатывающих комплексов Красноярского края.

В настоящее время значительное внимание уделяется поиску активных штаммов микроорганизмов, способных утилизировать высокотоксичные субстраты в загрязненных почвах и водоемах [1]. Для получения штаммов микроорганизмов, перспективных для биодegradации высокотоксичных экополлютантов, таких, как фенол и его производные, повышения выживаемости активных штаммов и их конкурентоспособности в процессах биоремедиации предлагается использовать разработанную нами новую технологию. Методика основана на автоселекции высокоактивных форм микроорганизмов-деструкторов и их свойств в условиях длительного непрерывного культивирования в режимах управления с обратной связью именно при высоких ингибирующих концентрациях токсикантов. При этом особое внимание уделяется повышению активности и устойчивости штаммов-биодеструкторов в условиях модельных и природных экосистем вблизи крупных лесо- и дерево-обрабатывающих комплексов Красноярского края, район среднего Енисея и Нижнего Приангарья (г. Лесосибирск), загрязненных древесными отходами. С использованием данной технологии были выделены штаммы дрожжей *Candida tropicalis* и бактерий *Pseudomonas sp.*, *Rhodococcus sp.* и др., обладающие способностью к росту при высокой концентрации фенола в почве. Таким образом, селекция активных штаммов-деструкторов токсичных поллютантов и их ассоциаций проводится с помощью технологии, перспективной для их дальнейшего успешного применения.

Современные технологии биоремедиации природных экосистем, загрязненных отходами различных производств, опираются на активизацию метаболического потенциала растений и, главным образом, микроорганизмов. Целенаправленная интродукция специальных штаммов микроорганизмов (биоаугментация) весьма перспективна в тех случаях, когда интродуцируемые микроорганизмы могут использовать субстраты, недоступные для большинства аборигенных микроорганизмов, что может обеспечить им селективное преимущество и устойчивость в ареалах, содержащих такие поллютанты. Новая технология как раз и предназначена для получения штаммов микроорганизмов с высокими кинетическими характеристиками развития, улучшения их биодegradирующей способности токсичных экополлютантов, таких, как фенол и его производные, повышения выживаемости и конкурентоспособности штаммов и их ассоциаций в процессах биоремедиации. Технология основана на использовании ускоренной автоселекции высокоактивных штаммов микроорганизмов при непрерывном культивировании с обратной связью (турбидостат и рН-стат) в условиях высоких концентраций поллютантов. Эта технология позволяет получить высокоактивные штаммы микроорганизмов-деструкторов токсичных поллютантов и использовать их для интенсификации процессов биоремедиации и реабилитации природных экосистем. Опыт показывает, что классическими микробиологическими методами последовательных пересевов с повышением концентрации токсиканта получить новые штаммы с такой активностью не удастся. Методика разработана для автоселекции как естественных штаммов, так и генноинженерных, содержащих клонированные гены утилизации токсичных соединений, применение таких вариантов считается наиболее перспективным [2]. По нашей технологии активные штаммы отбираются в условиях, максимально приближенных к тем, в которых они будут работать при дальнейшем использовании.

1. Kynadi A.S., Suchithra T.V. Bacterial Degradation of Phenol to Control Environmental Pollution. / In: Patra J., Vishnuprasad C., Das G. (eds). Microbial Biotechnology. – Springer, Nature, Singapore, 2017, – 245-263.

2. Carlos Garbisu, Olatz Garaiurrebaso, Lur Epelde, Elisabeth Grohmann and Itziar Alkorta. Plasmid-Mediated Bioaugmentation for the Bioremediation of Contaminated Soils / In: The Good, The Bad and The Ugly: Multiple Roles of Bacteria in Human Life. / Venkova, T., Yeo, C. C., Espinosa, M., eds. – Lausanne: Frontiers Media, 2018. – P. 175-187.

**ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ СОПРОВОЖДАЮЩИХСЯ ДЛИТЕЛЬНОЙ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЕЙ
ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В АКТИВИРОВАННЫХ ПЕРЕКИСЬЮ
ВОДОРОДА БИКАРБОНАТНЫХ ВОДНЫХ РАСТВОРАХ**

**PECULIARITIES OF THE DEVELOPMENT OF RED/OX PROCESSES ACCOMPANIED WITH
LONG-TERM LUMINESCENCE IN BICARBONATE WATER SOLUTIONS ACTIVATED
WITH HYDROGEN PEROXIDE**

Воейков В.Л., Буравлева Е.В.

МГУ им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, E-mail :v109028v1@yandex.ru

Бикарбонатные водные растворы (БВР) находятся в устойчиво неравновесном (возбужденном) состоянии благодаря постоянному протеканию в них процессов с участием активных форм кислорода (АФК), в ходе которых генерируется энергия электронного возбуждения [1]. Перекись водорода в низких концентрациях активирует эти процессы. Помещенные в герметически закрытые сосуды активированные H_2O_2 БВР в присутствии флуоресцентного зонда люминола становятся практически не затухающими в течение многих месяцев источниками излучения фотонов (ИФ). Такие системы реагируют заметным изменением интенсивности излучения на внешние факторы низкой и сверхнизкой интенсивности, например, на затмения Солнца и Луны, лунные фазы, геомагнитные возмущения.

Характер развития сопровождающихся люминесценцией процессов в активированных H_2O_2 БВР нетривиален. После внесения H_2O_2 в БВР наблюдается вспышка ИФ, которая вскоре угасает, чего и следует ожидать при исчерпании реагентов (перекиси и люминола). Однако через несколько часов ИФ начинает возрастать, многократно превышая исходные значения. Система движется в направлении неравновесного состояния благодаря развитию в активированных БВР разветвленно-цепных реакций с участием АФК (реакции «горения»), в ходе которых генерируется энергия высокой плотности. «Топливо», которое может обеспечить горение, не исчезая – это вода со свойствами восстановителя, входящая в состав «воды зоны исключения» (G.H. Pollack) [2] или «когерентных доменов» (E. del Giudice) [3]. Мы предполагаем, что бикарбонат выступает в роли катализатора окисления воды активным кислородом.

Динамика изменения «разброса результатов» в наборе образцов, полученных из одного раствора, также необычна. Сразу после распределения аликвот исходного БВР по отдельным пробиркам относительное стандартное отклонение от среднего значения интенсивности ИФ составляет 5-10%. Через несколько дней эта величина достигает 50-80%, но затем различия между «параллельными пробами» начинают сглаживаться, и стандартное отклонение снижается до 10-20% от среднего. Максимальная вариабельность интенсивности ИФ из разных пробирок наблюдается на стадии максимальной скорости роста интенсивности ИФ. «Разброс данных» представлен не гладким, а дискретным характером распределения результатов, наличием «разрешенных» и «запрещенных» неравновесных состояний нелинейных процессов, протекающих в БВР.

Экспериментальная система проявляет многие черты «детерминированного хаоса», стремящегося к некоему аттрактору. Значительный «разброс результатов» между параллельными пробами и дискретный характер распределения экспериментальных результатов подобны открытым С.Э. Шнолем «макроскопическим флуктуациям» в разнообразных физических, химических и биохимических системах [4]. Однако в отличие от исследованных С.Э. Шнолем систем, в нашей экспериментальной модели «разброс результатов» является не постоянной, а закономерно меняющейся величиной для каждого набора одинаково приготовленных образцов (сначала – рост, затем снижение «разброса»).

Сравнительный анализ динамики изменения свойств в дискретном наборе индивидуальных образцов показывает, что подобным образом ведут себя многие развивающиеся, т.е. самоорганизующиеся биологические системы. Это явление именуется в биологии эквивиальностью, т.е. «стремлению» сходных биосистем, развивающихся изначально по разным траекториям, постепенно конвергировать, приближаясь к одинаковому состоянию [5]. Выясняется, что это явление характерно и для «простейшей» динамической водной системы – бикарбонатного раствора, который в известном смысле является прототипом живых систем.

1. Воейков В. Л. и др. Устойчиво неравновесное состояние бикарбонатных водных систем // Журнал физической химии, 2012. Т. 86. С. 1518–1527.

2. Pollack G.H. The Fourth Phase of Water. Seattle, WA, Ebner & Sons Publishers, 2013

3. Marchettini N., Del Giudice E., Voeikov V., Tiezzi E. Water: A medium where dissipative structures are produced by a coherent dynamics // J Theor Biol. 2010. V. 265. P. 511-516.

4. Шноль С.Э. Космофизические факторы в случайных процессах. Stockholm. Swedish physics archive, 2009. 388 p.

5. Бэр К. Э. Ф. Избранные работы. Перевод с предисловием и примечаниями Ю. А. Филипченко. Л.: Государственное издательство, 1924. 144 с.

СВЕРХСЛАБОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ ЦЕЛЬНОЙ НЕРАЗВЕДЕННОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ОТРАЖАЕТ УЧАСТИЕ ЭЛЕКТРОННО-ВОЗБУЖДЕННЫХ СОСТОЯНИЙ В ЕЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВАХ

LOW-LEVEL PHOTON EMISSION FROM NON-DILUTED HUMAN BLOOD POINTS TO THE REGULATORY ROLE OF ELECTRONICALLY EXCITED STATES IN ITS FUNCTIONAL PROPERTIES

Воейков В.Л., Новиков К.Н., Буравлева Е.В.

МГУ им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, E-mail: v109028v1@yandex.ru

Согласно общепринятым представлениям, низкоинтенсивная хемилюминесценция (ХЛ) биологического объекта является непосредственным результатом релаксации электронно-возбужденных состояний (ЭВС) продуктов свободно-радикальных окислительных реакций с участием активных форм кислорода (АФК). Значительное число исследований посвящено изучению ХЛ, сопровождающей дыхательный взрыв (ДВ), индуцированный в суспензиях нейтрофилов или сильно разбавленных препаратах крови. Неразбавленная кровь не используется для этих исследований, поскольку предполагается, что гемоглобин и другие хромофоры должны полностью тушить ХЛ. Однако мы наблюдали сверхслабое излучение нативной неразбавленной крови человека в отсутствие и в присутствии усилителей ХЛ (люминол и люцигенин) после инициирования в ней ДВ зимозаном или другими стимуляторами и даже в состоянии покоя. Мы предположили, что основным источником энергии для генерации ЭВС в цельной крови являются реакции одноэлектронного восстановления кислорода, осуществляемые главным образом лейкоцитами и тромбоцитами; при этом эритроциты служат источником кислорода для этих реакций. Гемоглобин (Hb) эритроцитов, обеспечивающий непрозрачность крови, фактически не поглощает излучение фотонов, но излучение практически исчезает при добавлении в кровь свободного Hb. Таким образом, излучение фотонов из крови может быть результатом вторичной эмиссии из-за безызлучательного переноса энергии в этой неравновесной кооперативной системе.

Характер фотонной эмиссии из неразбавленной крови человека по ряду проявлений отличается от излучения из сильно разбавленной крови или суспензий изолированных нейтрофилов. Поскольку практически весь молекулярный кислород в цельной крови связан с Hb, его потребители (белые клетки) могут получать кислород только из эритроцитов. Будут представлены свидетельства того, что особенности излучения фотонов из неразбавленной крови, по-видимому, связаны со сложными взаимодействиями между различными клеточными компонентами в крови, что нехарактерно для суспензий чистых нейтрофилов.

Было установлено, что протекающие в крови процессы, сопровождающиеся излучением фотонов, чувствительны к сигналам очень низкой интенсивности. Так, на параметры излучения неразбавленной крови человека во время развития ДВ могут влиять собственные фотоны, обратно отраженные в образец крови. Такие фотоны ускоряют медленно развивающиеся и тормозят быстро развивающиеся окислительно-восстановительные процессы, протекающие в крови. Показано также, что на интенсивность фотонной эмиссии из крови могут влиять модуляторы свободно-радикальных реакций, например, фуллерен C₆₀ в сверхмалых дозах. Наблюдалась значительная зависимость параметров фотонной эмиссии от объема образцов с кровью, от периода времени между изъятием крови и измерениями фотонной эмиссии. Обнаружен температурный гистерезис фотонной эмиссии из крови, особенно ярко выраженный на этапе развития и затухания ДВ. Гистерезис, как известно, свидетельствует о системных, целостных свойствах объекта.

Параметры фотонной эмиссии зависели от состояния здоровья доноров, что позволяет использовать этот подход в диагностических целях. Так, наблюдались закономерные изменения фотонной эмиссии из цельной крови пациентов с ишемической болезнью сердца и хронической обструктивной болезнью легких в ходе терапии.

Совокупность результатов позволяет предположить, что сверхслабое излучение цельной неразбавленной крови человека отражает интенсивность окислительного метаболизма в ней, свидетельствует, что АФК постоянно продуцируются в цельной крови. Учитывая, что в реакциях с участием АФК генерируется ЭВС, мы предполагаем, что энергия их релаксации к основным состояниям используется для возбуждения крови, как целостной системы, и, в частности, Hb эритроцитов, облегчающем освобождение кислорода. Сложные системные свойства цельной крови позволяют ей экономить энергию электронных возбуждений, выделяемую в процессе обмена веществ, для осуществления многих процессов жизнедеятельности.

ВЛИЯНИЕ ЯЗЫКОВОЙ ПЛОТНОСТИ НА ДВИЖЕНИЯ ГЛАЗ ПРИ ЧТЕНИИ ТЕКСТОВ НА РОДНОМ (РУССКОМ) ЯЗЫКЕ

THE EFFECT OF LANGUAGE DENSITY ON EYE MOVEMENTS WHILE READING TEXTS IN NATIVE (RUSSIAN) LANGUAGE

Демарева В.А., Кушина Н.В.

ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, kaleria.naz@gmail.com

Важнейшее значение для развития моделей восприятия информации имеет понимание языковых универсалий. На основании отличий языков по критерию плотности, в статье 2016 года S. Liversedge и соавт. выделили универсальные и специфичные к языку паттерны движения глаз на материале английского, финского и китайского языка [1]. В рамках данной статьи для более глубокого изучения языковой универсальности предпринимается исследование движений глаз при чтении текстов на русском языке. Русский и английский являются алфавитными языками, с гласными и согласными, поэтому их плотность можно сопоставить: слова длиннее в русском языке, поэтому информационная плотность слов в английском языке должна быть больше. Основываясь на логике в работе [1], мы можем выдвинуть следующие предположения. По причине описанной выше разницы в информационной плотности двух языков количество фиксаций и амплитуда саккад будут больше, а длительность фиксаций будет меньше при чтении эквивалентных текстов на русском (результаты нашего исследования), чем на английском языке (результаты в работе [1]).

В исследовании приняли участие 27 русскоязычных студентов, каждый из которых продемонстрировал высокий уровень владения родным языком по С-тесту. Запись движений глаз проводилась на установке SMI Hi-Speed 1250 с частотой записи 500 Гц. После прохождения калибровки испытуемые читали восемь текстов (переводные версии стимулов из [1]), по каждому из которых впоследствии задавались вопросы на понимание. В качестве единицы анализа было выбрано предложение. Анализировались показатели, отражающие глобальные свойства движений глаз при чтении.

По сравнению с результатами в работе [1] в отношении английского языка, мы выявили, что при чтении эквивалентных текстов на русском языке наблюдается более длительное общее время чтения предложений, меньшее количество фиксаций, менее амплитудные правосторонние саккады и менее длительные фиксации. Таким образом, лишь одно из выдвинутых предположений было подтверждено. Вероятно, отсутствие подтверждения всех выдвинутых предположений может быть связано в том числе и с тем, что тексты сами по себе оказали значительное влияние на показатели движений глаз. К примеру, был выявлен значимый эффект типа текста на общее время чтения предложения ($F(6, 3701)=27.5, p<0.001$). Можно полагать, что на движения глаз в данном исследовании оказали влияние иные специфические особенности русского языка (помимо плотности). Также целесообразно рассмотреть возможности эффекта разных видов языковой плотности.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 18-013-01169).

1. Liversedge S.P., Drieghe D., Li X., Yan G., Bai X., Hyönä J. Universality in eye movements and reading: A trilingual investigation // *Cognition*. 2016. Vol. 147. P. 1-20.

ОПТИМИЗАЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ЖИЗНЕОБЕСПЕЧЕНИЯ ДЛЯ ЗДАНИЯ, СЕРТИФИЦИРОВАННОГО ПО СТАНДАРТУ LEED

Ермаченко П.А.¹, Беляева Н.Е.²

¹ООО «АЯ ПРОЕКТ», Новочеркасск, neo-ecology@mail.ru

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

Одной из проблем устойчивого развития человечества является стремительный рост городского населения, вызывающий увеличение антропогенной нагрузки на урбанизированные экосистемы. В настоящее время биосферной совместимости мегаполисов уделяется повышенное внимание исследователей в области функционирования биологических систем жизнеобеспечения. Во многих странах реализуются проекты: вертикальных садов, городских аквонных ферм, природоподобных очистных сооружений. Для которых основным критерием эффективности можно рассматривать удельные энергозатраты на рециркуляцию биогенных элементов внутри частично замкнутой экосистемы. Однако, на стадии проектирования "зеленых" зданий возникают трудности по подбору оптимальных параметров для обеспечения устойчивого функционирования биологических компонентов сооружений. По этой причине в мировой практике экологического строительства активно внедряются новые методы компьютерного моделирования, позволяющие оптимизировать энергопотери зданий с учетом сложной иерархической структуры и нелинейной динамики систем жизнеобеспечения человека.

Например, обязательным требованием при сертификации объектов недвижимости по стандарту LEED

(Leadership in Energy and Environmental Design), оценивающему ряд показателей качества проектирования, строительства, эксплуатации и обслуживания "зеленых" зданий, является математическое моделирование энергоэффективности всего комплекса сооружений. При этом учитываются: уровень теплопотерь, кратность воздухообмена, содержание углекислого газа в жилых помещениях, значение естественной освещенности, норма потребления питьевой воды и доля повторного использования сточных вод. В тоже время, применяемые архитектурные решения должны обеспечивать по сравнению с типовым решением: увеличение не менее, чем на 30% подачи наружного воздуха для помещений с постоянным пребыванием людей, управление системой проветривания помещений по показаниям датчиков CO₂, повторное использовать более 50% сточных вод и сокращение минимум на 20% потребления питьевой воды [1].

Согласно методике сертификации по стандарту LEED в разделе "Энергоэффективность" определяется предполагаемый годовой эффект от внедрения комплекса мероприятий по снижению антропогенной нагрузки сооружения на окружающую среду по сумме эксплуатационных затратах и объему энергопотребления в тоннах условного топлива. А в подразделе «Инновации в проектировании», описываются использованные инновационные решения и технологии, позволяющие снизить энергопотребление здания. Таким образом формируется рейтинг экологичности и учитывается "углеродный след здания".

В качестве комплексного решения проблемы биосферной совместимости, для поглощения углекислого газа, очистки сточных вод и производства биотоплива третьего поколения сразу несколькими группами исследователей было предложено интегрировать в систему жизнеобеспечения жилых зданий фотобиореакторы с фотосинтезирующими микроорганизмами. Первый в мире жилой дом с фотобиореакторами, установленными на фасаде здания (BIQ house) был построен в 2013. По данным разработчиков, благодаря культивированию микроводорослей предполагалось на 50% снизить энергопотребление здания, однако, данный проект из-за конструктивных особенностей и технологических сложностей так и не удалось масштабировать.

С целью оценки эффективности культивирования микроводорослей на фасадах зданий ранее нами была построена математическая модель фотобиологических очистных сооружений, учитывающая рециркуляцию воды и биогенных элементов между сооружениями. Она позволила сбалансировать потоки веществ между фотобиореакторами, блоком минерализации, илоотделителями и метантенком. Также, была решена задача оптимизации положения и конструкции фотобиореакторов в условиях естественной освещенности по температуре и инсоляции в зависимости от затенения плотной городской застройки [2-4].

В настоящее время мы выполнили математическое моделирование энергоэффективности системы фотобиологических очистных сооружений согласно стандарту LEED для различных климатических условий при температурах воздуха от - 50 до + 50 С. В результате был оценен экономический эффект от сокращения объема принудительной вентиляции при поглощении из воздуха жилых помещений углекислого газа. Оптимизированы на основе вычислительного эксперимента параметры биологической системы жизнеобеспечения человека для здания сертифицированного по стандарту LEED. Предложен вариант конструктивного исполнения поглотителя углекислого газа.

1. LEED v4 HOMES DESIGN AND CONSTRUCTION Updated October 5, 2018.
2. Ermachenko P.A. et al. The optimal insolation rate of a photobiological architectural shell for microalgae cultivation // Biophysics. 2016. Т. 61. № 2. p. 326-333.
3. Buzalo N., Ermachenko P., et al. Mathematical modeling of energy balance in the photobiological treatment plants // Procedia Engineering. 2015. Т. 123. p. 117-124
4. Buzalo N., Ermachenko P. et al. Mathematical modeling of microalgae-mineralization-human structure within the environment regeneration system for biosphere compatible city // Procedia Engineering 2014. С. 84-93.

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ГАЗООБМЕНА МЕЖДУ СИСТЕМОЙ ДЫХАНИЯ И САМОСПАСАТЕЛЕМ

MATHEMATICAL MODEL OF GAS EXCHANGE OF BREATHING SYSTEM AND SELFRESCUE

Ермолаев Е.С., Дьяченко А.И.¹, Шулагин Ю.А., Суворов А.В., Паришин К.С

ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, 1861894@mail.ru

¹ Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва

Разработана математическая модель газообмена в биотехнической системе (далее по тексту «БТС»), включающей кардио-респираторную систему человека и средство индивидуальной защиты органов дыхания «Самоспасатель» (далее по тексту «Самоспасатель»). Самоспасатель – это устройство защиты органов дыхания, которое не использует внешний воздух для обеспечения дыхания человека в опасной ситуации, в частности, в случае подземных аварий, когда воздух содержит опасные для человека компоненты, как, например, угарный газ СО. Регенеративный продукт на основе надпероксидов щелочных металлов (KO₂, NaO₂) содержит химически связанный O₂, который выделяется в результате экзотермической реакции, при этом происходит

пропорциональное поглощение диоксида углерода и водяных паров, присутствующих в выдыхаемом воздухе [1]. Избыток дыхательной газовой смеси (ДГС) из дыхательного мешка при выдохе стравливается через клапан избыточного давления. При использовании Самоспасателя состав вдыхаемого газа из контура устройства, определяется химическими реакциями в регенеративном патроне и процессами газообмена в легких и тканях человека. Теоретическая оценка предполагаемого состава газа в контуре Самоспасателя, легких и крови является важной практической задачей, в решении которой целесообразно использовать математическое моделирование.

Исследование включает разработку математической модели газообмена в БТС, состоящей из трех компарментов: газового контура Самоспасателя, легких и тканей человека, а также сравнение экспериментальных данных, полученных для одного из испытуемых с результатами имитационного моделирования. В частности, рассматриваются динамика парциальных давлений метаболических газов в БТС во время использования Самоспасателя и динамика полного давления (P), определяемого работой клапана избыточного давления. Модель описывает динамику содержания и состояния газов (CO_2 , O_2 и других газов, не участвующих в метаболических и химических реакциях, например N_2) в трех компартаментах БТС во время использования «Самоспасателя». За основу имитационной модели принята математическая модель вентиляционной реакции человека в ходе возвратного дыхания [2]. Модель характеризуется тремя группами параметров: параметры выделения O_2 и поглощения CO_2 реагентом, параметры кардио-респираторной системы человека, и начальные значения переменных модели. Газовая смесь в БТС рассматривается как многокомпонентная система, состоящая из сухой газовой смеси, которая ведет себя как идеальный газ. Вентиляционная реакция человека на измененный газовый состав альвеолярного газа определяется гиперкапническим и гипоксическим хеморефлексами, описанных обыкновенными дифференциальными уравнениями [4]. Таким образом, модель газообмена в БТС описывается замкнутой системой уравнений, состоящей из 6 обыкновенных дифференциальных уравнений и 10 алгебраических уравнений. Все вычисления производились в графической среде имитационного моделирования Matlab Simulink в режиме с автоматическим выбором решателя с фиксированным шагом 0.01 для численного интегрирования дифференциальных уравнений.

Полученное хорошее соответствие имитационных и экспериментальных данных о динамике состава газа в БТС показывает, что модель позволяет прогнозировать состояние газовой смеси в БТС в каждый момент времени. Доработанная модель позволит подбирать реагенты и режимы использования Самоспасателя, уменьшая потребность в проведении испытаний с участием человека. Таким образом, разработана модель БТС, содержащей ткани и кардио-респираторную систему человека и «Самоспасатель». Верификация модели показала ее адекватность.

Работа выполнена при поддержке гранта Программы научных исследований президиума РАН «Фундаментальные исследования для биомедицинских технологий».

1. Jordan B.H., David M.K., John C.G. Characterization of potassium superoxide and a novel packed bed configuration for closed environment air revitalization // 44th International Conference on Environmental Systems, 13-17 July 2014, Tucson, Arizona, ICES-2014-192.
2. Dyachenko A.I., Ermolaev E.S., Shulagin Y.A. et al. Experimental and theoretical studies of human hypercapnic ventilatory response with the use of mathematical modeling of gas exchange // Human Physiology, 2016, vol. 42, 7, 826.
3. Neil S. C., Guy S. L. Oxygen and carbon dioxide gas stores of the body // Physiological reviews, 1970, vol. 60, 2: 196.
4. Magosso E., Ursino M. A mathematical model of CO_2 effect on cardiovascular regulation // Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2001, 281: H2036–H2052

ГЕОМЕТРИЧЕСКИЕ ФАЗОВЫЕ ПЕРЕХОДЫ В ДИНАМИКЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ GEOMETRIC PHASE TRANSITIONS IN THE DYNAMICS OF BIOLOGICAL SYSTEMS

Иудин Д.И.

ПИМУ, Нижний Новгород, iudin@ipfran.ru

Геометрические или перколяционные фазовые переходы представляют собой превращения обусловленные появлением (или исчезновением) геометрической связности в ансамбле идентичных элементов случайно однородно распределённых в конфигурационном (или расширенном конфигурационном) пространстве системы. Роль идентичных элементов обычно играют локализованные в пространстве пятна концентрации некоторой компоненты, физические свойства которой (проводимость, проницаемость, время жизни) оказываются контрастными по отношению к свойствам фона или других компонент системы. Связные компоненты контрастной фазы называют кластерами. Появление бесконечно протяжённой связной компоненты контрастной фазы или, как говорят, бесконечного перколяционного кластера, и является перколяционным

фазовым переходом. Порог геометрического фазового перехода определяется концентрацией и объёмом пятен контрастной компоненты, безразмерное произведение которых играет роль критического параметра перехода. В активных средах критический параметр представляет собой динамическую переменную задачи, что приводит к формированию фрактальной динамики на пороге кинетических переходов. Фрактальная динамика является частным случаем диссипативной динамики, когда в конфигурационном пространстве нелинейной распределённой системы появляются самоподобные или фрактальные структуры. Предлагаемый доклад является своеобразным введением в мир фрактальной динамики биофизических систем. Мы начнём с определения сложных систем, рассмотрим антиномию «сложность и простота», поговорим о структурной и динамической сложности. Рассмотрим простейшие примеры: часы и генератор Ван-дер-Поля. Попробуем построить сложные системы своими руками, поиграем в кубики и познакомимся с фракталами. Руководствуясь принципом «от простого к сложному», мы начнём с изложения базовых понятий и рассмотрим простейшие примеры как регулярных, так и стохастических фракталов. Мы узнаем, что в природе широко распространены системы, морфология и поведение которых демонстрируют самоподобие при изменении пространственно-временных интервалов или, как говорят, масштабную инвариантность – один из фундаментальных видов симметрий физического мира, играющий формообразующую роль во Вселенной. В англоязычной литературе это явление называют скейлингом от английского *scaling* - масштабирование, изменение масштаба. Пространственно-временной скейлинг является наиболее общим проявлением самоподобия, его демонстрируют сложные социальные, техногенные, геофизические и биофизические процессы и системы. Примерами могут служить история социальных потрясений и техногенных катастроф, лесные пожары и сейсмическая активность, вспышки на солнце и гамма активность звездных скоплений. Несмотря на широкое разнообразие физических контекстов, в которых разворачивается фрактальная динамика конкретных систем, существуют общие фундаментальные закономерности самоподобной динамики, предопределяющие независимость макроскопического поведения системы от мелкомасштабных нюансов взаимодействия локальных элементов. Поиск этих закономерностей и универсальных сценариев коллективного поведения сложных биофизических систем наряду с построением базовых моделей фрактальной динамики представляется чрезвычайно актуальной задачей. Идея о фундаментальной роли геометрических фазовых переходов в качественной перестройке динамики многокомпонентных распределённых систем представляется чрезвычайно привлекательной и в прикладном аспекте: многие актуальные проблемы нелинейной динамики сложных систем вообще и биофизики в частности могут быть рассмотрены в рамках такого подхода. В докладе будет представлено исследование универсальных сценариев динамики сложных систем. Для простых моделей найдём условия, при которых динамика обладает свойствами самоподобия. Покажем, что эффекты, связанные со структурными фазовыми переходами, в частности, с динамической перколяцией, предопределяют специфику отклика активной системы на внешнее воздействие и нетривиальный характер зависимости динамики от размеров системы. Мы взглянем серьёзно на роль случая. Поиграем в орлянку и понаблюдаем за блужданиями пьяного человека. Мы обсудим конструктивную роль хаоса и связь рассматриваемых явлений с эффектами динамической перколяции и эффектами генерации шумом кинетических фазовых переходов.

В рамках обозначенной проблемы решается задача выявления и анализа механизмов генерации паттернов активности сетей нейронов с нестационарной ("растущей") архитектурой межэлементных связей. Решение поставленной задачи предполагает экспериментальное исследование и теоретическое описание процессов возникновения и эволюции самоподдерживающихся структур электрической активности в культурах гиппокампальных нейронов мозга, выращиваемых на мультиэлектродных матрицах. В фокусе внимания проекта лежит исследование фрактальной динамики, скейлинга и структурных фазовых переходов в ансамблях взаимодействующих нейронов на основе анализа многоэлектродных записей растущих нейронных структур. Проект предусматривает построение и исследование биофизических моделей нейронных сетей с нестационарной архитектурой межэлементных связей.

1. Iudin D. I., I. Y. Tyukin, A. N. Gorban, F. D. Iudin, V. B. Kazantsev, I. V. Muhina, T. T. Tyukina, Simple model of complex dynamics of activity patterns in developing networks of neuronal cultures, PLOS ONE, 2019 (accepted)
2. Iudin D.I., Sergeyev Ya.D., Hayakawa M. (2015), Infinity computations in cellular automaton forest-fire model // Communications in Nonlinear Science and Numerical Simulation, 20(3), 861-870.
3. Iudin F.D., D.I. Iudin, V.B. Kazantsev (2015), Percolation Transition in Active Neural Networks with Adaptive Geometry // JETP Letters, vol. 101, No. 4, pp. 289 – 293.
4. Yakimov, V.N., Iudin, D.I., Solntsev, L.A., Gelashvili, D.B. (2014), Multifractal analysis of neutral community spatial structure // Journal of Theoretical Biology, 343, pp. 44-53.

СТОХАСТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ОБОЛОЧКИ АРТЕРИАЛЬНОГО ТРОМБА
STOCHASTIC MODEL OF THE ARTERIAL THROMBUS SHELL

Канева В.Н., Атауллаханов Ф.И.^{1,2,3}, Пантелеев М.А.^{1,2,3}, Вольперт В.А.^{4,5}, Нечипуренко Д.Ю.^{1,2,3}

ФГБОУ ВО "Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова", Москва, Россия

¹ФГБУН "Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук", Москва, Россия

²ФГБОУ ВО "Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова", Москва, Россия

³НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачёва, Москва, Россия

⁴Институт Камиля Жордана, Университет Лион I, Виллербанн, Франция

⁵ФГАОУ ВО "Российский университет дружбы народов", Москва, Россия

Тромбоциты – небольшие безъядерные клеточные фрагменты, форменные элементы крови. Слипаясь, тромбоциты образуют агрегат, перекрывающий место повреждения, а также участвуют в плазменном звене гемостаза. Известно, что в условиях артериального русла, при высоких скоростях сдвига, первичное прикрепление тромбоцитов опосредуется обратимым взаимодействием тромбоцитов через рецептор GPIb и фактор фон Виллибранда. Стабильная адгезия требует активации тромбоцитов под действием растворимых агонистов и механической стимуляции. Активированные тромбоциты взаимодействуют через интегрины и фибриноген, что обеспечивает рост тромба [1]. *In vivo* эксперименты по гемостатическому ответу в микрососудах мышей показали, что артериальный тромб неоднороден. Плотная внутренняя часть (ядро) состоит из сильно активированных тромбоцитов, рыхлая внешняя оболочка подвижна и состоит из слабо активированных клеток [2]. Целью данной работы было исследование динамики оболочки тромба в зависимости от сил взаимодействия тромбоцитов и кинетики их активации.

Нами была построена двумерная модель роста тромба. Тромбоциты представлены дисками радиусов $R = 1$ мкм. Первичное взаимодействия тромбоцитов через рецептор GPIb моделируется стохастически образующимися и разрывающимися пружинами. Вероятность образования связи зависит от расстояния между тромбоцитами, вероятность разрыва – от силы растяжения пружины.

Параметры модели стохастических пружин были подобраны на основе сравнения результатов моделирования с экспериментальными данными по качению тромбоцитов по подложке с фактором фон Виллибранда [3]. Взаимодействие тромбоцитов через интегрины описывается короткодействующим потенциалом Морзе. Эти силы возрастают со временем, которое тромбоциты находятся в тромбе. Величина сил была оценена по экспериментальным данным атомной силовой микроскопии для сильно активированных тромбоцитов [4].

Кровь рассматривается как несжимаемая Ньютоновская жидкость. Для численного решения уравнений Навье-Стокса и непрерывности используется программный пакет OpenFOAM. Расчеты проводились в квазистационарном приближении по потоку крови [5]. Сила, действующая на свободные тромбоциты в потоке описывается уравнением Стокса для сферических частиц. Тромбоциты, составляющие тромб, представлены неподвижными дисками с эффективным радиусом в два раза меньше реального. Таким образом учитывается влияние роста тромба на изменение потока.

Было изучено влияние сил между тромбоцитами и кинетики их активации на динамику роста и характер срывов тромба (скорость роста, критическая высота, размер срываемых фрагментов). На основе сравнения результатов моделирования с экспериментальными данными получена оценка критических сил между отдельными тромбоцитами в оболочке тромба. Была исследована стабильность тромба в зависимости от длины повреждения и скорости сдвига. Получена зависимость скорости роста от концентрации тромбоцитов в потоке.

Работа выполнена при поддержке гранта 19-51-15004 НЦНИ_а. все результаты получены с использованием оборудования Центра коллективного пользования сверхвысокопроизводительными вычислительными ресурсами МГУ имени М.В. Ломоносова.

1. Jackson S.P. The growing complexity of platelet aggregation // *Blood*. 2007. Vol. 109, № 12. P. 5087 LP – 5095.
2. Welsh J.D. et al. A systems approach to hemostasis: 1. The interdependence of thrombus architecture and agonist movements in the gaps between platelets // *Blood*. 2014. Vol. 124, № 11. P. 1808 LP – 1815.
3. Coburn L.A. et al. GPIb α -vWF Rolling under Shear Stress Shows Differences between Type 2B and 2M von Willebrand Disease // *Biophys. J. Elsevier*, 2011. Vol. 100, № 2. P. 304–312.
4. Nguyen T.-H. et al. Rupture Forces among Human Blood Platelets at different Degrees of Activation // *Sci. Rep.*, 2016. Vol. 6. P. 25402.
5. Trifanov P. et al. Developing Quasi-Steady Model for Studying Hemostatic Response Using Supercomputer Technologies // *Supercomput. Front. Innov.* 2018. Vol. 5, № 4. P. 67–72.

ИНФОРМАЦИОННАЯ ТЕОРИЯ СТАРЕНИЯ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ

INFORMATIONAL THEORY OF AGING: CURRENT STATE

Карнаухов А.В., Ходарович Ю.М.¹, Ковина М.В.², Сергеевич Л.А., Карнаухова Н.А., Богданенко Е.В.³, Крашенинников М.Е.², Люндун А.В.², Карнаухов В.Н.

ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, Россия, AlexeyKarnaukhov@yandex.ru

¹ФГБУН Институт биоорганической химии РАН, г. Москва, Россия

²ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Институт регенеративной медицины, г. Москва, Россия

³ФГБНУ НИИ общей патологии и патофизиологии, г. Москва, Россия

Информационная теория старения (ИТС) рассматривает снижение функциональности организма с возрастом как результат уменьшения функциональности репарационных механизмов вследствие деградации генетической информации в клетках. С точки зрения первопричины старения, она согласуется с теорией соматических мутаций (ТСМ), предложенной Сциллардом еще в 1959 году [1]. Вместе с тем, ИТС существенно отличается и от раннего варианта Сцилларда, и от более поздних вариантов ТСМ механизмом обеспечения генетической устойчивости популяции. «Парадокс нестареющей зародышевой линии» - факт, что количество мутаций не растет в геометрической прогрессии от поколения к поколению, в рамках ТСМ пытались разрешить, предполагая либо крайне низкий темп накопления мутаций в клетках зародышевого пути, либо существование особых гипотетических молекулярных механизмов репарации при мейозе, способных исправлять большинство мутаций. Поскольку эти предположения не подтвердились, ТСМ рассматривалась лишь как одна из гипотез, претендующих на объяснение феномена старения.

В 2009 году был предложен механизм избавления клеток зародышевого пути от груза соматических мутаций, накопленных за время жизни родительских особей, в том числе и от однонуклеотидных замен, считающихся принципиально нерепарируемыми в рамках чисто молекулярных механизмов [2]. Предложенный механизм является составной частью информационной теории старения (ИТС) и включает в себя два этапа:

1. Из диплоидных клеток зародышевого пути благодаря кроссинговеру образуется некоторое количество гамет с существенно меньшей плотностью мутаций на единицу длины ДНК по сравнению с исходной.
2. Гаметы с минимальным числом мутаций проходят конкурентный отбор, давая начало дочерним организмам.

В докладе обсуждаются как новые, так и ранее опубликованные результаты, подтверждающие ИТС:

1. Технология полногеномного секвенирования позволила экспериментально установить темп накопления мутаций в клетках зародышевой линии человека (и в стволовых клетках) – около двух мутаций в год [3].
2. Эксперименты 2009-2013 гг. по трансплантации сингенного костного мозга от молодых мышей старым показали зависимость эффекта увеличения средней продолжительности жизни (СПЖ) от уровня сингенности трансплантируемого материала. В группе с наибольшим уровнем сингенности увеличение СПЖ составило 34% [4]. Эти результаты позволяют прогнозировать больший эффект при использовании собственного (аутологичного) материала при трансплантации.
3. Системная модель старения в рамках ИТС воспроизвела основные количественные результаты популяционной динамики старения, такие как: закон Гомпертца-Мейкхема, компенсационный эффект старения, феномен детской смертности и кривые выживания для «нестареющих» видов [5].
4. Эксперимент 2013-2016 гг. показал рост максимальной продолжительности жизни мышей на 31 % [6].

1. Szilard L. On the nature of the aging process //Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 1959. – Т. 45. – №. 1. – С. 30.

2. Карнаухов А. В., Карнаухова Е. В. Информационная гипотеза старения: каким образом «ускользает» от старения зародышевая линия? //Биофизика. – 2009. – Т. 54. – №. 4. – С. 726.

3. Lynch M. Rate, molecular spectrum, and consequences of human mutation //Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010, 107. 3. 961-968.

4. Karnaukhov A. V. et al. Informational theory of aging: the life extension method based on the bone marrow transplantation //Journal of Biophysics, 2015, Volume 2015, Article ID 686249, 1-14.

<http://dx.doi.org/10.1155/2015/686249>

5. Карнаухов А. В. и др. Информационная теория старения: основные факторы, определяющие продолжительность жизни // Биофизика, 2017, 62, 5, 1008-1015.

6. Kovina M.V., Karnaukhov A.V. et al., Extension of Maximal Lifespan and High Bone Marrow Chimerism After Nonmyeloablative Syngeneic Transplantation of Bone Marrow From Young to Old Mice // Frontiers in Genetics, 2019, 10, 310, 1-6. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00310>

ВОЛНОВЫЕ ПРОЦЕССЫ В КРУПНЫХ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДАХ WAVE PROCESSES IN LARGE BLOOD VESSELS

Клочков Б.Н.

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

Представлен волновой подход к проблеме динамической биофизики сосудов. Рассмотрены распределенные модели крупных кровеносных вязкоупругих сосудов с протекающей в них кровью, учитывающие как осесимметричные, так и неосесимметричные деформации, наличие продольного и азимутального натяжений стенки сосуда. Это позволяет получить дисперсионные характеристики волновых процессов и выражение для частоты колебаний. Получены также выражения для критических скоростей потока крови, выше которых становится неустойчивой та или иная угловая мода сосуда. Проведенные для крупных кровеносных сосудов оценки показывают возможность возникновения в них как статического и квазистатического режима (малые частоты), так и режима колебаний (относительно высокочастотные вибрации). Критические скорости течения крови могут достигаться для вен в обычных условиях, а для артерий – при функциональных или диагностических сдавливаниях, при патологических изменениях. Показана возможность существования фиксированных структур сосуда [1–3].

В нормальных условиях скорость крови в крупных артериях может достигать 1.5–2.9 м/с, а при некоторых патологиях скорость течения крови в сосудах может значительно увеличиваться по сравнению с обычными условиями. Кроме этого существуют заболевания, связанные с уменьшением модуля Юнга материала стенки сосуда, что приводит к снижению критической скорости крови U_{cr} . Максимальная скорость крови в крупных венах может составлять 0.5 м/с. Частоты звуковых эффектов при наличии неустойчивости составляют 60–180 Гц. Измеренная частота колебаний в опыте на венах была около 235 Гц. Существует и достаточно широкий диапазон частот колебаний в системе сосуд–кровь 25–500 Гц. Анализ значений модуля упругости стенки сосуда E показывает, что существует их значительный разброс на несколько порядков. Необходимо различать условия содержания сосуда, у сосудистых препаратов из-за их физико-химической обработки значения E могут существенно превышать соответствующие в живом действующем состоянии. Приводятся довольно низкие значения модуля упругости сосуда $E=4.2 \times 10^3 - 2.7 \times 10^4$ Н/м², $E=10^3 - 5 \times 10^4$ Н/м². Имеются значения даже еще существенно меньшие $E=102.6 - 400$ Н/м². Вместе с этим существуют и данные значительно б'ольшие приведенных. Характерные значения радиуса для рассматриваемых сосудов лежат в пределах следующих значений $R_0=10^{-3} - 1.2 \times 10^{-2}$ м. Критические скорости крови существенно падают с уменьшением относительной толщины стенки сосуда q , ее минимальные значения составляют $q=0.02 - 0.04$.

Оценки сделаны при помощи полученных аналитических формул и выражений для нулевой моды и нулевых продольных и азимутальных напряжений, близких значениях плотностей крови и водоподобной ткани стенки сосуда $\rho \approx \rho \approx 1000$ кг/м³. Так, при $q=0.02$, $E=4 \times 10^3$ Н/м², $R_0=3 \times 10^{-3}$ м минимальная критическая скорость потока крови для возникновения неустойчивости равна $U_{cr}=0.28$ м/с, соответствующая частота равна $f_{cr}=153$ Гц. Минимальная критическая скорость крови для структурирования, извитости сосуда составляет $U_{0cr}=0.12$ м/с, то есть почти в два раза меньше U_{cr} . Заметим, что простое сжатие сосуда, уменьшение его просвета S тем или иным способом, например, при медицинских диагностических измерениях, дает увеличение скорости крови U , которая может стать выше критической, поскольку расход через сосуд $g=US=\text{const}$. С этой неустойчивостью могут быть связаны акустические, звуковые явления, регистрируемые микрофоном, акселерометром или другими приемниками колебаний. Если учесть вязкость протекающей крови и вязкость биологической ткани материала стенки сосуда, то можно показать, что области неустойчивости существенно расширяются, и возможности появления рассматриваемых эффектов облегчаются.

Измеренная скорость распространения пульсовой волны составляет 4–14 м/с для крупных артериальных сосудов и 1–2 м/с для крупных венозных сосудов. Оценка скорости пульса в области устойчивости при $q=0.04$, $E=5 \times 10^4$ Н/м², $U=0.1$ м/с получается равной $C=1.25$ м/с. Сделанные оценки показывают правдоподобность результатов для венозных и артериальных сосудов в норме и при ряде патологий. Живые ткани характеризуются механохимическими параметрами, которые могут значительно меняться функционально или тем более квазипатологически, тем самым могут реализовываться различные динамические и статические режимы. Заметим, что в живом организме может происходить прорастание ткани через так называемые ростовые деформации, и этот более медленный процесс может взаимодействовать с динамикой системы сосуд–кровь и закреплять статическую извитость. Когда сосуды прямые и чистые, то это нормально с точки зрения кровоснабжения, а любой изгиб, извитость сосуда может привести к дальнейшим нарушениям гидродинамики и прочим патологическим процессам.

Работа выполнена в рамках Госзадания ИПФ РАН, проект № 0035–2014–0008.

1. Клочков Б.Н. Волновые эффекты в мягких биососудах // Прикладная механика и техническая физика. 2015. Т. 56. № 3. С. 55–64.
2. Клочков Б.Н., Елисева Ю.Ю., Шилягин П.А. Распространение низкочастотных волн в биологических тканях и сосудах // Акустический журнал. 2009. Т. 55. № 4–5. С. 506–515.
3. Клочков Б.Н., Кузнецова Е.А. Нелинейные режимы изменения формы упругой трубки с потоком жидкости в ней // Известия АН. Механика жидкости и газа. 2000. № 4. С. 46–55.

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ВНЕШНЕЙ ТЕНАЗЫ: ЗНАЧЕНИЕ ДИФФУЗИИ И ПРОСТРАНСТВЕННОЙ НЕОДНОРОДНОСТИ СИСТЕМЫ

MATHEMATICAL MODELLING OF EXTRINSIC TENASE: THE IMPORTANCE OF DIFFUSION AND SPATIAL HETEROGENITY OF THE SYSTEM

Коваленко Т.А.^{1,2}, Пантелеев М.А.^{1,2,3}, Свешникова А.Н.^{1,2,3,4}

¹ - Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Физический факультет, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, строение 2

² – Центр Теоретических Проблем Физико-химической Фармакологии РАН, 119991, Москва, ул. Косыгина 4.

³ – Федеральный Научно-клинический Центр Детской Гематологии, Онкологии и Иммунологии им. Д. Рогачева, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, д.1.

⁴ – ГБОУ ВПО ПМГМУ им. Сеченова Минздрава РФ, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр. 2

Свертывание крови - процесс, который ведет к переходу крови из жидкого состояния в состояние геля и предотвращает потерю крови при повреждении сосуда. Свертывание инициируется при контакте плазмы крови с окружающими сосуд тканями, клетки которых содержат трансмембранный белок – тканевый фактор (TF). TF образует комплекс (внешнюю теназу) с протеазой плазмы крови фактором VIIa. Внешняя теназа активирует фактор X с образованием фактора Xa. Факторы X и Xa способны присоединяться к отрицательно-заряженной фосфолипидной мембране и таким образом переходить из «трехмерной» области (раствора) на «двумерную» (мембрану).

В изучении сложных систем биохимических реакций, задействованных в процессе свертывания крови, широкое применение нашло математическое моделирование. В 2017 году с его помощью было показано, что процесс связывания факторов X и Xa с мембраной фосфолипидных везикул является диффузионно-лимитированным [1]. Однако остается неясным, в каких случаях при моделировании реакций свертывания крови необходимо строго учитывать диффузию факторов свертывания и гетерогенность системы, и при каких условиях ими можно пренебречь.

Цель работы. На примере комплекса внешней теназы, формирующегося на поверхности фосфолипидных везикул, определить, в каких случаях при моделировании системы реакций необходимо строго учитывать диффузию факторов свертывания и гетерогенность системы.

Методы. Были построены три математические модели постепенно возрастающей сложности. 1) Гомогенная модель, в которой все реагирующие вещества были представлены в виде их объемных концентраций, а связывание с мембраной – в виде перехода вещества из пула свободного в растворе в пул связанного. Диффузия факторов при этом считалась бесконечно быстрой. 2) Гетерогенная модель, в которой свободные вещества в растворе учитывались как их объемные концентрации, а связанные с мембраной – как поверхностные плотности. 3) Распределенная гетерогенная модель, в которой гетерогенность системы учитывалась как в модели (2), и явно учитывалась как диффузия веществ в растворе, так и диффузия факторов X и Xa на мембране. Системы уравнений, соответствующие моделям были решены в Matlab (2015b) и COMSOL Multiphysics 4.3a.

Результаты. Три модели описывают экспериментальные данные [2] с одинаковой точностью. При концентрациях липидов в системе < 20 μM модели демонстрируют одинаковое поведение, однако при больших концентрациях липидов поведение моделей качественно различно. В то время как модель (1) демонстрирует рост скорости активации фактора X с ростом концентрации липидов, скорость активации фактора X в моделях (2) и (3) сначала растет с ростом концентрации липидов, а затем падает, что происходит по причине падения поверхностной плотности фактора X на мембране с ростом площади мембраны. Только модель (3) допускает строгое рассмотрение функционирования внешней теназы на везикуле в условиях потока. Присутствие потока приводит к падению наблюдаемой константы Михаэлиса по сравнению с таковой в системе без потока.

Выводы. Учет гетерогенности системы и диффузии важен при больших концентрациях липидов в системе. При концентрациях липидов < 20 μM этими свойствами системы можно пренебречь.

Работа проведена при поддержке гранта РФФИ 17-00-00 138 / 17-00-00 140

1. Kovalenko T.A. et al. Substrate delivery mechanism and the role of membrane curvature in factor X activation by extrinsic tenase // *Journal of Theoretical Biology*, 435, 2017, 125–133

2. Hathcock J.J. et al. Phospholipid Regulates the Activation of Factor X by Tissue Factor/Factor VIIa (TF/VIIa) via Substrate and Product Interactions // *Biochemistry*, 44, 2005. 8187-8197.

ОПТИМИЗАЦИЯ ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ РАДИОТЕРАПИИ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМБИНИРОВАННОЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ МЕТОДОМ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

OPTIMIZATION OF RADIOTHERAPY FRACTIONALIZATION FOR IMPROVEMENT OF EFFICIENCY OF COMBINED ANTI-TUMOR THERAPY BY MEANS OF MATHEMATICAL MODELING

Колобов А.В.^{1,2}, Кузнецов М.Б.^{1,2}

¹Физический институт имени П. Н. Лебедева, Москва

²Российский университет дружбы народов, Москва

Несмотря на значительные успехи молекулярной медицины, поиски препаратов, позволяющих полностью вылечить рак, пока не дают существенных результатов. В связи с этим важное место в онкологии занимает стратегия перевода онкологических заболеваний из острой фазы в хроническую, с увеличением продолжительности и качества жизни пациентов. Перспективным на этом пути является поиск комбинаций существующих типов терапии с высокой интегральной противоопухолевой эффективностью, являющейся результатом их успешного совмещения. Множество недавних доклинических и клинических исследований посвящено комбинации стандартного метода лечения, радиотерапии (РТ), с относительно новым методом, антиангиогенной терапией (ААТ), направленной на ингибирование ангиогенеза – образования новых кровеносных сосудов, питающих опухоль.

Интерес к этой комбинации в основном обусловлен тем фактом, что ААТ зачастую вызывает временное увеличение концентрации кислорода в опухоли (облегчение внутриопухолевой гипоксии), что повышает эффективность последующего облучения опухоли, так как кислород является ключевым радиосенсибилизирующим веществом [1]. Ключевой причиной этого эффекта считается нормализация структуры опухолевых микрососудов, вызванная ААТ, которая приводит к увеличению перфузии опухоли, а следовательно, к увеличению притока кислорода к ней [2]. Однако из-за временного характера этого явления его проявление не гарантирует, что добавление ААТ улучшит общую эффективность курса фракционированной РТ. Более того, конечным результатом и основной целью ААТ является лишение опухоли питательных веществ, что означает обострение гипоксии в долгосрочной перспективе. В связи с этим неудивительно, что доклинические и клинические исследования демонстрируют неоднозначные результаты относительно эффективности такого комбинированного лечения [3,4]. При этом в имеющихся на сегодняшний момент исследованиях рассматривают исключительно классические варианты фракционирования радиотерапии, в которых ежедневная доза облучения является постоянной на протяжении всего курса.

В данной работе представлена пространственно-распределенная математическая модель роста опухоли с учетом комбинированной РТ и ААТ. Ключевыми свойствами этой модели являются учет особенностей капилляров, образованных в результате опухолевого ангиогенеза, и одновременное рассмотрение двух основных питательных веществ, кислорода и глюкозы. Разработан оптимизационный алгоритм поиска наиболее эффективной схемы фракционирования РТ при заданном наборе параметров опухоли и заданной суммарной дозе облучения с учетом ограничения на разовую дозу. Предложены качественные рекомендации для модификации схем фракционирования РТ, основанные, в частности, на оптимальном использовании эффекта облегчения внутриопухолевой гипоксии, что в клинической практике может повысить эффективность комбинированной РТ и ААТ.

Работа частично поддержана грантом РФФИ № 19-01-00768 и университетской программой РУДН 5-100.

1. Dings R. P. M. et al. Scheduling of radiation with angiogenesis inhibitors anginex and Avastin improves therapeutic outcome via vessel normalization //Clinical Cancer Research. – 2007. – Т. 13. – №. 11. – С. 3395-3402.

2. Jain R. K. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy //Science. – 2005. – Т. 307. – №. 5706. – С. 58-62.

3. Meng F. L. et al. Antineoplastic therapy combined with whole brain radiation compared with whole brain radiation alone for brain metastases: a systematic review and meta-analysis //Eur Rev Med Pharmacol Sci. – 2013. – Т. 17. – №. 6. – С. 777-787.

4. Schanne D. H., Grosu A. L., Duda D. G. Anti-angiogenics and radiation therapy //Tumor Angiogenesis: A Key Target for Cancer Therapy. – 2017. – С. 1-10.

ВОЗНИКНОВЕНИЕ ПЕРВИЧНЫХ ЖИВЫХ СИСТЕМ НА ПЛАНЕТЕ ЧЕРЕЗ МЕХАНИЗМ ТЕРМОДИНАМИЧЕСКОГО ПЕРЕВОРОТА**ORIGIN OF INITIAL LIVING SYSTEMS ON A PLANET BY THE MECHANISM OF THERMODYNAMIC INVERSION***Компаниченко В.Н.*Институт комплексного анализа региональных проблем ДВО РАН, Биробиджан,
E-mail: kompanv@yandex.ru

Введение. В середине прошлого века Эрвин Шредингер опубликовал свою знаменитую работу, в русском переводе называющуюся «Что есть жизнь? С точки зрения физика» [1]. Вывод автора сводился к следующему: существует два уровня порядка – порядок из хаоса (“первичный”) и порядок из порядка (“вторичный”). Именно второй порядок соответствует жизни. Однако, Шредингер не пояснил, каким образом вторичный порядок может возникнуть из первичного и, соответственно, он не задавался вопросом, как возникает жизнь. В представляемом докладе рассматривается зарождение первичных живых систем на основе разработанной автором инверсионной концепции [2,3], а также как этот процесс можно связать с положениями Шредингера.

Термодинамическое различие между живыми и неживыми системами. Свободная энергия и обесценивающая ее энтропия являются базовыми термодинамическими понятиями. Вследствие их универсальности они могут быть использованы для принципиального сравнения живых и неживых систем. Общеизвестным является тот факт, что биологическая эволюция парадоксальным образом протекает с накоплением свободной энергии (то есть ее вклад превалирует над вкладом энтропии). В отличие от них, небιологические системы эволюционируют с тенденцией роста энтропии, в соответствии со 2-м законом термодинамики (в частности, звезды или магматические системы непрерывно диссипируют свободную энергию в окружающую среду, т.е. теряют ее). Общепринятого объяснения такого различия пока нет. Но очевидно, что в ходе возникновения первых живых микроорганизмов из неживых органических микросистем на Земле или другой планете должен произойти «перелом» термодинамического тренда. Тенденция увеличения энтропии через некое промежуточное состояние (нейтральную, или нулевую «точку») должна смениться тенденцией увеличения свободной энергии за счет ее эффективного извлечения из окружающей среды и экспорта энтропии (что меняет баланс между ними) на фоне постоянной внутренней реорганизации системы. Этот перелом автор называет термодинамическим переворотом, или термодинамической инверсией [2].

Момент возникновения жизни. Согласно разработанному подходу, преобразование предбиологических микросистем в простейшие формы жизни происходит в далеких от равновесия условиях при наличии многоуровневых колебаний физико-химических параметров в материнской гидротермальной среде. Именно в неравновесной среде возникают явления самоорганизации, рассмотренные Ильей Пригожиным с коллегами [4 и др.]; они могут быть соотнесены с первичным «порядком из хаоса» по Шредингеру. Самоорганизация на физико-химическом уровне рассматривается автором как необходимый предварительный этап для перехода к жизни. Сам переход осуществляется через термодинамический переворот в предбиологических органических микросистемах, происходящий за счет их эффективного (усиленного) ответного реагирования на колебания физико-химических параметров в среде; в концепциях других авторов подразумевается, что переход к жизни происходит просто за счет последовательного химического усложнения органических молекул и микросистем. В ходе инверсии момент возникновения жизни связывается с появлением в микросистемах избыточной (над-энтропийной) свободной энергии. Эта часть свободной энергии системы уже не может быть компенсирована энтропией вследствие эффективного экспорта последней. С этого момента и начинается термодинамическая реорганизация микросистемы на новых “негэнтропийных” (т.е. с дефицитом энтропии) принципах. Именно термодинамический переворот может быть сопоставлен с вторичным порядком из порядка по Шредингеру. Подходы к экспериментальной проверке предложенной концепции сформулированы в статье [3].

Заключение. Согласно развиваемому автором подходу, термодинамический переворот является природным механизмом, разграничивающим неживые (условно, “физико-химический мир”) и живые (“биологический мир”) системы. С момента инверсии, сформированные первичные микроорганизмы и их сообщества существуют уже по биологическим законам. Несмотря на уникальность этих законов в эволюционирующей Вселенной, они не противоречат законам физики. В частности, 2-ой закон термодинамики после инверсии не нарушается – энтропия в биосистемах все равно увеличивается, но свободная энергия накапливается быстрее за счет эффективной реорганизации внутренних процессов и целенаправленного поведения в среде.

1. Schrodinger E. What is Life? The Physical Aspect of the Living Cell. Lectures at the Trinity College, Dublin, 1944.
2. Kompanichenko V.N. Thermodynamic Inversion: Origin of Living Systems. Springer, Cham (Switzerland), 2017.
3. Kompanichenko V. Rise of Habitable Planet: Four Conditions for the Origin of Life // Geosciences. 2019. V. 9, # 92.
4. Пригожин И., Стенгерс И. Порядок из хаоса. Прогресс, М., 1986 (пер. с англ.).

КЛАССИФИКАЦИЯ ВИРУСНЫХ ОБОЛОЧЕК ПО ТИПАМ ПРОСТЕЙШИХ ИКОСАЭДРИЧЕСКИХ МНОГОГРАННИКОВ**CLASSIFICATION OF VIRAL SHELLS BY TYPES OF SIMPLEST ICOSAHEDRAL POLYHEDRA***Коневцова О.В.¹, Пимонов В.В.¹, Рошаль С.Б.¹*¹Физический факультет Южный Федеральный Университет, Ростов-на-Дону, Россия, khelgla@yandex.ru

Разработка противовирусных стратегий требует четкого понимания принципов, контролирующих расположение белков в вирусных оболочках (капсидах). В докладе будут рассмотрены аномальные икосаэдрические капсиды вирусов из семейств Picobirnaviridae, Flaviviridae, Leviviridae и будет показано, что расположение белков в них основано на геометрии ромботриаконтаэдра (РТ) [1]. Возможность появления геометрии РТ в вирусных оболочках и их классификация по типам простейших икосаэдрических многогранников, делает наши представления о структурах вирусных капсидов более завершенными. Ранее, используя развертку додекаэдра, мы рационализировали структуру капсидов Papillomavirus [2], состоящих исключительно из пентамеров. Расположение белков в оболочке описывалось в терминах хиральной укладки Пенроуза. Затем, используя геометрию икосаэдра, лежащую в основе модели Каспара и Клуга [3], и простейшие периодические гексагональные укладки, мы изменили оригинальный подход, сделав его применимым как для аномальных малых [4], так и для гигантских капсидов [5]. Тем не менее, глобальная икосаэдрическая симметрия, включающая вращения вокруг пяти-, трех- и двукратных осей, предполагает существование трех типов простейших многогранников: додекаэдра, икосаэдра и ромботриаконтаэдра (РТ).

По нашему мнению, тип простейшего многогранника, лежащего в основе капсида, сильно связан с особенностями его самосборки. Как известно, вирусные оболочки не всегда образуются из отдельных белков. Часто в белковом растворе появляются различные виды димеров, тримеров, пентамеров или гексамеров. Капсиды семейства Papillomavirus, интерпретируемые нами на основе геометрии додекаэдра [2], самоорганизуются исключительно из пентамеров. Крупные и гигантские вирусы с выраженной икосаэдрической огранкой формируются из тримеров [5]. Наконец, показано, что геометрия РТ типична для капсидов, которые собраны из димеров [1].

Также будет показано, что предложенная нами ранее модифицированная модель Каспара и Клуга [4] совместима с ромбическими разбиениями вирусных оболочек. Развитие модифицированной модели позволило нам рассмотреть локальные элементы симметрии, существующие в некоторых аномальных капсидах. Даная локальная симметрия вместе с тем фактом, что исследованные капсиды состоят из одного типа ромбических структурных единиц, а не двух (пентамеров и гексамеров – структурных единиц большинства капсидов), необходимы природе для увеличения степени квазиэквивалентности между симметрично неэквивалентными белками этих аномальных оболочек.

Построенная теория также продемонстрировала, как обычные поворотные элементы симметрии плоских гексагональных решеток превращаются в локальные элементы симметрии оболочек, обладающих глобальной икосаэдрической симметрией. Показано, что наличие локальных осей симметрии, как в аномальных, так и в обычных вирусных оболочках весьма важно для нормального функционирования вирусов, так как окрестностями локально-симметричных точек являются места, где клеточные рецепторы или антигенсвязывающие фрагменты прикрепляются к поверхности капсида. Таким образом, мы прояснили как принципы устройства некоторых капсидов, так и особенности механизма прикрепления капсида к заражаемой клетке с помощью рецепторных белков.

Разработанный подход может быть применен в будущих исследованиях упорядочения белков в аномальных и обычных вирусных оболочках. Кроме того, предложенные идеи могут быть полезны для исследователей, занимающихся анализом структур и областей локализации различных белковых комплексов, самоорганизующихся на поверхности капсидов. Отдельной и очень интересной задачей для последующего исследования может быть моделирование РТ-типа огранки, которая появляется в капсидах семейства Flaviviridae [6] из-за их взаимодействия с некоторыми антигенсвязывающими фрагментами.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-02-00549 А.

1. Pimonov V.V., Konevtsova O.V., Rochal S.B. Anomalous small viral shells and simplest polyhedra with icosahedral symmetry: the rhombic triacontahedron case // *Acta Cryst.* (2019). A75, 135–141.
2. Konevtsova O. V., Rochal S. B. & Lorman V. L. Chiral Quasicrystalline Order and Dodecahedral Geometry in Exceptional Families of Viruses// *Phys. Rev. Lett.*, 2012, 108, 038102.
3. Caspar D. L. D. & Klug A. Physical principles in the construction of regular viruses // *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 1962, 27, 1–24.
4. Rochal S. B., Konevtsova O. V., Myasnikova A. E. & Lorman, V. L. Hidden symmetry of small spherical viruses and organization principles in "anomalous" and double-shelled capsid nanoassemblies // *Nanoscale*, 2016, 8, 16976.
5. Rochal S. B., Konevtsova O. V. & Lorman, V. L. Static and dynamic hidden symmetries of icosahedral viral capsids // *Nanoscale*, 2017, 9, 12449.
6. Wang, J. et al. A Human Bi-specific Antibody against Zika Virus with High Therapeutic Potential // *Cell*, 2017, 171, 229–241.e15.

ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПЕРЕХОДА ПОПУЛЯЦИИ МИКСАМЕБ ОТ ПИТАНИЯ К АГРЕГАЦИИ

THERMODYNAMIC ASPECTS OF TRANSITION TO AGGREGATION OF MYXAMOEBAS POPULATION

Кручинин И.В.

МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, iv.kruchinin@physics.msu.ru

Dictyostelium discoideum (**DD**) – клеточный слизевик, относящийся к типу Mycetozoa. Описанный в 1935 году, **DD** вскоре стал одним из важных модельных организмов в клеточной биологии, генетике и биологии развития. Большую часть времени **DD** проводит в виде одиночных почвенных амёб, однако при определённых условиях амёбы образуют подвижные агрегаты, а затем многоклеточные плодовые тела сложного строения. Происходящие при этом процессы межклеточной сигнализации, клеточной дифференцировки, морфогенеза и др. позволяют использовать его в качестве модельного объекта.

Пока клетки **DD** не испытывают недостатка в пище, они питаются бактериями и размножаются митозом. Когда миксамебы «выедают» запасы пищевых ресурсов, начинается их агрегация. После переключения в режим «голодания», клетки начинают выделять *sAMP*, который служит хемоаттрактантом для других окружающих клеток **DD**. Но помимо *sAMP*, во внеклеточную среду выделяется несколько видов фосфодиэстераз (*PDE*) и ингибитор *PDE* (*PDI*), служащие регуляторами распространения *sAMP* в среде. Термодинамически система клеток **DD** при этих условиях представляет собой неравновесную динамическую систему с большим числом степеней свободы и множественными положительными и отрицательными обратными связями. Согласно принципу Онсагера кинетические коэффициенты L_{ik} определяются как коэффициенты в линейных соотношениях между термодинамическими силами X_k и потоками J_i : $J_i = \sum_k L_{ik} X_k$, причем скорость изменения энтропии (производство энтропии) $dS/dt = \sum_i J_i X_i$ [1]. По Онсагеру $L_{ik} = L_{kj}$, учитывая принцип локального равновесия Пригожина. Если количество сил в системе превышает количество потоков (открытая система), то необходимое условие стационарности состояния определяется при помощи принципа минимального производства энтропии (принцип Пригожина) [1].

Популяцию миксамеб можно рассматривать как систему, состоящую из подсистем (каждая клетка – подсистема). Так как система является неравновесной, то в данном случае лучше применять формализм неравновесной термодинамики для энтропии [2].

Таким образом, если усреднить по популяции количество секретируемых клетками в среду биохимических агентов (*sAMP*, *PDE*, *PDI*), можно оценить интенсивность метаболизма I . С учетом вышесказанного о биофизических аспектах перехода популяции миксамеб *Dictyostelium discoideum* от питания к агрегации, построен функционал F , входными параметрами которого являются плотность популяции миксамеб ρ , подвижность клеток M (усредненная по популяции), интенсивность метаболизма I , температура T , освещенность E и время t . В начальный момент времени t_0 функционал $F(\rho, M, I, T, E, t_0)$ задает стационарное состояние с минимумом производства энтропии [3]. При переходе из стационарного состояния, когда миксамебы находятся в состоянии одноклеточности при наличии пищевых ресурсов, к агрегации, термодинамические параметры системы будут претерпевать изменения.

Целью данной работы является прояснение механизмов самоорганизации в популяции миксамеб. В этой работе используется математическая модель агрегации миксамеб *Dictyostelium discoideum*, построенная на основе уравнений динамики. Также здесь используется потенциал Онсагера-Махлупа для оценки адекватности результатов эксперимента *in silico* теоретическим вычислениям. Входными данными для потенциала Онсагера-Махлупа являются функционал $F_t(\rho, M, I, T, E, t)$, построенный на основе теоретических сведений о переходе популяции **DD** от питания к агрегации, и функционал $F_e(\rho, M, I, T, E, t)$, построенный на основе эксперимента *in silico* (запуска модели агрегации на компьютере).

1. И. Дьярмати, Неравновесная термодинамика. – М.: Мир, 1974, стр. 177-191;
2. Ю.А. Кузнецов, А.Ю. Кузнецова, Некоторые математические модели динамики структурированных популяций. - Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского, 2011, № 3 (2), с. 99–107;
3. Эткин В.А., К термодинамической теории эволюции. – Интернет-издание, URL сайта: etkin.iri-as.org/napравlen/07edinstvo/K%20td%20teor%20evol.pdf

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОГРЕССИИ СОЛИДНОЙ ОПУХОЛИ С УЧЕТОМ ДИХОТОМИИ ПРОЛИФЕРАЦИИ И МИГРАЦИИ С ПОМОЩЬЮ ДАРВИНОВСКОЙ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ
INVESTIGATION OF SOLID TUMOR PROGRESSION WITH ACCOUNT OF PROLIFERATION-MIGRATION DICHOTOMY VIA DARWINIAN MATHEMATICAL MODEL

Кузнецов М.Б.^{1,2}, Колобов А.В.^{1,2}

¹Физический институт имени П. Н. Лебедева, Москва

²Российский университет дружбы народов, Москва

Одной из ключевых характеристик злокачественных клеток является высокая частота мутаций в их геноме, приводящая к росту агрессивности раковых опухолей со временем и обуславливающая возникновение резистентности опухолей к химиотерапевтическим препаратам [1]. Однако в подавляющем большинстве работ по математическому моделированию онкологических заболеваний злокачественная опухоль рассматривается как моноклональная популяция клеток, каждая из которых имеет одинаковые характеристики. Такой подход не позволяет моделировать опухолевую прогрессию, что серьезно ограничивает его потенциал. Этот недостаток привел к появлению более сложных моделей, в которых популяция опухолевых клеток структурирована по фенотипическому параметру, определяющему свойства отдельных клеток [2,3].

В данной работе представлена новая непрерывная пространственно-распределенная модель прогрессии солидной опухоли, в которой в явном виде учитываются мутации/эпимутации опухолевых клеток, происходящие при их делении. В модели учтены две причины перемещения опухолевых клеток в пространстве: их собственная подвижность и конвективные потоки, возникающие из-за пролиферации клеток в несжимаемой ткани. Проведено исследование прогрессии модельной солидной опухоли при фенотипических изменениях, которые оказывают взаимно обратное влияние на скорость пролиферации и подвижность клеток, увеличивая значение одного из параметров при уменьшении другого. Биологическое обоснование задачи связано с тем, что пролиферация и подвижность клеток зависят от двух параллельных метаболических путей, каждый из которых активно использует глюкозу: пентозофосфатный путь генерирует необходимые элементы для синтеза аминокислот, нуклеотидов и жирных кислот; в то время как гликолиз является основным путем для производства энергии, используемой для движения злокачественных клеток. При этом имеются экспериментальные свидетельства о том, что ингибирование одного из ферментов, связанных с одним из этих двух процессов, замедляет соответствующий процесс и ускоряет другой [4].

В данной работе с помощью численных расчетов модели показано, что важнейшей характеристикой, которая дает клеточной популяции эволюционное преимущество, является скорость ее прорастания в окружающую нормальную ткань, которая зависит как от скорости пролиферации, так и от собственной клеточной подвижности. При близких скоростях прорастания целый спектр клеточных популяций с существенно разными скоростями пролиферации и подвижностями может обладать сходной эволюционной приспособляемостью и сосуществовать, образуя устойчивую по композиционному составу опухоль. При различных зависимостях скорости деления и подвижности клеток от фенотипического параметра возможны качественно разные сценарии прогрессии опухоли, а именно прогрессия в направлении: 1) максимизации скорости пролиферации клеток, 2) максимизации подвижности клеток, 3) неопределенных значений скорости и подвижности клеток. Обнаружены сценарии, в которых при начальной прогрессии клеточного состава опухоли в направлении максимизации скорости пролиферации через некоторое время происходит резкое переключение направления прогрессии в сторону максимизации клеточной подвижности, что сопровождается падением скорости роста опухоли.

Работа частично поддержана грантом РФФИ № 17-01-00070 и университетской программой РУДН 5-100.

1. Hanahan D., Weinberg R. A. Hallmarks of cancer: the next generation //cell. – 2011. – Т. 144. – №. 5. – С. 646-674.
2. Hadjiandreou M. M., Mitsis G. D. Mathematical modeling of tumor growth, drug-resistance, toxicity, and optimal therapy design //IEEE Transactions on Biomedical Engineering. – 2014. – Т. 61. – №. 2. – С. 415-425.
3. Chisholm R. H. et al. Emergence of drug tolerance in cancer cell populations: an evolutionary outcome of selection, nongenetic instability, and stress-induced adaptation //Cancer research. – 2015. – Т. 75. – №. 6. – С. 930-939.
4. Kathagen-Buhmann A. et al. Glycolysis and the pentose phosphate pathway are differentially associated with the dichotomous regulation of glioblastoma cell migration versus proliferation //Neuro-oncology. – 2016. – Т. 18. – №. 9. – С. 1219-1229.

МОДЕЛИРОВАНИЕ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ

PLATELET AGGREGATION MODELLING

Масальцева А.А.¹, Пантелеев М.А.^{1,2}, Нечипуренко Д.Ю.^{1,2}

Физический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова

²Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук (ЦТПФХФ РАН)

³Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева

Агрегация тромбоцитов является важным этапом формирования гемостатической пробки – клеточного агрегата, препятствующего кровопотере. Самым распространенным лабораторным исследованием этого процесса является световая трансмиссионная агрегометрия. Несмотря на большой объем экспериментальных данных, в силу невозможности извлечения информации о функциональном состоянии тромбоцитов напрямую из вида агрегационной кривой, некоторые вопросы, в частности, обратимость агрегации в ответ на аденозиндифосфат при физиологическом уровне кальция, остаются открытыми. Целью работы является создание компьютерной модели процесса агрегации тромбоцитов в агрегометре, которая бы позволила исследовать возможность дезагрегации тромбоцитов в силу причин механического, а не биохимического характера.

В разработанной модели тромбоцит представляется материальной точкой, имеющий эффективные радиусы гидродинамического и межклеточного взаимодействия, а плазма крови – несжимаемой ньютоновской жидкостью. Движение большого числа отдельных тромбоцитов, заключенных в тонкий поперечный слой агрегационной кюветы, происходит в стационарном поле скоростей, создаваемом магнитной мешалкой на дне кюветы. Динамика тромбоцитов описывается уравнением Ланжевена, учитывающим броуновское движение и действие силы вязкого трения со стороны плазмы. Межклеточное взаимодействие через поверхностные интегринны описывается короткодействующим потенциалом Морзе. Такая постановка модели позволяет получить подробное представление о силах, возникающих внутри агрегата, в рамках адекватной вычислительной сложности и дает правдоподобное качественное описание кинетики агрегации тромбоцитов в агрегометре. Компьютерная реализация модели позволяет проводить расчеты на суперкомпьютере.

В дополнение к основной модели был разработан программный модуль, позволяющий исследовать стабильность агрегатов в зависимости от их конфигурационных особенностей и скорости вращения мешалки в рамках трех приближений для взаимодействия с потоком тромбоцитов, находящихся внутри агрегата и таким образом экранированных другими клетками. Получены результаты анализа стабильности агрегата при наличии в нем частиц, обладающих меньшими адгезионными способностями.

В результате работы разработана явная модель агрегации тромбоцитов, позволяющая исследовать как кинетику агрегации в зависимости от параметров взаимодействия частиц, так и стабильность отдельных агрегатов в зависимости от локальных гидродинамических характеристик и параметров межклеточного взаимодействия.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЕЙ РАЗЛИЧНОЙ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССЫ

PHYSICAL AND CHEMICAL STUDY OF AQUEOUS SOLUTIONS OF POLYETHYLENE GLYCOLES OF DIFFERENT MOLECULAR WEIGHT

Масимов Э.А., Оджавгердиева С.Я., Шахвердиев Я.Х.

Бакинский Государственный Университет, Баку, rsfmo@rambler.ru

Полиэтиленгликоли различной молекулярной массы являются наиболее часто используемыми полимерами в качестве одного из фазообразующих компонентов водных двухфазных систем полимер-соль-вода, широко используемых для разделения и очистки веществ биологической природы. Для понимания механизма разделения подобных трехкомпонентных систем на две водные фазы, необходимо всестороннее исследование водных растворов фазообразующих компонентов широким спектром методов физико-химического анализа. Методами волюмометрии, рефрактометрии, вискозиметрии, спектрофотометрии, а также поляриметрии, в сравнительно широком интервале концентраций и температур, изучены водные растворы полиэтиленгликолей различной молекулярной массы (1500, 3000, 4000, 6000 г/моль). Установлено, что зависимость мольного объема водных растворов ПЭГ являются линейной функцией мольной доли полимера, а тангенс угла наклона этой зависимости возрастает с увеличением молярной массы полимера. Получено единое уравнение зависимости мольного объема растворов ПЭГ от состава и молярной массы полимера. Показано, что зависимость мольного объема растворов ПЭГ различной молекулярной массы от массовой доли полимера

удовлетворительно ложится на одну кривую и может быть описана единым уравнением. Из практического постоянства мольного объема растворов исследуемых полиэтиленгликолей при одной и той же массовой доле ПЭГ следует ожидать и равенства плотностей указанных растворов. На самом деле зависимости плотности растворов указанных полиэтиленгликолей от массовой доли вполне удовлетворительно ложатся на одну кривую и может быть описана единым уравнением. Следует отметить, что аналогичная картина наблюдается и для зависимости показателя преломления этих растворов от массовой доли ПЭГ в растворе. Линейная зависимость мольного объема водных растворов полиэтиленгликолей различной молекулярной массы от мольной доли их в растворе позволяет рассчитать через кажущиеся мольные объемы ПЭГ их парциальные мольные объемы. Наблюдается заметное понижение парциальных мольных объемов полиэтиленгликолей по мере увеличения содержания их в растворе с дальнейшей стабилизацией их значений при повышенных концентрациях полимера. Найдено обобщенное уравнение зависимости парциального мольного объема полиэтиленгликолей от состава и молекулярной массы полимера. Установлено постоянство парциального мольного объема мономерного звена в бесконечно разбавленном растворе для всех изученных полиэтиленгликолей, независимо от молекулярной массы полимера. Возможность обобщения объемных свойств водных растворов полиэтиленгликолей различной молекулярной массы должна быть связана с одной стороны с тем, что при одной и той же весовой доли ПЭГ число мономерных звеньев ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$) в растворе будет одинаково, меняется только число молекул полимера на единицу массы раствора, а с другой, исключительной гибкостью кислородных связей, соединяющих отдельные звенья, и как следствие, большой гибкостью молекул ПЭГ в целом, независимо от степени полимеризации полимера.

Изучены спектры поглощения водных растворов указанных ПЭГ в интервале длин волн 200-1000 нм. Только в случае ПЭГ-6000 наблюдаются две полосы поглощения в ультрафиолетовой области. Зависимости оптической плотности растворов от концентрациях ПЭГ при обеих длин волн меняют наклон при повышенных концентрациях полимера.

Изучено влияние полиэтиленгликолей на величину удельного вращения водных растворов D-(+)-виннокислого натрия и D-(+)-виннокислого калия натрия. Наблюдаемое заметное понижение величины удельного вращения оптически активных тартратов по мере увеличения содержания ПЭГ в растворе, которое также стабилизируется при сравнительно больших концентрациях ПЭГ, должно быть связано с процессом дегидратации оптически активного тартрат аниона в присутствии ПЭГ. Из зависимости динамической вязкости водных растворов ПЭГ от температуры найдены энергии активации вязкого течения растворов различной концентрации ПЭГ. Тот факт, что концентрационная зависимость энергии активации растворов полиэтиленгликолей выражена слабее в области сравнительно высоких концентраций указывает на образование в этих растворах при повышенных концентрациях относительно стабильных пространственных структур, что находится в согласии с результатами волнометрии, спектрофотометрии и поляриметрии.

АНАЛИЗ ДИНАМИКИ НАЧАЛЬНЫХ ЭТАПОВ АРТЕРИАЛЬНОГО ТРОМБООБРАЗОВАНИЯ DYNAMICS OF THE INITIAL STAGES OF ARTERIAL THROMBOSIS FORMATION

Мегалинский А.Д.^{1,2}, Пантелеев М.А.^{1,2,3}, Атауллаханов Ф.И.^{1,2,3}, Шибeko А.М.^{2,3}, Нечипуренко Д.Ю.^{1,2,3}

¹Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, физический факультет, кафедра биофизики

²Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва

³Центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д.Рогачева, Москва

Одной из важнейших проблем современной биореологии является понимание механизмов тромбообразования в условиях артериального русла. До сих пор не определена роль плазменного звена гемостаза на начальных этапах формирования тромба. Известно, что в присутствии потока каскад реакций свертывания крови демонстрирует пороговое поведение по нескольким ключевым параметрам — скорости сдвига, поверхностной плотности тканевого фактора, и размеру области повреждения [1,2].

Целью данной работы является анализ пространственно-временной динамики плазменного звена гемостаза в условиях высокой плотности тканевого фактора и артериальной скорости сдвига при помощи экспериментальной и теоретической моделей.

Для постановки экспериментов *in vitro* использовались плоскопараллельные проточные камеры. На активированную пластиковую поверхность локализовано наносились везикулы, содержащие белок тканевой фактор, участвующий в активации свертывания крови по внешнему пути. Через данную систему с фиксированной скоростью прокачивалась свободная от тромбоцитов плазма здоровых доноров, и при помощи методов флуоресцентной микроскопии проводилась детекция процесса формирования фибринового сгустка в области активатора, после чего анализировалось его пространственно-временное распределение.

Для описания экспериментальных данных привлекалась редуцированная математическая модель свертывания крови. В качестве программного инструмента использовался пакет Comsol, использующий метод конечных элементов для исследования стационарных численных решений уравнения Навье-Стокса, а также

специальный блок для решения нестационарных задач в системах с химическими реакциями, конвекцией и диффузией веществ в двумерной постановке.

Экспериментальные данные, полученные для длины области с активатором в 1 мм, свидетельствуют о том, что фибриновый сгусток растет против потока в области, содержащей активатор, а также в направлении к центру канала (от поверхности с активатором) с переменной скоростью, имея тенденцию к остановке роста. Данные результаты были использованы для валидации редуцированной модели наработки тромбина. Результат численного анализа динамики генерации тромбина в условиях высоких скоростей сдвига и малых длин повреждения (<50 мкм) показал, что для достижения пороговой концентрации тромбина в интервале нескольких десятков секунд, необходимо иметь защиту плазменного каскада реакций от смыва потоком. В качестве такой защиты в модели был рассмотрен тромбоцитарный тромб, непроницаемый для потока жидкости, но проницаемый для переноса веществ, генерируемых с поверхности. Тромбы моделировались в приближении полусфер различного радиуса. В результате моделирования была получена зависимость минимальной высоты тромба, оказывающего существенное защитное действие, от длины повреждения.

Полученные экспериментальные и теоретические результаты показали, что надпороговая генерация тромбина и формирование фибрина в условиях артериальных скоростей потока возможна только в случае достаточной длины повреждения. Разработанная математическая модель начальных этапов наработки тромбина демонстрирует необходимость защиты от ингибирующего действия потока в случае малых длин повреждения. Таким образом, разработанная модель позволяет предсказывать возможность наработки тромбина в зависимости от локальных биохимических, геометрических и гемодинамических параметров повреждения сосуда.

1. Blood flow controls coagulation onset via the positive feedback of factor VII activation by factor Xa/Alexey M. Shibeko, Ekaterina S. Lobanova, Mikhail A. Pantelev and Fazoil I. Ataulakhanov/BMC Systems Biology/2010

2. Threshold Response of Initiation of Blood Coagulation by Tissue Factor in Patterned Microfluidic Capillaries Is Controlled by Shear Rate/Feng Shen, Christian J. Kastrup, Ying Liu, and Rustem F. Ismagilov/ATVB/2008



МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИФФУЗИИ МЕТАБОЛИТОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ

MODELLING OF METABOLITES DIFFUSION IN BIOLOGICAL OBJECTS

Нарциссов Я.Р.

НИИ цитохимии и молекулярной фармакологии, Москва. yarosl@biotic.dol.ru

Биологические системы в подавляющем большинстве случаев обладают выраженной пространственной неоднородностью как самой геометрической формы, так и описывающих их физико-химических переменных. Данная особенность в биофизическом контексте приводит к рассмотрению целого класса динамических явлений, таких как квазистохастические и спиральные волны, синхронные автоколебания, ведущие центры, ревербераторы, стационарные во времени неоднородные распределения кинетических переменных т.н. диссипативные структуры и т.д. Одним из важных примеров пространственно-распределенных переменных в биологическом объекте является концентрации различных химических соединений (искусственных или естественных метаболитов), участвующих в метаболических процессах. Начиная с идеи Алана Тьюринга о том, что диссипативные стационарные структуры, образованные диффундирующими химическими веществами, взаимодействующими друг с другом лежат в основе процессов самоорганизации биологических систем, в частности процессов морфогенеза, изучение пространственной неоднородности содержания химических соединений позволяет раскрыть механизмы хемотаксиса бактерий, распространение волн регуляторов и медиаторов, а так же задавать физико-химические условия в биологических реакторах. Описание пространственно-временных распределений концентрации метаболитов играет огромную роль в изучении фармакодинамики и фармакокинетики лекарственных препаратов, а также имиджевой диагностики с применением биомаркеров. Важно подчеркнуть, что для различных медицинских исследований очень часто имеет существенное значение информация о распределении именно активности ферментов, а не сама переменная во времени амплитуда градиента концентрации метаболита. Следует особо выделить в данном случае вопросы химеотерапии онкологических заболеваний, при которых критически необходимо осуществить доставку лекарственного средства в определенную локальную область, а также обеспечить превышение там заданных пороговых значений его концентрации.

Теоретический анализ закономерностей для описанных выше явлений осуществляется на основе численного или аналитического решения краевых задач для систем нелинейных дифференциальных уравнений второго порядка в частных производных. Для подобных целей на сегодняшний день существует весьма обширный математический аппарат. В данной работе использовались как оригинальные алгоритмы, включающие комбинированные численные методы, так и описание градиентов метаболитов в универсальной среде численного моделирования COMSOL Multiphysics.

На основе модульного универсального алгоритма, позволяющего имитировать функциональную работу различных белков разработан новый подход для представления и количественной оценки пространственно-временных распределений концентраций метаболитов в виртуальных фантомах биологических объектов, позволяющий учитывать их геометрическую сложность и пространственную неоднородность. Показано, что изменение симметричности геометрии расположения источников метаболита в фантоме биологического объекта сказывается не только на количественных оценках содержания самого химического вещества, но и на качественной реакции всей системы на внешнее регуляторное воздействие. При этом формирование кластера источников метаболитов обеспечивает возникновение высокоамплитудного градиента для выбранного химического соединения, компенсирующего его сниженный приток. В тоже время уровень содержания диффундирующего соединения во всем пространстве диффузии при неизменной плотности источников метаболита не будет превышать низких пороговых значений если отношение коэффициента диффузии к константе его поглощения средой будет меньше квадрата среднего размера источника.

Полученные в работе результаты позволяют расширить возможности применения математического моделирования в биомедицинских исследованиях и служат основой для последующей разработки приложений для клинических диагностических систем.

КОМПАКТНАЯ МОДЕЛЬ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ С УЧЕТОМ ВРЕМЯ-ЗАВИСИМОЙ КОМПЕТЕНЦИИ. СЛУЧАЙ ЛАТЕРАЛЬНОЙ РАЗМЕТКИ МЕЗОДЕРМЫ АМФИБИЙ

COMPACT MODEL OF SPATIAL DIFFERENTIATION CONSIDERING TIME-DEPENDENT COMPETENCY. THE CASE OF LATERAL MESODERM PATTERNING IN AMPHIBIA

Нестеренко А.М.^{1,2,}, Орлов Е.Е.¹, Паршина Е.А.¹, Зарайский А.Г.¹*

¹НИИФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ, Москва

²ИБХ им. ак. М.Ю. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва

*email: comcon1@protonmail.com

Современные исследования механизмов эмбриогенеза все чаще привлекают методы математического моделирования для описания динамического установления паттернов дифференцировки клеток. В тех случаях, когда в установлении паттернов важную роль играют далекодействующие факторы, исследователи прибегают к уравнениям в частных производных типа «реакция-диффузия». При этом реакционная часть описывает ответ клеток на воздействие этих диффундирующих факторов.

Для различных случаев эмбриогенеза, органогенеза, а также регенерации паттерна в разное время разработано множество моделей в частных производных, среди которых можно выделить модели типа «сток-исток», модели на базе неустойчивости Тьюринга, модели бегущей волны и др.. Во всех без исключения случаях результат зависит от времени симуляции, и чаще всего время выбирают таким, чтобы система успела достигнуть стационарного состояния (см. например [1]). В последнее время показано, что время, отводимое на разметку эмбриональной ткани, регулируется независимой подсистемой, связанной с механизмом управления клеточным циклом [2]. Поэтому в данной работе мы разработали модель, которая учитывает этот временной фактор. Нашей задачей было сформулировать модель, которая бы минимальным количеством уравнений реализовывала бы следующие особенности реального процесса развития:

1. модель размечает в пространстве зоны с различной судьбой дифференцировки;
2. судьба клеток определяется достижением пороговой концентрации фактора;
3. существует задержка между рецепцией концентрации и изменением клеточной дифференцировки;
4. переключение клеточной дифференцировки осуществляется с эффектом гистерезиса;
5. способность фактора переключать дифференцировку уменьшается со временем.

Чтобы удовлетворить данным требованиям, к системе уравнений типа «реакция-диффузия» добавляется уравнение клеточной дифференцировки. В простейшем случае модель записывается следующим образом:

$$\frac{\partial x}{\partial t} = \alpha_x H(\delta) - \beta_x x + \frac{\partial^2 x}{\partial r^2}$$

$$\frac{\partial \delta}{\partial t} = \vartheta(-\delta^3 + \delta + [x - K]e^{-t/\tau})$$

где x — концентрация фактора дифференцировки, δ — переменная «клеточной судьбы», принимающая положительные значения в случае выбора одного направления дифференцировки и отрицательные — в случае выбора другого, K — параметр определяющий пороги, H — пороговая функция (сглаженная функция Хэвисайда), а τ — время, по мере приближения к которому концентрация x все меньше влияет на определение клеточной судьбы.

Используя данный подход, мы построили модель латеральной дифференцировки мезодермы ранней нейрулы шпорцевой лягушки *X. laevis* (стадии 12.5-15 NF). Мы рассматривали возможность дифференцировки мезодермы по пути «хорда», как определяемую концентрацией свободного фактора BMP. При этом ингибитор

BMP, белок Chordin свободно диффундировал и выделялся в клетках, выбравших судьбу «хорды». Через определенное время возможность изменить судьбу теряется и размер хорды оказывается зафиксирован, а результирующий градиент свободного фактора BMP определял уже только размер области сомитов. При помощи данной модели нам успешно удалось теоретически описать влияние изменение экспрессии генов *Noggin2*, *MMP3*, *ADMP* на ширину хорды и сомитов.

Работа поддержана фондом РФФИ (18-34-00574 мол_а, 18-34-00772 мол_а) и фондом РНФ (№19-14-00098). Микроскопические исследования выполнялись в ЦКП ИБХ РАН и ЦКП НИИФХБ МГУ.

1. Inomata H., et al. Scaling of dorsal-ventral patterning by embryo size-dependent degradation of Spemann's organizer signals. // Cell. 2013. Vol. 153. pp. 1296-311.
2. Tuazon F.B., Mullins M.C. Temporally coordinated signals progressively pattern the anteroposterior and dorsoventral body axes. // Semin. Cell Dev. Biol. 2015. Vol. 42. pp. 118–133.

ВЛИЯНИЕ МЕХАНИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ТРОМБОЦИТОВ НА СТРУКТУРУ АРТЕРИАЛЬНЫХ И ВЕНОЗНЫХ ТРОМБОВ

THE IMPACT OF PLATELET MECHANICAL ACTIVITY ON THE STRUCTURE OF ARTERIAL AND VENOUS THROMBI

Нечипуренко Д.Ю., Пантелеев М.А.¹, Атауллаханов Ф.И.²

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва,
ne4ipur@gmail.com

¹Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва

²Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева, Москва

Возникновение артериальных тромбов в месте повреждения сосудистой стенки может приводить к существенному уменьшению локального кровотока, тем самым вызывая серьезные осложнения – такие как инфаркт миокарда и ишемический инсульт. Несмотря на большую значимость данной проблемы, механизмы, регулирующие динамику формирования артериальных тромбов, в настоящее время остаются предметом исследования.

Анализ формирования тромбов в артериях и артериолах мышей показал, что структура артериального тромба существенно неоднородна: внутренняя часть тромба, называемая ядром, представляет из себя стабильный и плотный агрегат из сильно активированных тромбоцитов, в то время как внешняя часть, называемая оболочкой тромба, состоит из слабо активированных тромбоцитов и демонстрирует подвижность в условиях потока [1]. Формирование плотноупакованной сердцевины тромба происходит благодаря механической активности тромбоцитов, способных к сокращению за счет работы немышечного миозина.

При помощи объединения подходов *in vivo*, *in vitro* и компьютерного моделирования, нами было продемонстрировано, что в процессе контракции – то есть сжатия тромбоцитарного агрегата – происходит перераспределение клеток в составе тромба: слабо взаимодействующие с другими клетками умирающие тромбоциты механически вытесняются на поверхность агрегата [2]. Данное перераспределение приводит к дополнительной неоднородности внешних слоев тромба, что может существенным образом влиять на динамику агрегата в условиях потока.

Недавние исследования ретракции кровяного сгустка, сформированного в отсутствии потока, также демонстрируют существенную роль механической активности тромбоцитов в формировании пространственно-неоднородной структуры так называемого красного тромба. Взаимодействие тромбоцитов с волокнами фибрина и их способность к совершению работы по натяжению волокон приводит к пространственной реорганизации сгустка: в центре тромба оказываются плотно упакованные полиэдральные эритроциты, а на поверхности – волокна фибрина и тромбоциты, генерирующие избыточное давление за счет механической активности [3].

Таким образом, механическая активность тромбоцитов играет существенную роль в формировании специфичной пространственно-неоднородной структуры как артериальных, так и венозных тромбов, однако физиологическая роль такой реорганизации в настоящее время остается предметом гипотез.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 19-51-15004.

1. Stalker T. et al. Hierarchical organization in the hemostatic response and its relationship to the platelet-signaling network // Blood. 2013. Vol. 121. P. 1875.
2. Nechipurenko D. et al. Clot contraction drives the translocation of procoagulant platelets to thrombus surface // ATVB. 2019. Vol. 39. P. 37.
3. Kim O. et al. Quantitative structural mechanobiology of platelet-driven blood clot contraction // Nature commun. 2017. Vol. 8 P. 1274.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДАННЫХ ДИСТАНЦИОННОГО ЗОНДИРОВАНИЯ В ПОСТРОЕНИИ ОЦЕНОК ФИТОПЛАНКТОННОГО ОБИЛИЯ МЕТОДАМИ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ**USING REMOTE SENSING DATA IN THE CONSTRUCTION OF PHYTOPLANKTON ABUNDANCE ASSESSMENTS BY MATHEMATICAL MODELING METHODS***С.Я. Пак, А.И. Абакумов*

ФГБУН Институт автоматки и процессов управления ДВО РАН, г. Владивосток, e-mail: packsa@iacp.dvo.ru

Фитопланктон, как известно, является нижним уровнем трофической цепи в водной экосистеме, определяющим ее продуктивность. Современные методы дистанционного наблюдения позволяют получить информацию о поверхностном распределении фитопланктона на достаточно большой площади. Данный способ получения информации существенно ограничен тем, что только верхний слой воды доступен для проникновения спутникового сигнала. Следовательно, объем растительной биомассы, скрытый в толще воды, может существенно отличаться от данных дистанционного мониторинга. Для восстановления значения интегральной биомассы во всем столбе воды под единицей площади используется вертикальная модель функционирования фитопланктона, основанная на концепции функции приспособленности [1]. В соответствии с поставленной задачей фитопланктонное сообщество рассматривается с точки зрения его стремления занять наиболее благоприятную для жизнедеятельности нишу. В этом случае изменение плотности фитопланктона с глубиной пропорционально удельной скорости роста фитопланктона. Поиск решения в модели сводится к решению задачи Коши для системы обыкновенных дифференциальных уравнений, где в качестве начальных условий используются данные дистанционного зондирования о поверхностной концентрации хлорофилла, температуре и освещенности. Удельная скорость роста фитопланктона принята в виде мультипликативной зависимости от основных факторов внешней среды, в первую очередь, от минерального питания.

Географический объект представлен массивами поверхностных значений концентрации хлорофилла, температуры и освещенности в каждом узле равномерной сетки, свободном от облачности. Для решения вертикальной модели была произведена оцифровка глубинных карт с целью получения предельных значений водного горизонта в каждой точке объекта, подверженного спутниковой обработке. Значения в районах наблюдения, закрытых облачностью, получены путем автоматической триангуляции, используя опорные узлы, в которых данные численного решения корректны. Визуализация полученного решения дает представление о пространственном распределении биомассы, включая весь фотический слой.

Модель опробована на данных дистанционного зондирования Японского моря, озера Иссык-Куль [2], а также части Охотского моря в районе Западно-Камчатского шельфа. От качества данных, которыми располагает исследователь помимо спутниковой информации, зависит способ верификации параметров модели. В первом случае использовались литературные источники и биогеографическое описание Японского моря [3]. Во втором случае для верификации модельных параметров были привлечены данные натурных измерений, полученные контактным способом [4]. Район Западно-Камчатского шельфа исследовался на основании данных экологического мониторинга соответствующего лицензионного участка Охотского моря [5]. Такой мониторинг проводился на стационарных станциях отбора проб, а также – на траловых, гидрологических и ихтиопланктонных станциях. Соответствующие данные дистанционного зондирования собирались посуточно путем преобразования спутниковой информации в многомерные числовые массивы. Использовались результаты спутниковой обработки района за полугодовой период, соответствующий сезону, когда Охотское море не защищено ледяным покровом.

Авторы выражают благодарность центру коллективного пользования регионального спутникового мониторинга окружающей среды Института автоматки и процессов управления (ИАПУ) ДВО РАН (Владивосток) за предоставление данных дистанционного зондирования, а также лаборатории машинной графики ИАПУ ДВО РАН за оцифровку топографического материала.

Работа поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований № 18-01-00213.

1. Полуэктов Р.А., Пых Ю.А., Швытов И.А. Динамические модели экологических систем. Л.: Гидрометеоздат, 1980. 286 с.
2. Svetlana Ya Pak, Alexander I. Abakumov. Mapping of Model Estimates of Phytoplankton Biomass from Remote Sensing Data // Springer Proceedings in Earth and Environmental Sciences. Springer, Cham. 2019. Pp 73-79.
3. Добровольский А. Д., Залогин Б. С. Моря СССР. – М.: Изд-во МГУ, 1982.
4. Тыныбеков А.К., Маторин Д.Н. Состояние фитопланктона озера Иссык-Куль. Бишкек: Изд. КРСУ, 2009. 230 с.
5. Мониторинг состояния окружающей среды на Западно-Камчатском лицензионном участке в 2015-2016 гг.: информ. бюл. Красноярск - Петропавловск-Камчатский, 2015. 376 с.

МЕТОДЫ РЕФРАКТОМЕТРИИ И ИКС НПВО В ИССЛЕДОВАНИИ ЖИВОТНЫХ ЛИПИДОВ И ИХ КУПАЖЕЙ**METHODS OF REFRACTOMETRY AND FT-IR SPECTROSCOPY IN THE STUDY OF ANIMAL LIPIDS AND THEIR BLENDS***Везо О.С., Плотникова Л.В., Нечипоренко А.П.¹, Мельникова М.И.¹*

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

¹Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург

Методами рефрактометрии и инфракрасной спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения (ИКС НПВО) проведено исследование серии животных жиров разной природы и их модельных купажируемых систем в зависимости от соотношения (0–30–50–70–100 %) и порядка смешивания компонентов.

Исследование оптических показателей преломления (n_D) и йодного числа (ИЧ) проводилось на цифровом рефрактометре Abbemat WR/MW (Anton Paar, Австрия) при длине волны 589,3 нм («Центр диагностики функциональных материалов для медицины, фармакологии и нанoeлектроники», Научный парк СПбГУ). Для твердых и мягких животных жиров разной природы и их купажей были получены температурные зависимости $n_D = f(T, ^\circ\text{C})$ в последовательных процессах плавление–охлаждение в интервале 20–70 $^\circ\text{C}$ с шагом 2,5–5,0 $^\circ\text{C}$. В результате было выявлено наличие гистерезиса, площадь которого определялась природой, соотношением и порядком смешивания компонентов, и возрастала с увеличением температуры плавления образца. Проведенные исследования показали, что траектория начального участка, общий характер кривых плавления и площадь гистерезиса при охлаждении животных жиров предопределяется их консистенцией, йодным числом и температурой плавления, в связи с чем на зависимостях $n_D = f(T, ^\circ\text{C})$ наблюдаются 1–2 изгиба, характеризующих точки плавления α и β_1 кристаллических полиморфных форм. Кривые охлаждения при температурах ниже точки плавления высокотемпературной β_1 -модификации обычно проходят ниже кривых плавления и имеют один изгиб, отражающий точку плавления низкотемпературной кристаллической α -модификации. На температурных зависимостях жидких жиров и масел гистерезис отсутствовал. Обе зависимости плавление–охлаждение для животных жиров при температурах выше точки плавления β_1 -формы (40–45 $^\circ\text{C}$) имеют совпадающие линейные участки, отражая структурную однородность жидкокристаллической фазы.

Отмечено, что изменение порядка смешивания жиров приводит к изменению точки плавления полиморфной α -модификации по отношению к исходным компонентам, что говорит об их заметной структурной перестройке в составе смешанной системы. На оптические свойства животных жиров и их купажей существенное влияние оказывает не только состав ингредиентов, их соотношение и порядок смешивания, но и скорость процесса охлаждения. Кратные связи в структуре жирных кислот, возникшие при плавлении жира в результате процесса десатурации, не успевают вновь трансформироваться в одиночные при быстром охлаждении, обеспечивая системе более высокие показатели йодного числа, что заметно модифицирует оптические и биохимические свойства системы.

Для исследования колебательных спектров использовался Фурье-спектрометр Tensor 37 (Bruker, Германия) с алмазным НПВО-элементом (диапазон частот 4000–600 cm^{-1}). Поскольку ИК-спектры жиров, как и растительных масел, практически накладываются друг на друга, анализ и интерпретацию проводили по увеличенным фрагментам наиболее информативных полос, отвечающим валентным колебаниям С=С-связей (1653 cm^{-1}), валентным и деформационным колебаниям =СН-групп при двойной связи – 3008 и 722 cm^{-1} , соответственно. А также по полосам, характеризующим асимметричные и симметричные (2923 и 2854 cm^{-1}) колебания СН₂-группировок и колебания С–О-связи (1160 cm^{-1}). Полученные данные по структуре, форме, положению и поведению полос для различной природы индивидуального жира, его концентрации и порядка введения в купаж, позволяют говорить о спектральных проявлениях, обусловленных не только природными, стерическими и энергетическими факторами, но структурой самих триглицеридов, а также процессами десатурации, спонтанно меняющих структуру не только триглицеридов, но и формирующихся на их основе новых ассоциатов, агрегатов, комплексов.

Фрагменты спектров в области поглощения кратных С=С-связей показывают влияние на спектральные характеристики порядка смешивания свиного и говяжьего жиров при варьировании их соотношения в составе купажа. Форма одиночных полос, их положение и интенсивность для купажей говяжьей–свиной жиры, существенно отличающиеся от дублетной формы полос обоих исходных жиров, бесспорно, говорят о более значимой структурной трансформации компонентов в их составе, происходящей по иной схеме и с участием иных механизмов. Анализ фрагментов спектров других функциональных группировок для обеих рассматриваемых серий купажей свиного и говяжьего жиров подтверждает наблюдаемое явление. Полученные данные позволяют говорить, что при всех прочих равных условиях эксперимента подобный эффект могут оказывать именно различия в устройстве самих молекул триглицеридов этой пары жиров – прямо противоположном местоположении в их структуре насыщенных и ненасыщенных кислот. Что также позволяет приблизиться к пониманию природы и ее идеи различных механизмов структурных преобразований триглицеридов и их ассоциатов в модельных купажируемых системах.

ТРОМБИРОВАНИЕ В РАЗВЕТВЛЁННЫХ СОСУДИСТЫХ СЕТЯХ, ВЫЗЫВАЕМОЕ АКТИВИРОВАННЫМИ ТРОМБОЦИТАМИ

THROMBOSIS IN BRANCHED VASCULAR NETWORKS CAUSED BY ACTIVATED PLATELETS

Пономарев И.А.^{1,2}, Злобина К.Е.¹, Гурия Г.Т.^{1,2}

¹ ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр гематологии МЗ РФ, Москва

² НИУ Московский физико-технический институт, Долгопрудный, ilya.ponomarev@phystech.edu

Активация процессов свёртывания крови в крупных артериях часто сопровождается тромбированием дистально расположенных элементов сосудистых сетей [1]. При больших сдвиговых напряжениях ведущую роль в регуляции агрегатного состояния крови играет тромбоцитарное звено гемостаза [2]. Наиболее сильно тромбоциты активируются в зонах наибольшего стенозирования сосудов. В настоящей работе исследуются системные тромботические осложнения, вызванные активацией тромбоцитов в зонах интенсивных сдвиговых течений.

Разработана математическая модель свертывания крови в разветвленных сосудистых сетях. Каждый сосуд описывается в одномерном приближении. Процессы тромбообразования описываются в рамках предложенного ранее подхода [3], дополненного уравнениями для описания активированных тромбоцитов. Движение крови описывается модифицированными уравнениями Навье-Стокса. Рассматриваются идеализированные разветвленные сосудистые сети, состоящие из симметричных и несимметричных ветвящихся элементов.

Формирование тромбов в сосудистой сети проявляется в виде увеличения гидродинамического сопротивления. В некоторых случаях сопротивление растёт неограниченно, что означает полное тромбирование (окклюзию) сосуда. Построенная модель позволяет следить за тем, как распределение потоков в сети зависит от количества активированных тромбоцитов. Исследована временная динамика роста гидравлического сопротивления в ходе развития процессов тромбообразования.

Работа была выполнена с использованием оборудования центра коллективного пользования «Комплекс моделирования и обработки данных исследовательских установок мега-класса» НИЦ «Курчатовский институт» (субсидия Минобрнауки, идентификатор работ RFMEFI62117X0016), <http://ckp.nrcki.ru/>.

Работа была поддержана из средств гранта Российского Научного Фонда, проект № 19-11-00260.

1. Rukhlenko O. S. et al. Mathematical modeling of intravascular blood coagulation under wall shear stress //PloS one. – 2015. – vol. 10. – №. 7. – p. e0134028.
2. Zlobina K. E., Guria G. T. Platelet activation risk index as a prognostic thrombosis indicator //Scientific reports. – 2016. – vol. 6. – p. 30508.
3. Guria G.Th., Herrero M.A., Zlobina K.E. A mathematical model of blood coagulation induced by activation sources //Discrete and Continuous Dynamical Systems. Series A. 2009; 25(1):175-194.

РАСПОЗНАВАНИЕ ПАТОГЕНОВ Т-ЛИМФОЦИТОМ НОСИТ НУКЛЕАЦИОННЫЙ ХАРАКТЕР

RECOGNITION OF PATHOGENS BY T-CELLS HAS A NUCLEATION CHARACTER

Приходько И.В.^{1,2}, Гурия Г.Т.^{1,2}

¹ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр гематологии МЗ РФ, Москва

²НИУ Московский физико-технический институт, Долгопрудный
ivan.prikhodko@phystech.edu

В течение жизненного цикла Т-лимфоциты претерпевают несколько качественных изменений, каждое из которых требует сигнала от Т-клеточных рецепторов [1]. Экспериментально точно установлено, что для эффективного акцептирования сигнала, Т-клеточным рецепторам необходимо образовать крупный, то есть состоящий из порядка сотни рецепторов, кластер [2].

В настоящей работе процесс образования кластеров из отдельных Т-клеточных рецепторов рассматривается как сильно неравновесный фазовый переход I-ого рода. При этом образование нуклеационной заправки даёт толчок к формированию макроскопического кластера Т-клеточных рецепторов. В рамках классической теории нуклеации была получена зависимость характерного времени образования докритического кластера [3]. При выводе этой зависимости предполагалась термализация формы кластера, то есть обладающая минимальной энергией цилиндрическая форма кластера на всех этапах докритического роста. При образовании же кластеров Т-клеточных рецепторов, характерное время термализации формы значительно превышает характерное время существования докритических кластеров. То есть условие термализации не выполняется. При помощи численной модели было показано, что динамика таких нетермализованных кластеров

определяется энтропией вычисляемой на основе графа связей рецепторов в кластере.

Таким образом, путём соотнесения нетермализованных кластеров к их термализованным аналогам с той же энтропией удалось получить зависимость вероятности проведения сигнала Т-клеточных рецепторов от характеристик лигандов. Используя эту зависимость, удалось трактовать ряд экспериментальных и некоторых клинических наблюдений.

Работа была поддержана Российским научным фондом (грант №19-11-00260).

1. Cho J. H., Sprent J. TCR tuning of T cell subsets //Immunological reviews. – 2018. – vol. 283. – no. 1. – pp. 129-137.
2. Pagon S. V. et al. Functional role of T-cell receptor nanoclusters in signal initiation and antigen discrimination //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2016. – vol. 113. – no. 37. – pp. E5454-E5463.
3. Frolov V. A. J. et al. “Entropic traps” in the kinetics of phase separation in multicomponent membranes stabilize nanodomains //Biophysical journal. – 2006. – vol. 91. – no. 1. – pp. 189-205.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОБОЛОЧКАХ ВИРУСОВ, ВЫЗВАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЕМ pH pH-INDUCED MORPHOLOGICAL CHANGES OF VIRAL SHELLS

Рошаль Д.С.¹, Коневцова О.В.¹, Lošdorfer Božič A.², Podgornik R.², Рошаль С.Б.¹

¹Физический факультет Южный Федеральный Университет, Ростов-на-Дону, Россия, rochal.d@yandex.ru

²Department of Theoretical Physics, Jožef Stefan Institute, SI-1000 Ljubljana, Slovenia

Вирусы являются удивительными биологическими объектами, лишенными собственного метаболизма и нуждающимися в клетках-жертвах для реализации большинства жизненных функций. Важную роль в транспортировке вирусного генома к подходящей клетке и его защите в агрессивной окружающей среде играет вирусная оболочка (капсид). Понимание физико-химических явлений, происходящих с вирусами (и их капсидами) во время их созревания, чрезвычайно важно, поскольку только зрелый вирус способен заражать живые клетки.

Недавно стало известно, что конформационные изменения, которые происходят в процессе созревания оболочки бактериофага НК97 *in vivo*, могут быть воспроизведены *in vitro*, если незрелый, незаполненный геномом прокапсид вируса помещается в среду со специфическим образом изменяющимся уровнем кислотности pH. Цель данной работы – с помощью теоретической модели объяснить, как изменяющиеся вследствие изменений pH электростатические силы, действующие между поляризованными белками, приводят к морфологическим изменениям, наблюдаемым при созревании бактериофага НК97.

В докладе будет рассмотрена простая электромеханическая модель, объясняющая перестройку вирусных оболочек *in vitro* при изменении pH окружающего раствора. При решении данной задачи были использованы методы теории симметрии [1, 2], теории упругости тонких икосаэдрических оболочек и последние исследования зависимости распределения заряда в белковых молекулах вирусных оболочек от кислотности окружающего раствора [3]. Форма оболочек получается путем минимизации полной электромеханической свободной энергии и зависит от распределения заряда, управляемого изменением кислотности окружающей среды.

Как известно, вариации pH могут приводить к значительному изменению распределения заряда белковых молекул вирусной оболочки [3]. В предложенной модели [4], для каждой белковой молекулы это непрерывное распределение заменяется суммарным положительным и отрицательным зарядом, координаты и величины которых зависят от уровня pH, и, следовательно, могут влиять на огранку и размер оболочки. В качестве объекта для применения модели мы выбрали капсид бактериофага НК97, поскольку стадии его созревания хорошо структурно изучены, а сам вирус имеет большое число различных биомедицинских применений. Конфигурации распределений заряда были рассчитаны непосредственно из имеющихся подробных структурных данных для состояний капсида при различных кислотностях раствора, в то время как механическая часть модели была основана на методе конечных упругих элементов. Используя предложенный подход, мы смоделировали обратимый структурный переход, который происходит между состояниями Prohead II и Expansion Intermediate II бактериофага НК97 при изменении кислотности.

В дальнейшем мы планируем рассмотреть, как изменения кислотности и солёности влияют на самосборку некоторых бионаноструктур и композитных нанообъектов, в частности на адсорбцию белковых и/или пептидных молекул на поверхности углеродных наноматериалов, поскольку адсорбция в данном случае может контролироваться уровнем pH среды.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-29-19043 мк.

1. Roshal D. S., et al. // Phys. Rev. E. 2016. Vol. 94. P. 052605.
2. Rochal S. B. et al. // Nanoscale 2018. Vol. 10. P.758-764.
3. Lošdorfer Božič A., Podgornik R. // Biophys. J. 2017. Vol. 113. P. 1454–1465.
4. Roshal D. et al. // Scientific Reports 2019. Vol. 9. P. 5341.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТОПОЛОГИИ И МОДЕЛИРОВАНИЕ СФЕРИЧЕСКИХ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ МОНОСЛОЕВ**TOPOLOGICAL INVESTIGATION AND MODELING OF SPHERICAL EPITHELIAL MONOLAYERS***Рошаль Д.С.¹, Azzag K.², Le Goff E.², Рошаль С.Б.¹, Baghdiguian S.²*¹Физический факультет Южный Федеральный Университет, Ростов-на-Дону, Россия, rochal.d@yandex.ru²ISEM, Univ. Montpellier, CNRS, EPHE, IRD, Montpellier, 34095 France.

Сферические эпителиальные монослои (СЭМ) представляют собой интересную модельную систему для изучения локально-периодической упаковки живых клеток, формирующих однослойную сферическую оболочку. Внутренние фолликулярные клетки, окружающие ооциты асцидий (морских организмов), образуют эпителиальный монослой, возникающий в результате аккреционного процесса (без митоза или апоптоза). Этот эпителий часто используется для исследований процессов морфогенеза.

Как и многие другие микрообъекты со сферической топологией, такие как сферические коллоидные кристаллы [1-4], вирусы [4, 5], фуллерены, СЭМ демонстрируют локально-гексагональную упаковку структурных единиц. На большей части поверхности СЭМ большинство клеток имеет по 6 соседей, однако также присутствуют клетки с числом соседей m , отличным от 6. С точки зрения математики такие клетки являются топологическими дефектами, топологический заряд которых определяется как $q=6-m$. Некоторое число топологических дефектов в сферических упаковках обязательно индуцируются Гауссовой кривизной их поверхности. На первый взгляд, упаковка клеток в эпителиальных монослоях выглядит аналогично упаковке коллоидных частиц, наблюдаемой в сферических коллоидных кристаллах. Однако, на основе исследования 140 образцов СЭМ *Ciona intestinalis*, *Molgula citrina*, *Asciidiella aspersa*, *Styela clava*, *Styela plicata*, *Ascidia mentula* и *Molgula* sp. мы показываем, что данные клеточные структуры демонстрируют большую топологическую дефектность, которую мы предлагаем рассчитывать как суммарный отрицательный топологический заряд видимой полусферы эпителиального монослоя.

Для объяснения большей дефектности эпителиальных монослоев и моделирования их структуры нами была предложена модель, согласно которой большая дефектность СЭМ в основном объясняется неоднородностью размеров клеток. В предложенной модели самосборка локально гексагонального сферического порядка осуществляется из немного разных структурных единиц - частиц с размерами, которые подчиняются распределению Гаусса. Они удерживаются на сферической поверхности и взаимодействуют друг с другом (отталкиваются) со следующей эффективной энергией взаимодействия:

$$U = \sum_{i>j}^N \frac{s_i+s_j}{r_{ij}}^{12}, \quad (1)$$

где N – число частиц, s_i - эффективный радиус i -ой частицы, r_{ij} - расстояние между i -ой и j -ой частицами. Для получения моделей упаковок СЭМ энергия (1) минимизируется по координатам частиц при условии, что частицы удерживаются на сфере. С помощью предложенной модели было впервые объяснено и проанализировано появление в СЭМ протяженных топологических дефектов (ПТД). Было объяснено появление как линейных ПТД в виде цепочек клеток с 5-ю и 7-ю соседями, называемых рубцами, так и более сложных нелинейных дефектов.

Помимо использования СЭМ в качестве новой биофизической модели для обобщения проблем теории сферических упаковок, мы демонстрируем, что различные дефекты в эпителиальных структурах могут проявляться как адаптивный пластический ответ на ограничения, накладываемые сферической упаковкой гетерогенных клеток. Действительно, некоторая степень несовершенства может помочь, например, поддерживать функцию непроницаемости и репаративного потенциала эпителия на протяжении всего морфогенетического процесса, что способствует терминальной дифференцировке ооцитов.

Работа выполнена при поддержке стипендии президента РФ № СП-1690.2019.4.

1. Roshal D.S., Petrov K.Yu., Myasnikova A.E., and Rochal S.B., Extended topological defects as sources and outlets of dislocations in spherical hexagonal crystals // *Phys. Lett. A*. 2014. Vol. 378. №. 21. P. 1548-1552.
2. Roshal D. S., Myasnikova A. E., Rochal S. B. Slightly broken icosahedral symmetry advances Thomson problem // *Phys. Lett. A*. 2015. Vol. 379. №. 4. P. 372-376.
3. Roshal D. S., Myasnikova A. E., Rochal S. B. Relaxation of interstitials in spherical colloidal crystals // *Physica E*. 2016. Vol. 75, P. 295-301.
4. Roshal D. S., et al. Assembly of the most topologically regular two-dimensional micro and nanocrystals with spherical, conical, and tubular shapes // *Phys. Rev. E*. 2016. Vol. 94, P. 052605.
5. Rochal S. B. et al. Commensurability between protein nanotubes in contractile ejection nanomachines // *Nanoscale* 2018. Vol. 10. P. 758-764.

СКРЫТАЯ СИММЕТРИЯ ВИРУСНОЙ ОБОЛОЧКИ BLUETONGUE И НЕКОТОРЫЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЗАРАЖЕНИЯ КЛЕТОК ЭТИМ ВИРУСОМ**HIDDEN SYMMETRY OF THE BLUETONGUE VIRAL SHELL AND SOME PHYSICOCHEMICAL PECULIARITIES OF CELL INFECTION BY THIS VIRUS***Коневцова О.В.¹, Рошаль Д.С.¹, Lošdorfer Božič A.², Podgornik R.², Рошаль С.Б.¹*¹Физический факультет Южный Федеральный Университет, Ростов-на-Дону, Россия, rochal_s@yahoo.fr²Department of Theoretical Physics, Jožef Stefan Institute, SI-1000 Ljubljana, Slovenia

Вирусные оболочки (капсиды) с одной стороны транспортируют вирусный геном к подходящей для заражения клетке, а с другой - способствуют ее заражению. Поэтому понимание принципов расположения и самосборки белков в этих высокоупорядоченных структурах очень важно для разработки новых противовирусных стратегий. В докладе будут рассмотрены скрытая симметрия и особенности устройства аномального капсида вируса BlueTongue (BTV) [1]. Каждый из его трех концентрических белковых слоев нарушает парадигматическую геометрическую модель Каспара и Клуга [2], основанную на переносе на поверхность икосаэдра плоской гексагональной решетки, вокруг узлов которой лежат белковые гексамеры. Развивая предложенную ранее теорию скрытой симметрии вирусных оболочек [3-5] мы показываем, что в основе трех белковых оболочек капсида BTV лежат три икосаэдрические сферические решетки, соразмерные друг с другом и характеризующиеся локально гексагональным (примитивным или сотовым) порядком. С учетом определенных симметричных ограничений, узлы внутренней сферической решетки в капсиде занимают отдельные белковыми молекулами, тогда как в двух других решетках (средней и внешней), они заполнены тримерами. Установленная закономерность устройства смежных сферических слоев аналогична наилучшему (наиболее плотному) сопряжению различных последовательных плоских гексагональных решеток: если первый слой структурных элементов образует примитивную гексагональную решетку, то элементы второго слоя занимают позиции над центрами треугольных ячеек первого слоя и образуют сотовую решетку с той же трансляционной симметрией. И наоборот, элементы следующего слоя над сотовой упаковкой, располагаются над центрами гексагональных ячеек, образуя примитивную решетку, опять же с исходной трансляционной симметрией.

Предложенная интерпретация многослойной оболочки BTV позволяет нам дать ответ на один из часто обсуждаемых вопросов, связанных с так называемым «несоответствием симметрии» между слоями этого и подобных капсидов. Как мы показываем, смежные оболочки в многослойных капсидах являются скорее соразмерными и построенными на схожих геометрических принципах. Развиваемая нами модель не является чисто симметричной и геометрической. Устойчивость различных сферических решеток, используемых в нашем подходе, также анализируется в рамках классической теории сферических упаковок [6], порождаемых различными парными потенциалами отталкивания между частицами. В некотором смысле мы также обобщаем эту теорию, поскольку в дополнение к однослойным упаковкам, мы обсуждаем упорядочение отталкивающих частиц, удерживаемых на смежных сферических оболочках двухслойной упаковки.

Высокая восприимчивость биофизических систем, находящихся вблизи точки неустойчивости, к изменению внешних параметров часто используется природой для контроля и регулирования различных процессов. Внешняя (третья) оболочка капсида BTV близка к потере устойчивости, и это необходимо для функционирования механизма заражения, используемого рассматриваемым вирусом. Физико-химический анализ величин и взаимодействий между зарядами капсидных белков, которые определяются кислотностью среды [7], позволяет утверждать, что при снижении кислотности с pH=6.5 до 6 электростатическое отталкивание между тримерами VP2 и остальной частью капсида существенно увеличивается. По нашему мнению, этот рост отталкивания, обусловленный изменением кислотности, и способствует отделению VP2 тримеров, которое происходит в процессе заражения клетки вирусом BTV [8].

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-02-00549 А.

1. Roy P. Bluetongue virus structure and assembly // *Current Opinion in Virology* 2017. Vol. 24. P. 115.
2. Caspar D. L. D. and Klug A. Physical principles in the construction of regular viruses // *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 1962. Vol. 27. P. 1.
3. Rochal S. B. et al. Hidden symmetry of small spherical viruses and organization principles in "anomalous" and double-shelled capsid nanoassemblies // *Nanoscale* 2016. Vol. 8. P. 16976.
4. Rochal S. B. et al. Static and dynamic hidden symmetries of icosahedral viral capsids // *Nanoscale* 2017. Vol. 9. P. 12449.
5. Rochal S. B. et al. Commensurability between protein nanotubes in contractile ejection nanomachines // *Nanoscale* 2018. Vol. 10. P.758-764.
6. Conway J.H., Sloane N.J.A. *Sphere Packings, Lattices and Groups*. Springer-Verlag New York, 1988.
7. Roshal D. et al. pH-induced morphological changes of proteinaceous viral shells // *Scientific Reports* 2019. Vol. 9. P. 5341.
8. Zhang X. et al. Atomic model of a non-enveloped virus reveals pH sensors for a coordinated process of cell entry // *Nat Struct Mol Biol.* 2016. Vol. 23. P. 74.

НЕЙРОТРАНСМИТТЕРЫ (БИОМЕДИАТОРЫ) В РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКЕ NEUROTRANSMITTERS (BIOMEDIATORS) IN PLANT CELL

Рощина В. В.

ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биофизики клетки, 142290, Пущино, Московская обл.
e-mail: roshchinavic@mail.ru

В первой монографии о нейротрансмиттерных соединениях в растениях, обобщившей вначале на русском, а потом на английском языке основную информацию до 2001 года [1,2], уже обсуждалась их роль в сигнальных процессах. Спустя 18 лет сформировались новые направления исследований сигнализации с участием нейротрансмиттеров, причем особенный интерес проявлен к соединениям, которые могут быть эффективными природными лекарствами. Эти исследования привлекли внимание медиков, фармацевтов, диетологов и токсикологов, поскольку присутствие нейротрансмиттеров в пище позволяет регулировать здоровье человека естественным путем, оказывая влияние на память, развитие и общий метаболизм.

В настоящее время по многим данным стало ясно, что ацетилхолин и биогенные амины появились у растений и микроорганизмов в ходе эволюции задолго до нервной системы животных [3,4]. Присутствие нейротрансмиттерных соединений в любых клетках различных царств организмов дало основание называть их биомедиаторами или биотрансмиттерами. Хотя ради понимания широкой аудиторией биологов мы обычно сохраняем известное название “нейротрансмиттеры/нейромедиаторы”.

В данном сообщении представлены обобщенные данные о сигнализации на клеточном уровне с помощью соединений, ранее известных как нейромедиаторы (ацетилхолин, дофамин, норадреналин, адреналин, серотонин и гистамин, а также гамма-аминомасляная кислота, мелатонин и глютамин) в различных контактах между клетками растений и между органеллами внутри клеток, а также между растениями и другими живыми организмами. Уделено внимание метаболической сигнализации и регуляции нейротрансмиттерами развития клеток и их адаптации при стрессе

Внешняя сигнализация (межклеточная сигнализация) осуществляется с помощью нейротрансмиттеров и ферментов их метаболизма, которые экскретируются из любых клеток – от растительной клетки того же вида или других видов растений, а также животных или микроорганизмов. Существование подобных связей между царствами организмов в клеточной биологии поддерживали исследователи традиционных областей для физиологов животных, кто изучал ненервные функции этих соединений. Внутриклеточная сигнализация в растительной клетке включает передачу внешнего сигнала нейротрансмиттера, полученного рецептором плазматической мембраны, внутрь клетки с помощью электрического сигнала, вторичных мессенджеров, сократительных или везикулярных систем, а также прямое влияние на органеллы внутриклеточных нейротрансмиттеров как внутриклеточных регуляторов.

Недавно вышла коллективная монография, где рассмотрены перспективы дальнейшего изучения их роли у растений и различные приложения, касающиеся взаимодействия с микробами и животными [5]. Возникла необходимость оценить возможности дальнейших исследований сигнальных процессов в растительной клетке и рассмотреть новые проблемы, гипотезы и подходы, а также связи с общими представлениями о сигнализации у млекопитающих и микроорганизмов. Особое внимание в будущем следует уделить намечающейся аналогии сигнальных путей на клеточном уровне у всех живых организмов. Именно такое сходство приводит к необходимости анализировать взаимоотношения в биоценозе, где растениям уделена важнейшая роль как природным продуцентам нейротрансмиттерных лекарственных веществ, а также как индикаторам стресса.

1. Рощина В.В. Биомедиаторы в Растениях. Ацетилхолин и Биогенные амины. Пущино: Биологический Центр РАН. 1991. 193 pp.
2. Roshchina V.V. Neurotransmitters in Plant Life. Enfield, Plymouth: Science Publ. 2001.280 pp.
3. Roshchina V.V. Evolutionary considerations of neurotransmitters in microbial, plant and animal cells //In: Microbial Endocrinology: Interkingdom Signaling in Infectious Disease and Health. Eds Lyte M., Freestone P.P.E. New York: Springer, 2010.P. 17.
4. Roshchina V.V. New tendency and perspectives in evolutionary considerations of neurotransmitters in microbial, plant, and animal cells //Advances Exper Med Biol, 2016. Vol. 874. P. 25.
5. Ramakrishna A., Roshchina V.V. Eds. Neurotransmitters in Plants. Perspectives and Applications. Boca Raton: CRC Press. 2019. 430 pp.

**ФРАКТАЛЬНАЯ СЛОЖНОСТЬ ХАОТИЧЕСКИХ РИТМОВ ЭЭГ-СИГНАЛОВ РЕАЛЬНЫХ И
ВООБРАЖАЕМЫХ ДВИЖЕНИЙ РУК****FRactal complexity of the chaotic rhythms of EEG signals of real and
imagined movements of the hands***Русанова И.А.*

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, E-mail: itusanova@yandex.ru

В настоящее время большое внимание уделяется разработке и применению в области современных нейротехнологий интерфейсов "мозг-компьютер" (ИМК), способных обеспечить человеку коммуникацию с внешними электронными и электронно-механическими устройствами без использования периферических нервов и мышц, например, на основе регистрации электрической активности головного мозга [1-4]. Осуществляется распознавание различных паттернов сигналов электроэнцефалограмм (ЭЭГ), преобразующиеся затем в команды управления механической части ИМК. Разработки интерфейса ИМК на основе ЭЭГ, магнитоэнцефалографии, функциональной магнитно-резонансной томографии, электрокортикографии, импульсной активности нейронов, распределения и интенсивности кровотока в мозге и т.п., ведутся исследовательскими группами по всему миру [5,6]. Однако, ни одна из моделей ИМК не получила на данный момент широкого применения в клинике, где необходимы соблюдение требований к безопасности пациента (неинвазивность), простота устройства и относительная дешевизна технологии. Одним из многообещающих в данном случае подходов является использование ИМК на базе ЭЭГ воображаемых движений [7,8].

В многочисленных исследованиях продемонстрировано, что доминирующий в спектре ЭЭГ альфа-ритм (основной компонент фоновой электрической активности здорового бодрствующего мозга человека) обладает фрактальной размерностью [9,10]. Изменение размерности ритмов ЭЭГ показал широкий спектр и странный аттрактор в фазовом пространстве. Также, все системы здорового мозга, являющиеся источниками ЭЭГ-сигналов, а также активность отдельных нейронов и нейронных сетей в норме проявляют хаотическое поведение [11,12]. Присущая нейроактивности коры мозга хаотическая фрактальная динамика ЭЭГ-сигналов свидетельствует о его нормальном функционировании, тогда как избыточно упорядоченный режим свидетельствует о присутствии патологии [13]. При движении или подготовке к выполнению двигательной функции, в процессе активации соответствующих моторных или сенсорных участков коры, наблюдается спад их интенсивности, что приводит к десинхронизации ритма [14]. Основной задачей ИМК является корректное распознавание состояний десинхронизации и синхронизации ритмов. Воображаемые движения о физических упражнениях способны замедлить или даже остановить атрофию мышц, так как мысленные мышечные упражнения влияют на нервно-мышечные проводящие пути, что важно для людей с ограниченной подвижностью. Технику визуализации используют также профессиональные спортсмены для улучшения показателей. Такие ИМК необходимы для реабилитации пациентов с нарушениями в двигательной сфере, но могут использоваться и здоровыми людьми для управления вспомогательными устройствами: экзоскелетами, протезами конечностей, электростимуляторами мышц и т.д. Актуальной проблемой является выбор методов обработки сигналов ЭЭГ с целью классификации ЭЭГ-паттернов реальных и воображаемых движений рукою [15,16].

В данной работе были исследованы сигналы ЭЭГ, которые регистрировались у здорового испытуемого (мужчина в возрасте 21 год). Регистрация сигналов коры головного мозга осуществлялась при помощи 19 сенсоров с частотой дискретизации 500 Гц [17]. Во время снятия сигналов ЭЭГ испытуемый не контролировал свое дыхание или глотание. Запись сигналов производилась с закрытыми глазами. Переход от одного вида движения к другому осуществлялся аудио сигналом «перейти». Эксперимент включал следующие серии испытаний: три последовательных движения левой рукой вперед (назад) по 3008 точек, правой рукой вперед (назад); воображаемые направленные движения рукой (правой, левой) по 7040 точек, случайные непрерывные движения руками (правой, левой). Полученные сигналы были исследованы на фрактальность, согласно идеям фрактальной геометрии Б. Мандельброта и с применением ранее разработанного формализма [20-23]. Самоорганизация как способность к формированию разнообразных пространственно-временных паттернов проявляется по-разному при выполнении моторных функций руками (ногами). Выполнение первого движения по-разному «запускает» усиление «регуляторных» возможностей мозга при выборе исполнительной руки в действии и направления ее функционирования. Так, для левой руки первое выполняемое движение «назад» показывает наибольшую фрактальную размерность для всей коры, кроме лево и правозатылочной областей, с уменьшением по величине при повторных движениях, особенно в левовисочной области. При выполнении движения «вперед» левой рукой, фрактальная размерность достигает наибольших значений для большинства областей мозга во время выполнения второго движения. Следует отметить, что в левовисочной области формируется пространственно-временной паттерн, характеризуемый наименьшей фрактальной размерностью нейроактивности мозга при движении левой рукой (назад, вперед), и наибольшей при выполнении движений правой рукой. Фрактальная размерность нейроактивности коры для правой руки достигает максимального значения при выполнении третьего направленного движения как назад, так и вперед для всех областей, кроме лобной части. Повторное выполнение реальных движений руками должно постепенно приводить к некоторому эффекту торможения нейроактивности большинства задействованных областей головного мозга, однако

данный эффект не проявляется для правой руки, что может быть связано с тем, что испытуемый праворукий. В то же время, выполнение воображаемых движений для обеих рук (назад, вперед) обладает общей направленностью активации соответствующих моторных участков коры, с характерным уменьшением фрактальной размерности D в левой и правой височной областях и ростом в лобной, теменной и затылочной областях. Фрактальный анализ ЭЭГ-сигналов позволил выявить присутствие одинакового мультимасштабного эффекта, связанного с тем, что воображаемые движения рук активизируют те же области головного мозга, как и реально выполняемые движения. Для случайных движений руками как правой, так и левой формируется подобный пространственно-временной паттерн нейроактивности мозга, с наиболее значительным ростом фрактальной размерности D для правой руки. Показана чувствительность фрактальной геометрии к выявлению изменений нейронной активности от возрастания до уменьшения на различных временных интервалах выполнения движений руками. Это может быть связано с тем, что на раннем временном этапе происходит поиск нового паттерна активности, и после его нахождения активность сенсомоторных ритмов уменьшается. Такие процессы не всегда соответствует критерию нелинейного хаоса, при котором воздействие некоторого «шума» сопровождается ростом упорядоченности, сопровождаемого эффектом «торможения» при длительном выполнении однотипных движений. Представленные результаты формирования пространственно-временных паттернов фрактальной размерности D позволяют провести предварительную диагностику функциональной активности двигательного аппарата и нейроактивности областей головного мозга.

1. Wolpaw J.R. et al. Brain-computer interface for communication and control // *Clinical Neurophysiology*. 2002. Vol. 113. P. 767–791.
2. Zander T.O., Kothe C. Towards passive brain–computer interfaces: applying brain–computer interface technology to human–machine systems in general // *Journal of Neural Engineering*. 2011. Vol. 8. № 2. P. 025005.
3. Khan M.J. et al. Decoding of four movement directions using hybrid NIRS-EEG brain-computer interface // *Frontiers in Human neuroscience*. 2014. Vol. 8. DOI:10.3389/fnhum.2014.00244.
4. Ma J. et al. A novel EOG/EEG hybrid human–machine interface adopting eye movements and ERPs: application to robot control // in *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. 2015. Vol. 62(3). P. 876-889.
5. Lotte F. et al. Review of classification algorithms for EEG-based brain-computer interfaces // *Journal of Neural Engineering*. 2007. Vol.4. P. 1–24.
6. Blankertz B. et al. Berlin braincomputer interface: non-medical uses of BCI technology // *Frontiers in neuroscience*. 2010. Vol. 4(198). P. 17.
7. Kaiser V. et al. First steps toward a motor imagery based stroke BCI: new strategy to set up a classifier // *Frontiers in Neuroscience*. 2011. Vol. 5(86). P. 10.
8. Morash V. et al. Classifying EEG signals preceding right hand, left hand, tongue, and right foot movements and motor imageries // *Clinical Neurophysiology*. 2008. Vol. 119. P. 2570.
9. Bass, G. Nonlinear Man. Chaos, fractal and homeostatic interplay in human physiology / G. Bass. 1997. available on-line at [http://www.tonleenders.nl/Pdf/chaos_and_man.PDF].
10. Lehnertz K. Non-linear time series analysis of intracranial EEG recordings in patient with epilepsy — an overview // *Int. J. Psychophysiol*. 1999. Vol. 34. P. 45-52.
11. Korn H., Faure P. Is there chaos in the brain? II. Experimental evidence and related models // *C.R. Biologies*. 2003. Vol.326(9). P. 787-840.
12. Izhikevich, E. M. *Dynamical Systems in Neuroscience. The Geometry of Excitability and Bursting*. The MIT Press: Cambridge, Massachusetts. 2007.
13. Goldberger A.L. et. Al. Fractal dynamics in physiology: Alterations with disease and aging// *Proc.Natl. Acad. Sci. USA (PNAS)*. 2002. 99 (Suppl 1). P. 2466-2472.
14. Dornhege G., Millan J.R., Hinterberger T. *Toward brain-computer interfacing*. A Bradford book, The MIT Press. Cambridge. 2007.
15. Sonkin K.M. et al. Classification of EEG patterns of imaginary and real movements of the fingers of one hand the method of support vector machines // *Pacific Journal of Medicine*. 2014. №2. P. 30-35.
16. Sotnikov, P.I. Review methods of EEG signal processing in the brain-computer interface // *Electronic Scientific Engineering and Technical Journal Gazette*. 2014. №10. url: <http://engbul.bmstu.ru/doc/739934.html>
17. Brain Computer Interface research at NUST Pakistan, Research carried out at National University of Sciences and Technology). url: <https://sites.google.com/site/projectbci/>
20. Feder J. *Fractals*. Plenum Press. New York. 1988.
21. Tayurskii D., Rusanova I. The Fractal Analysis of the Images and Signals in Medical Diagnostics Fractal Analysis // *Applications in Health Sciences and Social Sciences (Dr.Fernando Brambila (Ed.) InTech)*. 2017. chapter 3. P. 57-86.
22. Дёмин С.А., Русанова И.А., Панищев О.Ю. Фрактальные особенности патологической мозговой активности человека при воздействии световыми стимулами / Взаимодействие сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами и биообъектами, Материалы Всероссийской научной школы-семинара. Под редакцией Д.А. Усанова. 2014. Саратов: Издательство "Саратовский источник".
23. Panischev O.Yu., Demin S.A., Rusanova I.A. Studying Properties of Abnormal Human Brain Activity in Photosensitive Epilepsy Caused by Light Stimulation // *Biomedical Engineering*. 2015. Vol. 49. № 4. P. 236-239.

АВТОВОЛНОВАЯ МОДЕЛЬ МОРФОГЕНЕЗА В ПРЕДСТАВЛЕНИИ ТЕОРИИ НЕОДНОРОДНЫХ АКТИВНЫХ СРЕД

AUTOWAVE MODEL OF MORPHOGENESIS IN THE PRESENTATION OF THE THEORY OF INHOMOGENEOUS ACTIVE MEDIA

Семина А.Е., Сидорова А.Э., Левашова Н.Т.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
физический факультет, Москва, Россия, syoanya@yandex.ru

Предложена модель пространственно-временной самоорганизации природно-антропогенных систем как сопряженных активных сред. В основе модели - модифицированное авторами [1] уравнение Фитц-Хью-Нагумо. Обоснованность применения уравнения данного типа определяется относительной простотой системного анализа посредством двух уравнений типа активатор (антропогенные процессы) – ингибитор (природные процессы). В модели рассмотрены два основных фактора, определяющих пространственную неоднородность: распределение населения и наличие барьеров распространения автоволнового фронта активатора (особенности ландшафта, городские биоценозы, социально-экономические факторы) [2]. Получены условия формирования возбудимого/невозбудимого состояния активной среды и начального всплеска автоволны в зависимости от плотности населения и кинетических параметров системы (активатора и ингибитора). А также соответствие определяемого моделью значения безразмерной величины плотности населения в области переходной слоя и на окраинах жилых массивов, что позволило выявить коэффициент пропорциональности между параметрами безразмерной модельной задачи и соответствующими величинами в реальной городской среде.

Модельные расчеты подтверждены данными динамики численности и плотности населения и картографическими данными развития Москвы с 1946 по 1960 гг. Ошибка моделирования составила 5-7%. Предложенная модель апробирована для анализа и прогнозирования развития территории Новой Москвы с 2017 по 2030 годы. Разработана модель пространственно-временной самоорганизации урбозооэкосистем на примере развития Шанхая. Матрицы начальных условий получены на основе картографических данных Шанхая и прилегающих территорий с учетом социально-экономической целесообразности развития, динамики цен на жилье, доли земель для сельского хозяйства и ландшафтных особенностей. Получена прогностическая модель развития Шанхая до 2030 года. Также предложена аналогичная модель автоволновой самоорганизации роста плесени типа *Penicillium Commune*, где в качестве активатора рассмотрена безразмерная величина, пропорциональная «зрелости» гриба, а в качестве ингибитора - доля концентрации глюкозы как основного источника энергии для роста, от концентрации насыщения. Ошибка моделирования составила менее 10%. Важным биофизическим аспектом выполненной работы представляется возможность распространения разрабатываемого подхода на процессы морфогенеза и другие биологические процессы, связанные с пространственно-временным структурообразованием в распределенных активных средах.

1. Сидорова А.Э., Левашова Н.Т., Семина А.Е. Автоволновая модель морфогенеза мегаполисов в представлениях неоднородных активных сред // Известия РАН, серия физическая, 2019, том 83, № 1, с. 106-112
2. Сидорова А.Э., Левашова Н.Т., Мельникова А.А., Семина А.Е. Модель структурообразования урбозооэкосистем как процесс автоволновой самоорганизации в активных средах // Математическая биология и биоинформатика, 2017, том 12, № 1, с. 186-197.

УРАВНЕНИЕ АРРЕНИУСА В АНАЛИЗЕ МЕХАНИЗМА ГЕМОЛИЗА ЭРИТРОЦИТОВ

ARRHENIUS EQUATION IN ANALYSIS OF THE MECHANISM OF ERYTHROCYTE HEMOLYSIS

Соколова Е.М., Нешев Н.И.

ФГБУН ИПХФ РАН, г. Черноголовка, sem89@icp.ac.ru

Как известно в основе многих сложных макроскопических явлений в биологических системах лежат химические реакции. В связи с этим теоретическое описание зависимости скорости химической реакции от температуры, предложенное в конце 19 века Аррениусом, стало использоваться в современной биофизике для анализа сложных процессов в биосистемах [1]. Химический гемолиз эритроцитов можно считать классическим примером сложного макроскопического явления, основу которого составляют как химические, так и биохимические процессы, протекающие внутри клетки. В связи с этим, исследование влияния температуры на скорость гемолиза в рамках формализма Аррениуса может позволить делать определенные выводы относительно механизма гемолиза в том или ином случае.

В качестве гемолитических агентов был выбран известный инициатор пероксидного окисления липидов мембран третбутилгидропероксид (t-BuOOH), вызывающий гемолиз пероксидного типа и биядерный

динитрозильный комплекс железа с тиосульфатными лигандами (ТНК). За ходом гемолиза эритроцитов следили по изменению оптической плотности суспензии при 700 нм [2]. Степень гемолиза суспензии определяли из соотношения:

$$\gamma = \frac{D_0 - D}{D_0 - D_{H_2O}}, \quad (1)$$

где D_0 и D оптические плотности контрольного и опытного образца, соответственно. D_{H_2O} – оптическая плотность образца в условиях полного лизиса всех эритроцитов дистиллированной водой. Экспериментальные значения, характеризующие изменение степени гемолиза во времени, аппроксимировали сигмовидной кривой. В качестве количественной характеристики гемолитической активности эффектора гемолиза использовали время достижения 50 процентной степени гемолиза $t(\gamma_{50})$, которое определяли графически.

Кинетические кривые гемолиза эритроцитов под действием t-BuOON и ТНК были получены при четырех различных температурах. Для построения графиков в координатах Аррениуса в качестве оценки скорости гемолиза использовали величину, обратную времени достижения 50% гемолиза - $1/t(\gamma_{50})$. Полученные оценки скоростей гемолиза для t-BuOON и ТНК линейно зависели от обратной абсолютной температуры.

Как известно, тангенс угла наклона графика Аррениуса характеризует величину энергии активации изучаемой химической реакции. В нашем случае мы условно называем эту характеристику энергией активации гемолиза. Тот факт, что данные гемолитических экспериментов удается представить в аррениусовских координатах, свидетельствует о том, что гемолиз эритроцитов, в обоих случаях имеет химическую природу. При этом наклон графика Аррениуса для t-BuOON в 2,4 раза превышал соответствующий показатель для ТНК. Это могло указывать на то, что в основе гемолиза под действием ТНК и t-BuOON, могут лежать различные химические механизмы. В частности, существенно более низкая энергия активации гемолиза в случае ТНК может указывать на связь гемолитического эффекта ТНК с нарушением работы ферментов. То есть в отличие от пероксидного гемолиза под действием t-BuOON, гемолиз эритроцитов под действием Б-ТНКЖ может иметь в большей степени биохимическую основу.

Как известно в основе пероксидного гемолиза, инициируемого t-BuOON, лежит процесс пероксидного окисления липидов эритроцитарной мембраны, приводящий к нарушению ее барьерных свойств. Общеизвестным маркером пероксидного окисления в мембране считается образование ТБК-реактивных продуктов, главным из которых считается малоновый диальдегид. Анализ образования ТБК-реактивных продуктов в мембранах эритроцитов по методу [3] под действием t-BuOON и ТНК показал характерное для t-BuOON концентрационнозависимое нарастание уровня ТБК-реактивных продуктов на фоне их полного отсутствия в случае ТНК. Это подтверждает различие в механизмах гемолитического действия t-BuOON и ТНК, что согласуется с выводом, сделанным выше на основе анализа механизмов гемолиза по Аррениусу. Как показали дальнейшие исследования, гемолитическое действие ТНК, как донора NO, реализуется через оксидативное повреждение сульфгидрильных центров клетки образующимся из оксида азота пероксинитритом.

Таким образом, полученные результаты показывают эффективность предложенного нами подхода к анализу механизма химического гемолиза эритроцитов с использованием уравнения Аррениуса.

Литература

1. Л. А. Блюмфельд. Проблемы биологической физики. М.: Наука, 1977. 336с
2. Н. И. Нешев, Б.Л. Психа, Е.М. Соколова и др. Изв. АН. Сер. хим. - 2010. – 12. – С. 2160-2163.
3. J. Stocks, T. L. Dormandy. Br. J. Haematol. - 1971. – V. 20. – P. 95-111.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ЧИСЛЕННЫЕ ПОДХОДЫ В МОДЕЛИРОВАНИИ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

ANALYTICAL AND NUMERICAL APPROACHES IN MODELING IMMUNOCHROMATOGRAPHIC ASSAY

Сотников Д.В., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б.

Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва, Россия, e-mail: sotnikov-d-i@mail.ru

Иммунохроматографический анализ основан на движении элюента вдоль мембраны, которое приводит к образованию специфических иммунных комплексов на разных участках мембраны, визуализуемых как окрашенные полосы. Благодаря возможности определения целевых аналитов за 10-15 минут в одну стадию в пробах сложного состава иммунохроматографические системы стали наиболее распространенным средством анализа во внелабораторных условиях. Однако теория функционирования таких систем разработана только для небольшого количества частных случаев. Это связано, прежде всего, со сложностью учета влияния множества факторов на результаты анализа. Существующие модели ограничиваются рассмотрением протекающих в системе процессов в равновесных условиях, что для такого экспрессного метода анализа в большинстве случаев

неправомерно. Учет неравновесности условий протекания реакций требует создания более корректных моделей, в настоящее время отсутствующих.

Целью исследования является создание математических моделей иммунохроматографии для прогнозирования общих закономерностей функционирования аналитических систем данного типа. Для разработки моделей иммунохроматографических систем применялись как численные, так и аналитические (символьные) решения систем дифференциальных уравнений. Проведение численных расчетов осуществляли с помощью программного пакета COPASI.

Для получения аналитических моделей было предложено использовать приближение необратимой реакции. Поскольку иммунохроматографический анализ - экспрессный метод (время анализа 10-15 мин), а иммунное взаимодействие высокоаффинно (равновесие сильно смещено в сторону образования комплекса), то за время анализа успевает диссоциировать лишь небольшая доля иммунных комплексов и предложенное приближение выполняется с высокой точностью. Критерий применимости такой модели: кинетическая константа диссоциации иммунного комплекса должна быть меньше 10^{-4} 1/с. Большинство взаимодействий антиген-антитело удовлетворяют данному критерию.

Предложенные подходы были применены для создания математических моделей иммунохроматографического анализа в «сэндвич» и конкурентном форматах, а также позволили впервые разработать модель иммунохроматографии в формате серодиагностики (определения специфических антител в крови). Модели дают возможность оценки характера влияния констант иммунохимического взаимодействия, продолжительности стадий анализа и концентраций реагентов на кинетику образования целевого детектируемого комплекса. На основании анализа моделей выработан ряд рекомендаций для снижения предела обнаружения аналитов. Предсказанные теоретические зависимости подтверждены при экспериментальной характеристике тест-систем. В качестве модельных антигенов были использованы белок МРТ64 *Mycobacterium tuberculosis* для «сэндвич»-анализа, хлорамфеникол для конкурентного анализа и специфические антитела против липополисахарида *Brucella abortus* для серодиагностической системы.

Предлагаемые модели позволяют оценить влияние различных факторов на параметры иммунохроматографического анализа и прогнозировать закономерности функционирования тест-систем. Модели просты, не требуют сложных программных средств и потому доступны широкому кругу потенциальных пользователей.

Исследования проведены при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 18-33-01048 мол_а).

ВЛИЯНИЕ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА НА ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВАРИАбельНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У СТУДЕНТОК

INFLUENCE OF PSYCHOEMOTIONAL STRESS ON CHANGE OF THE INDICATORS OF THE HEART RATE VARIABILITY IN STUDENTS

Фатеев М.М., Кистол Д.В.

Ярославский государственный медицинский университет, г. Ярославль, fateev52@mail.ru

С помощью метода вариабельности сердечного ритма (ВСР) исследовали адаптационные возможности организма студенток (всего 30 человек, средний возраст 20.5 ± 0.28 года) к стрессовым воздействиям в разные периоды обучения: в середине осеннего семестра, во время экзамена (до и после) и в первую неделю после зимних каникул в покое и во время ортостатической пробы. ЭКГ записывали во II стандартном отведении с помощью диагностической системы «Валента» (Санкт-Петербург). Эта система позволяет рассчитывать на основе длительности R-R интервалов показатели ВСР, но не все, согласно международной номенклатуре [1]. Поэтому в дальнейшем производили их расчет в программе CRgraph, специально созданной для этих целей. Рассчитывали показатели временного, геометрического анализов, корреляционной ритмографии и спектрального анализа [2]. Анализу подвергались 24 основных показателя ВСР. Достоверность результатов оценивалась по критерию t Стьюдента для парных данных.

Временной анализ показал, что в состоянии покоя частота сердечных сокращений (ЧСС) составила в середине семестра 72 ± 2.2 , перед экзаменом – 95 ± 3.3 , после экзамена – 79 ± 2.9 , после каникул – 76 ± 2.8 уд./мин, а при ортостатической пробе – 88 ± 2.1 , 111 ± 3.6 , 101 ± 2.9 , 93 ± 2.5 уд./мин соответственно ($p < 0.05$). В состоянии покоя по сравнению с серединой семестра она достоверно возросла перед экзаменом в 1.3 раза, после экзамена достоверно уменьшалась в 1.2 раза, но еще была достоверно выше в 1.1 раза по сравнению с серединой семестра и практически не отличалась с периодом времени после каникул. Сравнение ЧСС при ортостатической пробе между этими же периодами регистрации полностью совпало с периодом покоя.

Показатели геометрического анализа также свидетельствовали о преобладании активности симпатoadренальной системы во время проведения ортостатической пробы. Так, амплитуда моды (АМо) при ортостатической пробе достоверно увеличивалась в периоды середина семестра и после каникул в среднем в 1.2 раза, а в остальные периоды времени имела тенденцию к увеличению. В покое в период перед экзаменом

амплитуда моды была выше по сравнению с серединой семестра, после экзаменов и после каникул соответственно в 1.4, 1.2 и 1.3 раза ($p < 0.05$). При ортостатической пробе изменения были такими же. Стресс-индекс (SI) в покое составил в середине семестра 68.4 ± 11.14 , перед экзаменом – 204.3 ± 45.31 , после экзамена – 109.0 ± 34.98 , после каникул – 84.0 ± 14.17 усл.ед., а при ортостатической пробе SI соответственно увеличился до 124.4 ± 23.33 ($p < 0.05$), 290.2 ± 86.53 ($p > 0.05$), 178.8 ± 50.5 ($p < 0.05$), 140.6 ± 22.09 ($p < 0.05$) усл.ед. Стресс-индекс у студенток в состоянии покоя достоверно был высоким только в период времени перед экзаменом и сразу после него по сравнению с периодами времени: середина семестра и после каникул. Такая же тенденция наблюдалась и при сравнении величин SI при ортостатической пробе между изучаемыми периодами времени.

Спектральный анализ показал, что мощность волн очень низкой частоты (VLF) практически не изменялась, как по сравнению с ортостатической пробой, так и при сравнении разных периодов регистрации ЭКГ между собой. Мощность волн низкой частоты (LF) при ортостатической пробе достоверно повышалась только в период времени до и после экзамена в среднем в 1.9 раза. При сравнении различных периодов регистрации ЭКГ между собой как в состоянии покоя, так и при ортостатической пробе достоверных изменений не выявлено. Мощность волн высокой частоты (HF) при ортостатической пробе достоверно снижалась в середине семестра и после экзамена соответственно в 5.0 и 2.9 раза. В остальные периоды наблюдалась только тенденция к снижению мощности HF. В покое ее достоверное снижение перед экзаменом по сравнению с серединой семестра и сразу после экзамена в среднем в 3.3 раза свидетельствует о наличии стресса. При сравнении ортостатических проб между собой таких закономерностей не выявлено. Индекс вагосимпатического взаимодействия (LF/HF) при ортостатической пробе значимо повышался во все периоды времени в среднем в 3.5 раза. В покое в середине семестра он достоверно ниже, чем в остальные периоды времени в среднем в 2.1 раза. Наибольшее его увеличение в 3.4 раза наблюдается перед экзаменом. И сразу же после экзамена он уменьшался в 1.8 раза. При сравнении ортостатических проб между собой выявлена такая же закономерность.

Итак, результаты данного исследования показали, что при ортостатической пробе во все периоды регистрации ЭКГ повышается активность симпатoadренальной системы. Несмотря на высокий предэкзаменационный психоэмоциональный стресс, он довольно быстро снижается уже в первые 10 минут сразу после экзамена. Показатели ВСР в середине осеннего семестра и в начале весеннего семестра практически не отличаются между собой, что свидетельствует о хорошей адаптации организма студенток к учебному процессу.

1. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation and clinical use // *Circulation*. 1996. Vol. 93. P. 1043 – 1065.
2. Фатеев М.М. и др. Вариабельность сердечного ритма в ходе развития тяжелой инсулиновой гипогликемии у крыс // *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2018. Т. 104, № 2. С. 205 – 216.

МОДЕЛЬ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ С ПАРАМЕТРАМИ, ЗАВИСЯЩИМИ ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ

MODEL OF POLYMERASE CHAIN REACTION WITH TEMPERATURE-DEPENDENT PARAMETERS

Федоров А.А.¹, Сочивко Д.Г.², Курочкин В.Е.¹

¹Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, f_aa@mail.ru

²Компания СИНТОЛ, Москва

Метод полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ), известный уже более тридцати лет, является на сегодняшний день основным аналитическим инструментом количественного анализа целевой ДНК. Несмотря на столь давнюю историю, методика проведения количественного анализа ПЦР-РВ не претерпела существенных изменений и всё так же проводится с помощью калибровочных проб, хотя в ряде случаев это может давать существенную погрешность анализа. Отсутствие более совершенных методов обработки данных ПЦР-РВ связано с тем, что на настоящий момент реальной количественной модели процесса ПЦР не существует. В свою очередь, отсутствие подобных моделей ПЦР-РВ, обусловлено тем, что не смотря на кажущуюся простоту описания механизма этой реакции «на пальцах», ПЦР является достаточно сложной системой, в которой принимает участие большое количество компонентов и факторов, влияющих на его результаты. Многие из этих факторов сами по себе являются объектами отдельных направлений исследований биохимии и биофизики, как например, исследования в области работы ДНК полимераз.

Одним важнейших из физических условий, определяющих ход реакции и, соответственно, точность анализа, является температура. Основным температурно-зависимым процессом в механизме ПЦР является гибридизация цепей ДНК. Гибридизация и плавление двойных цепей ДНК из одиночных цепей можно представить как обратимую одностадийную реакцию, кинетика которой описывается константами скорости прямой и обратной реакции. Обе константы сильно зависят от длины комплементарных гибридизующихся

цепей. Прямая реакция слабо зависит от температуры [1], в то же время, обратная реакция сильно зависит от температуры и определяет положение равновесия при данной температуре [2]. Немногочисленные модели ПЦР, представленные к настоящему моменту, не позволяют учесть температуру реакции в явном виде.

Нами предложена кинетическая модель ПЦР-РВ, позволяющая оценить влияние температуры на результаты реакции в явном виде. Модель построена на основе уравнений химической кинетики, за основу взята базовая модель ПЦР-РВ, представленная в работе [3]. В качестве исходных компонентов реакции выступали две комплементарные цепи исходной ДНК и два праймера, промежуточными компонентами являлись комплексы фрагмента ДНК и праймера. Итоговым продуктом реакции являлась сумма концентраций двойных цепей, полученная гибридизацией одиночных цепей, и двойных цепей, полученных синтезом. По количеству данного продукта строилась кинетическая кривая ПЦР-РВ. Влияние температуры было учтено в модели путем введения в модель константы скорости диссоциации комплекса праймер-ДНК как функции температуры. Моделирование проводили с помощью программы, написанной на языке C++. Программа позволяла повторить модельные вычисления заданное количество раз, имитируя необходимое количество циклов ПЦР.

С помощью модели было показано, что небольшие вариации температуры среды вполне могут объяснить типичный разброс значений порогового цикла ПЦР при параллельном проведении анализа одного образца, часто наблюдаемого на практике.

При разработке реагентов для ПЦР обычно стремятся подобрать праймеры с оптимальными тепловыми параметрами, причем эти параметры должны быть близки для двух праймеров, используемых в одной реакции. В то же время, это не всегда возможно по причине характера нуклеотидной последовательности ДНК в амплифицируемом участке. Было изучено влияние неоптимального подбора тепловых характеристик одного из пары праймеров на эффективность реакции. Для этого варьировали температуру плавления второго праймера при постоянных значениях температуры на фазе элонгации и температуры плавления первого праймера. Как можно было ожидать, при снижении температуры плавления праймера относительно температуры элонгации происходит падение эффективности реакции. Кроме того, для первой цепи, синтез которой инициируется вторым праймером с пониженной температурой плавления, снижается также и уровень плато. В этом случае модель ведет себя как асимметричная ПЦР, целью которой является получение в конце реакции избытка одной из цепей например, для дальнейшего гибридизационного анализа.

1. Wetmur J.G., Davidson N. Kinetics of renaturation of DNA // Journal of molecular biology 1968. V. 31. P. 349.
2. SantaLucia Jr. J. PCR Primer Design. Humana Press, 2007.
3. Сочивко Д.Г. и др. Математический анализ кинетических кривых полимеразной цепной реакции // ДАН. 2016. Т.466. С. 109.

ВЗГЛЯД БИОФИЗИКА НА СТАРЕНИЕ КАК НА ПРЕДОТВРАТИМЫЙ И ОБРАТИМЫЙ ПРОЦЕСС THE CONCEPT OF AGING AS A PREVENTABLE / REVERSIBLE PROCESS: A BIOPHYSICIST VIEW

Халявкин А.В.

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, E-mail: antisenes@mail.ru
Федеральный исследовательский центр “Информатика и управление” Российской академии наук, Москва
Московское отделение Геронтологического общества при РАН, Москва

Стохастическая концепция старения постулирует неполноту механизмов восстановления сбоев, повреждений и ошибок, неизбежно возникающих в организме, как сложной системе. Этому противоречат многочисленные данные, свидетельствующие об обратном. Тем более что уже выявлены виды, особи которых способны не стареть. Они описаны и у одноклеточных (напр., у амёб, парамеций и т. д.), и у многоклеточных (напр., у гидр, плоских червей, некоторых рыб и млекопитающих). Подходы биофизики сложных систем могут оказаться полезными для объяснения возникновения старения.

Большие системы, в том числе и живые организмы, могут рассматриваться как единые сущности, качественная модель которых способна выявить их основные свойства. Кроме того, в естественных науках используются идеализированные сущности, явления или понятия, отсутствующие в природе. Напр., “точечный заряд”, “идеальный газ”, “абсолютно черное тело” и т.п. Применение подобных понятий и построение идеализированных моделей позволяет описать основные характеристики исследуемых систем. А введение «параметра возмущения» приближает их свойства к реальным системам. Идеализированный объект биологии старения это “нестареющий организм”, не являющийся синонимом бессмертного существа, поскольку всегда есть риск гибели от той доли внешних воздействий и внутренних флуктуаций, которая превышает ограниченные резервные возможности устойчивости организмов. Однако в среднем неизменных условиях этот усредненный риск оставался бы постоянным за счет того, что резервы сопротивляемости не уменьшались бы с возрастом, как это происходит у стареющих особей. Поэтому отличие нестареющих особей от стареющих

организмов заключается только в том, что у последних текущий риск гибели растет с возрастом за счет неизбежного уменьшения сопротивляемости организмов из-за ухудшения их надежности в процессе старения.

Однако неподверженность старению “нестареющих организмов” не абсолютна. Ряд сдвигов внешних условий запускает у них некий “фазовый переход” из нестарящего состояния в старение. Например, известно, что уменьшение ниже критической величины концентрации питательных веществ в среде обитания амёб или температуры воды в аквариуме с гидрами неизбежно приводит к старению этих потенциально нестарящихся существ. Причем, до определенного момента, к старению обратимому.

Поэтому желательно выйти из ложной дихотомии (“программируемо или стохастично старение?”), и учесть, что устойчивые системы или режимы всегда имеют границы зоны устойчивости. И тогда теории управления и системного подхода достаточно для того, чтобы и найти первопричину старения, и понять основные механизмы его реализации. Для этого надо вместо поисков «внутренних механизмов старения» перейти к изучению особенностей взаимодействия «среда-организм». Ведь именно при выходе из зоны устойчивых режимов жизнедеятельности, индуцируемых внешней средой, даже такие потенциально нестарящиеся организмы, как амёбы и гидры, начинают стареть «по Гомперцу», т.е. с ростом риска смерти по экспоненте, как это наблюдается у людей и других сложных организмов.

Отсюда напрашивается вывод о том, что особи видов с повторными циклами размножения, включая человека, могут являться потенциально нестарящимися. Стареют же они, функционируя в условиях, препятствующих полному самоподдержанию. Сравнение возрастных зависимостей риска смерти в странах с разным уровнем жизни показывает, что развитие цивилизации удаляет человека от адекватных “самоподдерживающих” режимов жизнедеятельности, ускоряя темп старения на фоне роста средней продолжительности жизни за счет снижения начального риска смерти.

Эти и другие обоснования возникновения старения из нестарящего состояния (напр., [1-4]) совместимы с данными, накопленными к настоящему времени. Некоторые дополнительные публикации на эту тему можно найти по адресу https://www.researchgate.net/profile/Alexander_Khalyavkin/research.

1. Халявкин А.В. Феноптоз как генетически детерминированное старение, управляемое сигналами среды // Биохимия, 2013, Том 78, № 9, Стр. 1278-1283.
2. Халявкин А.В., Крутько В.Н. Старение есть простой депривационный синдром, вызываемый квазипрограммированным предотвратимым и обратимым дрейфом уставок управляющих систем из-за несоответствующего взаимодействия «организм-среда» // Биохимия, 2014, Том 79, № 10, Стр. 1392-1395.
3. Khalyavkin A.V., Krut'ko V.N. How regularities of mortality statistics explain why we age despite having potentially ageless somatic stem cells // Biogerontology, 2018, Vol. 19, N 1, P. 101-108.
4. Khalyavkin A.V., Krut'ko V.N. Holistic approach to origin of aging and black box phenomenology of macro-systems behavior in different environments. In: Complex Systems: Control and Modeling Problems, 2018 20th International Conference of the Institute of Control Sciences of Complex Systems, RAS, 2018, pp. 441-445.

РАЗВИТИЕ БИОФИЗИЧЕСКИХ МЕТОДИК ДЛЯ СТРУКТУРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СИНХРОТРОННОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

DEVELOPMENT OF THE BIOPHYSICAL METHODS FOR STRUCTURAL INVESTIGATIONS BY USING SYNCHROTRON RADIATION

Шелестов В.М., Гоганов Д.А.¹, Золотарев К.И.³, Кулипанов Г.Н.³, Корнеев В.Н.², Сребницкая Л.К.¹, Скринский А.Н.³, Вазина А.А.¹

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, pushelst@mail.ru

¹ ООО «Элион», Санкт-Петербург

² ФГБУН Институт биофизики клетки, ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино

³ ФГБУН Институт ядерной физика им. Г.И.Будкера СО РАН, Новосибирск

В последнее время использование синхротронного излучения (СИ) электронных ускорителей и накопителей генерирует широкий круг исследований в различных областях фундаментальной и прикладной науки, а также находит непосредственно практическое применение.

Важнейшими свойствами СИ, которые делают его уникальным инструментом в структурных исследованиях, являются необычайно высокая интенсивность, непрерывный спектр в широком диапазоне длин волн (от 0,05 до 500 нм), минимальная расходимость пучка в вертикальном направлении ($\sim 10^{-4}$ рад) и высокая степень когерентности излучения. Сочетание уникальной интенсивности, малой расходимости с фокусирующей оптикой и координатными детекторами позволило получать малоугловые рентгенограммы биологических объектов за время порядка 0,1 сек.[1]. Столь малые времена позволили ставить эксперименты, цель которых – динамика структурных превращений в процессе осуществления биологической функции.

Спектр СИ имеет коротковолновую границу, определяемую особенностями конкретного ускорителя (накопителя) и режимом его работы, равную 0,01 – 0,05 нм. Верхняя граница спектра СИ определяется

поглощением и соответствует $\sim 0,3$ нм и если учесть, что монохроматор вырезает из этого интервала узкую полосу $\sim 10^{-2} - 10^{-4}$, ясно, что использование широкого спектрального интервала может дать увеличение числа фотонов в первичном пучке СИ на 2 – 3 порядка.

Впервые разработаны и развиты биохимические методики получения структурной информации от биологических объектов. Это диффузное рассеяние на биомолекулах; EXAFS-спектроскопия Са-связывающих белков; рентгенофлуоресцентный элементный анализ широкого класса биологических образцов; фазовый контраст биологических объектов. Была создана методика использования широкого спектрального интервала СИ для скоростной малоугловой дифрактометрии биологических объектов. Разработан метод энергетической дифрактометрии для рентгенографии в больших углах. Создана методика дифрактометрии ($\Theta = \text{const}$) мышц в покое и различных физиологических состояниях.

Наноструктурные исследования функциональных состояний биологических тканей с использованием СИ позволяют успешно применять метод энергетической дифрактометрии: получение дифракционной картины как функции длины волны при фиксированном угле рассеяния ($\Theta = \text{const}$); метод пригоден для изучения динамики структурных переходов в миллисекундной шкале.

Разработанным нами методом скоростной дифрактометрии с использованием СИ накопителя ВЭПП-3 (ИЯФ СО РАН, Новосибирск) проведены исследования мышц Sartorius и Semitendinous лягушки *Rana temporaria* в различных физиологических состояниях: покоя, ригора, изометрического тетануса и K^+ контрактуры [2]. В качестве тестовых образцов использованы волокна коллагена и интактные мышцы лягушки в состоянии покоя. Рентгенограммы коллагена демонстрируют до 16 дифракционных пиков в интервале 11 – 3,1 нм, расстояние между пиками до 800 эВ; на рентгенограммах мышцы регистрируются до 7 максимумов в интервале 14,3 – 5,3 нм. Показано, что отношение сигнал/шум практически для всех меридиональных рефлексов в 2 – 3 раза выше для данных, полученных по методу $\Theta = \text{const}$, чем по методу $\lambda = \text{const}$ [3].

На основе разработанной технической документации создана техника скоростной дифрактометрии живых тканей, пригодная для исследования различных функциональных состояний тканей на основе синхротронного источника «Сибирь-2» при использовании Ge(Li) и Si(Li) полупроводниковых детекторов.

1. Гиманов В.П. и др. Использование полупроводникового спектрометра в малоугловой дифрактометрии биологических объектов // Биофизика. 1978. т.23, вып.2, с.393-395.
2. Vazina A.A. et al. X-ray diffraction study of structural stability of giant proteoglycan molecules of mucus. Nucl. Instr. And Meth. A 603 (2009), 90-94.
3. Vazina A.A. et al. X-Ray Diffraction Study of the Nanostructural Dynamics of Fibrillar Systems of Hair Tissue. Bulletin of the Russian Academy of Sciences. Physics, 2015, Vol. 79, No. 1, pp. 75–80.

О РОЛИ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В ЖИЗНИ НА ЗЕМЛЕ ON THE ROLE OF FUNDAMENTAL SEMIOTEXTE IN LIFE ON EARTH

Шогенов Ю.Х., Романовский Ю.М.

В настоящее время достоверно известны четыре вида фундаментальных взаимодействий (не считая поля Хиггса) в природе: сильное, электромагнитное, слабое и гравитационное. Если говорить о происхождении Жизни, то сначала возникла сама Вселенная, Солнце, Земля. Конечно, при этом все четыре вида взаимодействия играли свою незаменимую роль в возникновении, развитии и эволюции Жизни на Земле. Конечно, в первую очередь говорим о гравитации и электромагнитных силах, а также мутациях, которые зависят от уровня радиоактивности и процессов внутри ядер атомов. А эти процессы определяются как Сильными, так и Слабыми взаимодействиями. Безусловно, электромагнитные взаимодействия, гравитация играют главенствующую роль в жизни растений и животных. От движения Земли зависят суточные, сезонные и годовые ритмы в жизни животных и растений. Этим определяется периодические процессы в фотосинтезе, в физиологии растений, которой посвящены многие десятки монографий, где подробно говорится о транспорте веществ в проводящих системах растения и влиянии на него гравитации и электромагнитных взаимодействий [1,2]. Одними из первых фоторецепцию исследовали Чарльз Дарвин и его сын Френсис. Они выяснили, что ответ на освещение верхушки колеоптиля канареечной травы к свету в зоне 0,25 мм от верхушки в 1000 раз больше, чем двумя мм ниже, где световое воздействие вызывало изгиб в затемненной части проростка [3]. Распределение градиентов электрических потенциалов вдоль проводящих путей играет огромную роль в жизнедеятельности растений и влияет на их продуктивность и урожайность [1,4]. В работах [4-7] приведены примеры успешной адаптации сельскохозяйственных культур к таким стрессовым факторам окружающей среды, как почвенная засуха, низкие положительные температуры, пониженная освещенность и микрогравитация. Во всех представленных случаях первоначально наблюдали депрессию аксиальных градиентов биоэлектрических потенциалов (БЭП), что приводило к ухудшению состояния растений и недобору урожая. Микротоковое восстановление градиентов БЭП до биологически-детерминированного уровня

способствовало значительному улучшению жизнедеятельности растений (восстановление тургора листьев, усиление ростовых показателей, повышение урожайных качеств до уровня их потенциальной продуктивности), что было также продемонстрировано на семенных растениях огурца (гибрид ТСХА-575), выращиваемых в условиях защищенного грунта [8], где в течение вегетационного периода наблюдались отклонения микроклиматических факторов от нормальных условий произрастания растений. Таким образом, применение новых методов регуляции адаптивных свойств растений с использованием градиентов БЭП является одним из возможных резервов реализации потенциальной продуктивности сельскохозяйственных культур и получения стабильных урожаев.

1. Солнцева Н.П., Федоров В.М., Рубин А.Б. и др. Современные проблемы изучения и сохранения биосферы. Том 3. Проблемы восстановления и сохранения систем биосферы // Коллективная монография под ред. Красногорской Н.В. Санкт-Петербург. Гидрометеиздат. 1992 г. 356 с.
2. Shogenov Yu.N., Romanovsky Yu.M., Stepanian A.S. Measurement of bleeding sap flow velocity in xylem bundle of herbs by laser probing. Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering. 1991. Т. 1403. С. 359-362.
3. Саламатова Т.С. Физиология растительной клетки. Л. Изд-во ЛГУ. 1983. 232 с.
4. Каменская К.И., Шогенов Ю.Х., Третьяков Н.Н. Функциональная роль градиентов потенциалов в растениях // В кн.: Электрофизиологические методы в изучении функционального состояния растений. - М., 1988. С.1-14.
5. Каменская К.И., Третьяков Н.Н., Шогенов Ю.Х. О роли биоэлектрической полярности в жизнедеятельности растений кукурузы в условиях гипогравитации // Известия ТСХА. 1986. №6. С.118-121.3.
6. Васильев В. А., Гаркуша И. В., Петров В. А., Романовский Ю. М., Шогенов Ю. Х. Свето-индуцированная электрическая активность зеленых растений // Биофизика. 2003. Т.48. №4. С.706-716.
7. Шогенов Ю.Х., Измайлов А.Ю., Третьяков Н.Н. Влияние низкоэнергетических электрических потенциалов на адаптацию семенных растений огурца при действии неблагоприятных факторов окружающей среды // Техника и оборудование для села. -2017. -№ 2 (236). - С.14-17.

МОДЕЛИРОВАНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ В ПРОВОДЯЩЕЙ СИСТЕМЕ РАСТЕНИЙ

MODELLING THE PROPAGATING OF ELECTRICAL SIGNALS IN PLANT CONDUCTING SYSTEM

Шогенов Ю.Х., Романовский Ю.М.

В настоящее время опубликованы сотни работ, посвященных математическим моделям (ММ) электропроводящих систем растений. Наши исследования всегда комплексны - математические модели строятся на основании собственных экспериментов.

На основании системы ФитцХьюНагумо построена ММ процесса распространения электрических импульсов вдоль проводящей системы растения при локальных и распределенных внешних воздействиях. В этой ММ получены два вида решений - распространяющиеся и «стоячие» импульсы, взаимодействие встречных импульсов. Эти данные сравниваются с экспериментальными распространениями импульсов на 20-дневных проростках огурца сорта ТСХА-575 для разных внешних условий [1].

В работах [2-4] представлены подробные блок-схемы установок, на которых изучались электрические отклики растений и семян на локальные (точечные) световые лазерные воздействия, электромагнитные излучения в широком диапазоне длин волн (световой-, ИК-диапазон, миллиметровые волны). Результаты сравнивались с ММ этих процедур. Помимо ММ, сходных с таковыми, представленными в [4] построены двумерные ММ, состоящие из системы клеточных автоматов. При этом каждый автомат соответствовал клетке проводящей системы. Подобраны параметры, клеточных автоматов, при которых результаты близки к опытным данным. Например, изучено взаимодействие импульсов, распространяющихся навстречу друг другу.

Таким образом, предложенные методы позволяют изучать самые разные ситуации взаимодействия внешних физических и климатических факторов как на проводящую систему растений, так на растение в целом. В частности, определять параметры функционального состояния растений, их продуктивность и урожайность при воздействии экстремальных и благоприятных климатических факторов внешней среды.

1. Шогенов Ю.Х., Васильев В.А., Третьяков Н.Н., Миронова Е.А., Моисеенкова В.Ю., Романовский Ю.М. Математическое моделирование распространения электрических сигналов в проводящей системе растений. Известия ТСХА, выпуск 2, 1999. СС 114-128.
2. Шогенов А.Х., Стребков Д.С., Шогенов Ю.Х. Аналоговая, цифровая и силовая электроника. М.:Физматлит, 2017. 416 с.
3. Бородин И.Ф., Шогенов Ю.Х., Романовский Ю.М. Адаптация растений к локальному монохроматическому электромагнитному излучению // Доклады Россельхозакадемии. 1999. № 6. С.46-49.
4. Васильев В. А., Гаркуша И. В., Петров В. А., Романовский Ю. М., Шогенов Ю. Х. Свето-индуцированная электрическая активность зеленых растений // Биофизика. 2003. Т.48. №4. С.706-716.

Секция 15. Экологическая биофизика.

ИЗМЕНЕНИЯ АРХИТЕКТУРЫ КРОНЫ ДЕРЕВЬЕВ ПИХТЫ СИБИРСКОЙ ПРИ НАРУШЕНИИ ГОМЕОСТАЗА**THE CHANGES IN ABIES SIBIRICA LEDEB. CROWN ARCHITECTURE AT STRESS****Бажина Е.В.**

ФГБУН Институт леса СО РАН - обособленное подразделения ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, genetics@ksc.krasn.ru

Взаимодействие организмов со средой на всех уровнях организации является одной из основных проблем современной биологии. Одним из основных факторов, действующих на живые организмы является сила земного притяжения. В процессе эволюции у организмов выработался комплекс морфологических и физиологических адаптаций, обеспечивающих максимальный приток энергии для преодоления действия силы земного притяжения. В силу прикрепленного образа жизни растения оказываются крайне чувствительны к действию гравитации [1]. Приспособления у них происходили в направлении развития укрепления опорной конструкции для лучшего сопротивления и наиболее выгодного положения по отношению к гравитационному вектору [2]. У лесных древесных видов выработались компенсаторные поддерживающие структуры, обеспечивающие вертикальное направление главной оси (отрицательный геотропизм), асимметричность роста древесины веток и листового аппарата (плагиотропизм ветвей, дорзовентральность побегов и хвои) [3-5]. Опыты с геоиндукцией растений показали, что решающим в реакции на геотропическое раздражение является внутреннее состояние организма [6].

Исследования структуры кроны пихты в лесных экосистемах гор Южной Сибири (хр. Хамар-Дабан, Западный и Восточный Саян, Кузнецкий Алатау, северо-восточный Алтай) показали, что, у здоровых деревьев плагиотропизм ветвей сохраняется на протяжении всей жизни дерева. В нарушенных экосистемах (на высотах 680 м над ур.м. и выше) у усыхающих деревьев угол прикрепления ветвей значительно увеличивается - до 90–112° – в средней части кроны (мужской ярус) и 90–130° – в нижней (вегетативный ярус), плагиотропизм меняется на положительный геотропизм, наблюдаются также изменения морфологических и анатомических особенностей строения древесины и хвои. Форма кроны из узкопирамидальной, характерной для данного вида, становится плакучей [7]. Полярность в расположении генеративных органов в кроне дерева и на побеге сохраняется. Процессы усыхания хвои и ветвей наблюдаются в подверхушечной части дерева, где локализуется мужской генеративный ярус. Вершина дерева (женский генеративный ярус), не имеет признаков повреждения и продуцирует шишки в течение десятков лет после начала усыхания дерева. Степень усыхания положительно коррелирует с возрастом дерева $y=0,0141x+0,0806$ и отрицательно с общей протяженностью кроны $y=-0,0681x+20,8499$ ($r=0,95$). Минимальными значениями угла отхождения ветвей от оси ствола и расстояния от вершины дерева до верхней границы усохшей части, а также максимальной протяженностью усохшей части по оси ствола характеризуются деревья, растущие в пихтачах хр. Западного Саяна, максимальными показателями характеризуются деревья низко- и среднегорья Восточного Саяна. При этом отмечена следующая закономерность – чем старше дерево, тем меньше угол прикрепления ветвей до усохшей части и больше – после усохшей части.

Изменения архитектуры кроны (утрата геотропической реакции ветвей) отмечены не только в нарушенных горных экосистемах, но также в равнинных и низкогорных биоценозах, у деревьев, в значительной степени пораженных ржавчинным раком (*Melampsorella cerastii* Wint.), либо старшего возраста (более 270-290 лет). Полученные результаты позволяют предложить специфический маркер нарушения гомеостаза деревьев пихты сибирской. Мы полагаем, что утрата геотропической реакции является универсальным фенотипическим признаком нарушения гомеостаза дерева, когда по мере старения, либо при воздействии различных стрессовых факторов, организм постепенно утрачивает способность сопротивления к действию гравитации.

1. Синнот Э. Морфогенез растений. - М. 1963, 603с.
2. Раздорский В.Ф. Анатомия растений. - М., 1949. 524с.
3. Меркис А.И. Геотропическая реакция растений. - Вильнюс, 1973, 263с.
4. Larsen P. Geotropism. An introduction Hand. Pflanzenphysiologie, physiologie der Bewegung, 1962, Bd. 17, N 2. S. 37-73.
5. Kaldewey H. Plagio- und Diageotropism der Sprosse und Blätter einschliesslich Epinaste, Hyponaste, Entfaltungsbewegungen. Handbl. Pflanzenphysiologie, Physiologie d. Bewegung, 1962. Bd. 17, N 2. S. 200-245.
6. Минина Е.Г., Третьякова И.Н. Геотропизм и пол у хвойных. - Новосибирск, наука, сиб. отд-ние, 1983.199с.
7. Третьякова И.Н., Бажина Е.В. Морфоструктура кроны и состояние генеративной сферы у пихты сибирской в нарушенных лесных экосистемах близ озера Байкал //Известия РАН. Сер. биол. 1995. № 6. С. 685-692.

ЗАМКНУТОСТЬ И ЭВОЛЮЦИЯ ЗЕМНОЙ БИОСФЕРЫ: ПАРАДОКС ВЕРНАДСКОГО-ДАРВИНА CLOSURE AND EVOLUTION OF EARTH BIOSPHERE: VERNADSKY-DARVIN PARADOX

С.И. Барцев¹, Н.Н. Дегерменджи², А.Б. Сарангова¹

Институт биофизики СО РАН ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН», Красноярск

¹ Сибирский федеральный университет, Красноярск

² Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого, Красноярск

В соответствии с идеями В.И. Вернадского жизнь в биосфере Земли может существовать только благодаря высокой замкнутости циклических превращений веществ, осуществляемых живыми организмами за счет энергии Солнца. Все, что производит какой-либо организм, включая его самого, потребляется другими организмами, то есть одни и те же атомы химических элементов используются биосферой многократно. В этом случае говорят о наличии экологической замкнутости, которая, в дополнение к замкнутости термодинамической, т.е. отсутствию обмена веществом с окружающей средой, предполагает наличие биогенного циклического превращения веществ.

Но в самом существовании биосферы скрыт парадокс, который авторы [1] назвали парадоксом Вернадского. Авторы формулируют его в виде вопросов: «Как совокупность жизненных форм - открытых систем - может развиваться и сохраняться в течение миллиардов лет в глобальной системе, которая в значительной степени закрыта для притока и оттока вещества?», и «Как входы и выходы множества открытых систем образует трофическую сеть таким образом, что материальное замыкание, как граничное условие планеты не разрушает организованные подсистемы?»

Если мы примем, что нынешнее высоkozамкнутое состояние биосферы (до промышленной революции) является результатом ее эволюционного и экологического развития, то этот парадокс можно сформулировать следующим образом: «Замкнутость биосферы не является приспособительным признаком особи». Действительно, в ходе естественного отбора выживает генетическая линия того индивидуума, который захватывает больше ресурсов и оставляет более жизнеспособных потомков. То есть в ходе естественного отбора побеждают организмы, обладающие преимуществом, которое дает выигрыш здесь и сейчас. Последствия нарушения замыкания будут ощущаться гораздо позже, чем прямые результаты отбора. Поскольку процесс замыкания биосферы происходил на фоне естественного отбора, работающего, если не против него, то, безусловно, в «ортогональном» направлении, то представляется обоснованным ввести расширенное названия этого парадокса – парадокс Вернадского-Дарвина (ПВД).

Подходы к возможному разрешению этого парадокса представляется естественным обсуждать в контексте истории происхождения и развития земной биосферы. Представляется интересным сопоставить динамику уровня замкнутости биосферы со сменой энергетических эпох [2], характеризующихся доступными для живых существ источниками энергии: 1) геохимическая энергия; 2) солнечная энергия; 3) энергия окислительного фосфорилирования; 4) потребление живой плоти, хищничество.

На этапе использования геохимической энергии от гидротермальных источников, биосферы, как системы взаимодействий, еще не существовало и замкнутость потоков веществ практически отсутствовала.

С появлением цианобактерий и окислительного фотосинтеза уровень кислорода достиг ~1% от нынешнего и сохранялся на этом уровне примерно 2 млрд.лет. Жизнь в это время существовала в виде бактериальных матов, представляющих собой, своего рода локальные экосистемы, включающие автотрофные и гетеротрофные микроорганизмы. Внутри бактериального мата имел место интенсивный круговорот биогенов и, значит, ПВД становится актуальным для этих систем. Для оценки условий разрешения ПВД в этой простой системе с учетом стехиометрии, построена ее математическая модель. Показано, что замкнутая система, включающая только один вид автотрофов и один гетеротрофов, вообще не имеет стационарного состояния, а значит, не может существовать. Исследование модели, приводит к гипотезе, что в замкнутых системах типа бактериального мата на трофическом уровне гетеротрофов должны присутствовать различные виды с различным стехиометрическим соотношением биогенов в биомассе, причем количество видов должно быть не меньше количества биогенов.

В простой модели бактериального мата ПВД может быть разрешен и другим способом - система должна содержать два автотрофа и один гетеротроф, способный выбирать добычу, то есть это должен быть хищник [3]. Следовательно простые теоретические рассуждения о способах разрешения парадокса приводят к возможности и перспективности появления хищников, которые действительно появились на Земле примерно 500 млн.лет назад и привели к четвертой энергетической эпохе развития жизни на Земле [2] - потреблению живой плоти. Именно после появления хищничества и формирования исключительно сложной глобальной трофической сети можно говорить о формировании зрелой, с точки зрения замкнутости, биосферы.

1. Barlow C., Volk T. Open systems living in a closed biosphere: a new paradox for the Gaia debate // BioSystems. 1990. Vol. 23. N. 4. P. 371—384.

2. Judson O.P. The energy expansions of evolution // Nature Ecol. & Evol. 2017. V. 1. N 6. 9 P.

3. Saltykov M.Yu. et al. Stability of Closed Ecology Life Support Systems (CELSS) models as dependent upon the properties of metabolism of the described species // Adv. Space Res. 2012. V. 49. N. 2 P. 223—229.

ИНТЕГРАЛЬНАЯ ОЦЕНКА АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ НА РЕКУ КАЛЬМИУС МЕТОДОМ ФЛУОРИМЕТРИИ**INTEGRAL ASSESSMENT OF ANTHROPOGENIC LOAD ON THE RIVER KALMIUS BY FLUORIMETRY***Беспалова С.В., Романчук С.М., Чуфицкий С.В., Перебийнос В.В., Готин Б.А.*ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет», г. Донецк, rector@donnu.ru

Регистрация физических и химических показателей среды составляют основу мониторинга, предоставляя наиболее полную картину состояния экосистемы. Однако, для речных систем, где динамика изменения исследуемых параметров высока, данные показатели не могут отражать различные по длительности воздействия многочисленных факторов окружающей среды. Водные организмы, такие как фитопланктон, могут служить биоиндикаторами для комплексной оценки состояния водной среды на основании их реакции на сочетанное воздействие различных факторов окружающей среды. Это создает необходимость в разработке комплексных методологических подходов непрерывного биомониторинга водных экосистем. Река Кальмиус является второй по величине рекой Донецкого региона и представляет важное историческое, хозяйственное и рекреационное значение, что, принимая во внимание высокую степень антропогенной нагрузки, обуславливает необходимость разработки пространственно-распределенной системы биомониторинга [1–4].

Целью настоящего исследования являлась апробация разработанного макета флуориметра при проведении экологического мониторинга р. Кальмиус.

Для проведения исследований на базе СКТБ «Турбулентность» ДонНУ был разработан флуориметр ФС-2, который предназначен для регистрации флуоресценции фототрофных организмов (водорослей и высших растений). ФС-2 позволяет: измерять основные статические параметры процесса фотосинтеза фитопланктона; снимать кривые индукции флуоресценции фитопланктона с временным разрешением 10 мкс; измерять концентрацию фитопланктона в пробе. Также, было разработано программное обеспечение для работы с флуориметром. Программное обеспечение ФС-2 позволяет: управлять протоколом измерения (вводить длительность и интенсивность засветки); отображение измеренной кривой индукции флуоресценции в графическом окне программы; расчет основных статических параметров процесса фотосинтеза и сведение их в таблицу для анализа. Апробацию флуориметра проводили при проведении биомониторинга р. Кальмиус. Русло реки Кальмиус проходит около ПАО «Донецкий металлургический завод», сточные воды которого способны оказывать негативное воздействие на биоту, что было показано сотрудниками ДонНУ в мониторинговых исследованиях за предыдущие годы [1, 2, 4]. Мониторинговые точки выбирали с учетом предполагаемых мест загрязнения. Следует отметить, что согласно физико-химическим показателям вода в русле р. Кальмиус является условно чистой [1, 4].

Результаты, полученные с помощью флуориметрического метода, указывают на снижение фотосинтетической активности фитопланктона в мониторинговых точках, расположенных ниже по течению, чем предполагаемый источник загрязнения поверхностных вод. Предположительным негативным фактором на исследуемом участке русла реки Кальмиус являются сточные воды, негативное воздействие которых проявляется при условии соблюдения существующих норм содержания различных веществ в природных водах. Согласно полученным данным, в летне-осенний период показатели минимального (F_0) и максимального уровней (F_m) флуоресценции для проб, отобранных после источника предполагаемого загрязнения, снижались на 18–28 % в сравнении с пробами, отобранными выше по течению. Исключение составили результаты, полученные в августе, где снижение показателей F_0 и F_m составляло около 56%. Также наблюдали снижение содержания хлорофилла в 2–3 раза в пробах воды, отобранных после источника загрязнения. При анализе кривых индукции флуоресценции наиболее показательными были изменения таких параметров, как индекс производительности ФСП (PI) и квантовый выход флуоресценции хлорофилла (Φ_0). Так, в период с августа по октябрь происходило значительное снижение параметров Φ_0 и PI, что свидетельствует о снижении функциональной активности ФС П фитопланктона.

Таким образом, в ходе исследования проведена апробация, разработанного флуориметра ФС-2. Разработанный в ходе исследования флуориметр дает возможность анализировать состояние фитопланктона, оценить степень негативного антропогенного воздействия на водный объект и позволяет реализовывать задачи пространственно-распределенного биомониторинга поверхностных вод. Показано негативное воздействие сточных вод ПАО «Донецкий металлургический завод» на состояние фитопланктона р.Кальмиус.

1. Беспалова С.В., Романчук С.М., Чуфицкий С.В. Использование метода флуориметрии в биомониторинге водного объекта // V Съезд биофизиков России. Материалы докладов : в 2 т. – Ростов-на-Дону : Издательство Южного федерального университета, 2015, Т. 2, Стр. 344.
2. Беспалова С.В., Романчук С.М., Чуфицкий С.В. Флуориметрия хлорофилла фитопланктона и другие методы в мониторинге водных объектов Донбасса // Тезисы докладов Всероссийской научной конференции «Мониторинг состояния и загрязнения окружающей среды. Основные результаты и пути развития». М, 20–22 марта 2017 г., С. 355.
3. Беспалова С.В., Чуфицкий С.В., Романчук Н.В., Саакян О.Н. Воздействие сточных вод угольных шахт на качество воды реки Ольховая // Проблемы экологии и охраны природы техногенного региона, 2018, №3–4, Стр. 152.
4. Беспалова С.В., Чуфицкий С.В., Романчук С.М., Кривякин А.С. Биомониторинг поверхностных вод в условиях антропогенной нагрузки на примере реки Кальмиус // Вестник Донецкого национального университета: серия А Естественные науки, 2018, № 3–4, Стр. 100–110.

ФЛУОРИМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ШЛАМОВЫХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ НА ФИТОПЛАНКТОН

FLUORIMETRIC ANALYSIS OF THE EFFECT OF SLUDGE POLLUTANTS ON PHYTOPLANKTON

Беспалова С.В., Романчук С.М., Чуфицкий С.В., Перебийнос В.В., Готин Б.А.
ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет», г. Донецк, rector@donnu.ru

Одним из характерных для Донецкого региона типом загрязнителей являются шахтные воды, характеризующиеся высокой степенью минерализации и высоким содержанием угольной взвеси, что, в свою очередь, обуславливает высокую мутность проб воды [1–4]. Река Ольховая является левым притоком р. Крынка и впадает в Ольховское водохранилище, которое является резервным, питьевым. Систематическое попадание сточных вод из угольных шламонакопителей, расположенных вблизи русла реки, в природные воды приводит к значительному ухудшению качества воды не только р.Ольховая, но и Ольховского водохранилища [3, 4].

Целью настоящего исследования являлась оценка качества вод реки Ольховая и испытание программно-аппаратного комплекса биомониторинга в природных условиях.

Рядом с руслом реки Ольховая расположен каскад из трех взаимосвязанных угольных шламонакопителей. Стоки попадают в русло реки Ольховая. Мониторинговые точки выбирали с учетом предполагаемых мест загрязнения. Для отобранных проб воды проводился анализ физико-химических показателей. Измерения выполняли на базе кафедры аналитической химии химического факультета ДонНУ. Для оценки качества воды определяли класс загрязненности воды на основании определения удельного комбинаторного индекса загрязненности воды (УКИЗВ), а также количество критических показателей загрязненности. Кроме того, проводился флуориметрический анализ проб воды с помощью двух флуориметров: Phyto-РАМ (фирмы Walz, Германия), а также разработанного в СКТБ «Турбулентность» макета флуориметра ФС-2.

Согласно результатам измерения физико-химических показателей отобранных проб воды р. Ольховая установлено превышение предельно допустимых норм содержания количества взвешенного вещества (20–42 мг/л), сухого остатка (1784–2160 мг/л), рН (8,9–9) и сульфат ионов (725–897 мг/л), а также, в отдельных мониторинговых точках, показателя ХПК (40–45 мг/л). Многократное превышение ПДК для количества взвешенного вещества и сухого остатка связано с большим количеством угольной взвеси. Кроме того, наблюдалось низкое содержание биогенных веществ во всех исследуемых пробах воды загрязненного притока и русла реки: нитриты – менее 0,03 мг/л, нитраты – не более 6,2 мг/л, фосфаты – не более 0,54 мг/л. Согласно полученным для каждого из веществ значениям УКИЗВ воду в русле реки Ольховая можно характеризовать как экстремально грязную.

Результаты флуориметрических измерений проб воды р. Ольховая позволяют предположить о высоком негативном воздействии шламовых загрязнений на жизнедеятельность фитопланктона. Данное явление, прежде всего, проявлялось в снижении содержания общего хлорофилла на 35 %, а также снижения параметров кривых индукции флуоресценции. Общее содержание хлорофилла по ходу русла реки после попадания шламовых стоков снижалось в каждой мониторинговой точке, что свидетельствует о гибели фитопланктона. На фоне уменьшения концентрации хлорофилла происходило также снижение уровней минимальной и максимальной флуоресценции на 28 и 48 % соответственно, в сравнении с контрольными мониторинговыми точками.

Результаты флуориметрических измерений позволяют предположить о высоком негативном воздействии шламовых загрязнений на жизнедеятельность фитопланктона реки Ольховая. Данное явление, прежде всего, проявлялось в снижении содержания общего хлорофилла в пробах воды, что указывает на гибель фитопланктона, а также снижения параметров кривой индукции флуоресценции, что указывает на снижение эффективности работы фотосинтетического аппарата живых клеток микроводорослей.

В ходе выполнения исследований проведено испытание программно-аппаратного комплекса биомониторинга. Комплекс способен проводить измерения и эффективно функционировать в естественных природных условиях и при интенсивном загрязнении и высокой мутности проб воды.

Таким образом, можно сделать вывод, что существующие стандартные методы, в соответствии с ГОСТ определения качества воды, недостаточны для понимания текущего состояния водного объекта и необходимо использовать методы биомониторинга. При проведении экспресс - оценки состояния водной среды наиболее эффективным является метод флуориметрии.

1. Гавришин А.И. Закономерности формирования химического состава грунтовых вод каменноугольных отложений Восточного Донбасса // Успехи современного естествознания, 2016, №10, Стр. 102-106.
2. Гавришин А.И. Некоторые важные закономерности формирования химического состава шахтных вод в Восточном Донбассе // Фундаментальные исследования, 2014, №11, Стр. 2465-2470.
3. Беспалова С.В., Романчук С.М., Чуфицкий С.В. Флуориметрия хлорофилла фитопланктона и другие методы в мониторинге водных объектов Донбасса // Тезисы докладов Всероссийской научной конференции «Мониторинг состояния и загрязнения окружающей среды. Основные результаты и пути развития». М, 20-22 марта 2017 г., С. 355.
4. Беспалова С.В., Чуфицкий С.В., Романчук Н.В., Саакян О.Н. Воздействие сточных вод угольных шахт на качество воды реки Ольховая // Проблемы экологии и охраны природы техногенного региона, 2018, №3-4, Стр. 152.

ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДА КАДМИЯ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ ЗЕЛеной ВОДОРОСЛИ SCENEDESMUS OBLIQUUS**EFFECT OF CADMIUM CHLORIDE ON THE PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF THE GREEN ALGA SCENEDESMUS OBLIQUUS***Воронова Е.Н., Тихонов В.¹, Колюхов И.В.², Погосян С.И.²*

МГУ имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, кафедра биофизики, Москва.

1. МГУ имени М.В.Ломоносова, факультет Почвоведения, кафедра биологии почв, Москва.

2. МГУ имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, кафедра биофизики, Москва.

Соли тяжёлых металлов входят в число наиболее распространенных загрязнителей водной среды. Они оказывают токсическое действие на фитопланктон, который является первичным звеном в системе пищевых связей водных организмов и определяет состояние водной экосистемы в целом. Среди метаболических процессов внутри растительной клетки одним из наиболее чувствительных к действию тяжелых металлов является фотосинтез. Измерение параметров флуоресценции хлорофилла позволяет на ранних стадиях выявить какие-либо причины снижения эффективности фотосинтеза клетками водорослей. Спектры поглощения света суспензией позволяют контролировать скорость роста водорослей. В природе организмы испытывают практически постоянный стресс со стороны различных природных факторов, поэтому для исследований действия токсикантов на тест-объекты, необходимо создание дополнительной физиологической нагрузки (увеличение интенсивности освещения, дефицит минерального питания), не выходящей по интенсивности за пределы его толерантности.

В работе рассмотрено влияние ионов Cd в концентрациях от $5 \cdot 10^{-8}$ до 10^{-6} М на фотосинтетический аппарат зеленой водоросли *Scenedesmus obliquus*. Измерения параметров флуоресценции хлорофилла и спектров поглощения хлорофилла в суспензии проводили на безазотной среде при освещении 80 мкмоль квантов/м²·с в течение 72 часов с момента инкубирования микроводорослей с токсикантом.

Через сутки после инкубации микроводорослей с солями Cd в концентрациях от 10^{-7} до $5 \cdot 10^{-7}$ М значения параметров флуоресценции при открытых и закрытых реакционных центрах увеличивались незначительно по сравнению с контролем. При этом наблюдали увеличение величины нефотохимического тушения в 2 раза по сравнению с контролем. Относительное содержание хлорофилла а, определяемое по значениям оптической плотности на длине волны 678, было заметно ниже, чем через сутки в контрольной суспензии водорослей. Через 72 часа культивирования микроводорослей с солями Cd в концентрациях $5 \cdot 10^{-8}$ – $5 \cdot 10^{-7}$ М значения параметров флуоресценции, величина нефотохимического тушения и относительное содержание хлорофилла не отличались от значений в контрольной культуре. При увеличении концентрации солей Cd до 10^{-6} М значения параметров флуоресценции оставались неизменными в течение 24 часов культивирования. При этом в 4 раза возрастала величина нефотохимического тушения. Через 72 часа культивирования водорослей с солями Cd в концентрации 10^{-6} М значения параметров флуоресценции, нефотохимического тушения и оптической плотности были в 4 раза ниже по сравнению с теми же значениями в необработанной суспензии водорослей. Значения переменной флуоресценции оставались во всех экспериментах высокими и были сравнимы с контрольными. Способность водорослей расти в присутствии токсикантов в среде обусловлена физиологической адаптацией и отбором устойчивых особей. Кроме того, низкие концентрации ионов Cd могут оказывать стимулирующее влияние на рост водорослей.

Работа осуществлена при поддержке РНФ проект № 18-74-00088.

ФИЗИКА ЭНДОТЕРМИИ НА ПРИМЕРЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ЭНЕРГЕТИКИ ПТИЦ**THE PHYSICS OF ENDOTHERMY AS APPLIED TO BIRDS***Гаврилов В.М.*Кафедра зоологии позвоночных и Звенигородская биологическая станция Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, 119992, e-mail: vmgavrilov@mail.ru

Экспериментально установлена зависимость основных параметров энергетики эндотермных животных от температуры среды. Получены зависимости расхода энергии в покое (*SMR*) (при уровне активности $a=0$) и при обычном существовании (*EM*) (при уровне активности $a=1$), в общем виде выражаемые уравнениями:

$$SMR = h_1(T_B - T_A) \quad (1)$$

$$EM = h_{EM}(T_B - T_A) + BMR \quad (2),$$

где h_1 - температурный коэффициент увеличения метаболизма покоя при уменьшении температуры среды (T_A) от нижней критической температуры (T_c) или минимальная теплопроводность птицы в покое, h_{EM} - температурный коэффициент увеличения *EM* при уменьшении температуры среды, T_B - температура тела, *BMR* - базальный метаболизм.

Как показывают данные измерений и минимальный (h_{\min}) и максимальный коэффициенты неспарительной теплопроводности (h_{\max}) изменяются от массы тела сходно, а наклоны линий регрессий у h_{\min} и h_{\max} одинаковы. В то же время h_{\max} приблизительно в 4 раза выше, чем h_{\min} . Получено уравнение:

$$h_{\max}=4h_{\min} \quad (3)$$

Это показывает, что при одной и той же T_A птицы способны увеличивать количество рассеиваемого тепла без усиления испарительной теплоотдачи в 4 раза. На основе этих уравнений удалось однозначно определить всю биофизическую область температурной устойчивости теплокровных животных.

Как только животное переходит из состояния покоя к любой локомоторной активности (т.е. начинает совершать механическую работу), появляется и эффективность перевода метаболической мощности в механическую. Отсюда, в уравнение (2), описывающее тепловой баланс животного при активности, неизбежно входит и эффективность – α , причем с коэффициентом, отражающим уровень активности. Только h_{EM} в выражении $h_{EM}(T_B-T_A)$ может включать в себя эффективность в качестве составной части. Побочная теплопродукция от активности несколько компенсирует терморегуляционные затраты. Поэтому степень изменения теплоотдачи при активности, т.е. при обычном существовании h_{EM} (температурный коэффициент или теплопроводность при активности) ниже, чем степень изменения теплоотдачи в покое – h_1 . Часть энергии, которая частично компенсирует терморегуляционные затраты, зависит от уровня локомоторной активности. При наших измерениях уровень активности равен единице. В покое уровень активности равен нулю. Поэтому уравнение (2) $EM=h_{EM}(T_B-T_A)+BMR$ может быть записано в виде:

$$EM= h_1(1-\alpha)(T_B-T_A)+BMR$$

Решение двух уравнений показывает, что эффективность перевода метаболической мощности в механическую работу может быть найдена из соотношения $\alpha=1-h_{EM}/h_1=0.25$, что согласуется с экспериментальными данными. Дневной энергетический бюджет при любом уровне активности у эндотермного животного может быть описан следующим уравнением:

$$DEE=a h_1 (1-\alpha)(T_B-T_A)+aBMR \quad (4),$$

где DEE – расход энергии за сутки при температурах среды от нижней сублетальной до нижней критической; h_1 – минимальная теплопроводность в покое; a – уровень активности (при $a=0$, $DEE= SMR$, при $a=1$, $DEE=EM$); α – эффективность перевода метаболической мощности в механическую (т.е. во внешнюю работу), $\alpha=0.25$; T_B – температура тела, равная у птиц 38-40°C, у млекопитающих – в среднем 37°C.

Именно из этого, экспериментально установленного для значительного числа видов птиц уравнения следует, что BMR определяет уровень внешней работы (DWO), которую животное может осуществить за сутки. DWO будет равно произведению общего уровня метаболизма (т.е. DEE) на эффективность перевода метаболической энергии в механическую (α), т.е. $DWO= \alpha DEE \cdot \text{day}$ или,

$$DWO=h_1 (1-a \alpha)(T_B-T_A)+a \alpha BMR.$$

Соотношение $h_{\max}/h_{\min}=4$ чисто биологическое изобретение. Оно показывает способность эндотермных животных изменять теплоотдачу в значительной степени за счет регуляции кровотока для нужд терморегуляции, а не только за счет изменения теплопроводности собственно внешних покровов (оперения или шерсти). Это означает, чем больше отношение h_{\max}/h_{\min} , тем совершеннее устроены системы, связанные с циркуляцией крови и дыханием, что, естественно, дает широкие преимущества для любой жизнедеятельности и, в первую очередь, позволяет увеличить активность.

Как следует из экспериментальных данных, повышение BMR приводит к адекватному повышению всех других уровней расхода энергии: максимального потенциального метаболизма существования $MPE=4 BMR$, максимального аэробного метаболизма (MAM) $MAM=16BMR$, расширяет пригодную для жизни область температур среды и дает возможность переносить более низкие температуры, иметь более высокую активность, производить большую работу.

ЭФФЕКТ ИНГИБИТОРОВ БЕЛКОВОГО СИНТЕЗА НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФС II ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ ТЯЖЕЛЛЫХ МЕТАЛЛОВ

EFFECT OF PROTEIN SYNTHESIS BLOCATORS ON PHOTOSYSTEM II ACTIVITIES RECOVERY AFTER WHEAT SEEDLINGS BY HEAVY METALS TREATMENT

Ganiyeva R.A., Atakishiyeva S.A., Bayramova S.A., Agalarov. R.I.¹, Gasanov R.A.¹

Institute of Botany, National Academy of Sciences of Azerbaijan, Badamdar highway, 40, AZ 1004, Baku, Azerbaijan,
E-mail: SevincAtakishiyeva@gmail.com

¹Department of Biophysics and Molecular Biology, Baku State University, acad. Zahid Khalilov st. 23, AZ 1148, Baku, Azerbaijan, E-mail: ra38hasan@gmail.com

The abiotic stresses affect to all plant photosynthesis processes and in response the formation of oxidative stress is observed. The reactive oxygen species generated under oxidative stress, accumulated in chloroplasts influenced in the first turn to activity of photosystem II. Target of reactive oxygen forms is known to be D₁ protein [1, 2]. The given work

envisaged the protein synthesis blockers role in electron transport chain (ETC) surrounding of PS II under oxidative stress induced by Cd^{2+} and Co^{2+} ions [1].

The creation in etioplasts an excess concentration of reactive oxygen species the etiolated seedlings of wheat (*Triticum aestivum* L.) were exposed to separate action of Cd^{2+} and Co^{2+} at toxic concentration ($10^{-3}M$) during 48 hours on dark and 24 hours on light. The analysis of fluorescent characteristics of msec DF of Chl *a* [3, 4] has shown, that activity of PS II ETC declined under presence of seedlings on cultivation medium of Cd^{2+} and Co^{2+} ions.

The Cd^{2+} ions suppressed for the most degree of induction curve fast phase (f.ph) whereas the Co^{2+} ions the slow phase (sl.ph). The f.ph and sl.ph of fluorescence values of relation to stationary fluorescence under action of Cd^{2+} were decreased on 2.3 times and 1.3 times, accordingly. Under action of Co^{2+} ions these parameters were decreased on 1.9 and 3.5 times respectively. For determination of possible restoration of ETC of PS II the experimental samples were placed to cultivation medium of seedlings without content of Cd^{2+} and Co^{2+} ions.

The induction picture of DF Chl *a* shows of restoration of ETC activity. It is manifested in restoration of f.ph DF Chl *a* at significant degree in the case of action of Cd^{2+} ions and slow phase in experiments with Co^{2+} . The treatment of testing seedlings by chloramphenicol the action of relation fast and slow fluorescence to stationary ones was abrupt changed. The lincomycin action has another character relatively to chloramphenicol. The value of ratio fast and slow fluorescence to stationary fluorescence was obtained to decreased only at experiments under action of Co^{2+} ions after 24 hours adaptation. Effect of lincomycin under presence of Cd^{2+} has been shown to be unpronounced and remained on the level restoration observed under location of seedlings to water medium without Cd^{2+} ions. The assumption is made that chloramphenicol, suppressing resynthesis of D_1 protein *de novo*, destructed by reactive oxygen forms, generated by active heavy metals, lead to disbalance between inactivation of reaction centers of PS II and new centers synthesis.

1. Gaziyeu A. et al. Molecular operation of metals into the function and state of photosystem II // *Metallomics*. 2011. Vol. 3. P. 1362–1367.
2. Allakhverdiev S.I., Murata N. Environmental stress inhibits the synthesis *de novo* of proteins involved in the photodamage-repair cycle of Photosystem II in *Synechocystis* sp. PCC 6803 // *Biochim. Biophys. Acta*. 2004. Vol. 1657. №1. P. 23-32.
3. Goltsev V. et al. Kinetics of delayed chlorophyll *a* fluorescence registered in milliseconds time range // *Photosyn. Res.* 2005. Vol. 84. P. 209-215.
4. Gasanov R.A. et al. Delayed Fluorescence in a Millisecond Range – a Probe for Donor Side-Induced Photoinhibition in Photosystem II // In: *Photosynthesis: Overviews on Recent Progress and Future Perspectives*, (Eds: Guruprasad K.N., Itoh S., Mohanty P.) Narosa Publishing House, New Delhi. 2012. Chapter 7. P. 101-107.

ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ РАЦИОНА ЗООПЛАНКТОНА НА СОСТОЯНИЕ ПЛАНКТОННОГО СООБЩЕСТВА

EFFECTS OF ZOOPLANKTON DIET ON THE PLANKTON COMMUNITY

Гуричева Е.Е.

Институт автоматизации и процессов управления ДВО РАН, г. Владивосток,
Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток,

В моделях морских экосистем на протяжении многих лет основным компонентом в трансформации вещества от фитопланктона к более высоким трофическим уровням считались копеподы [1, 2]. Однако, в последние годы было показано, что учет в модели именно микрозоопланктона, как важного звена в трофической цепи фитопланктон – копеподы, позволил получить реальную картину цветения фитопланктона [3]. Выедание микрозоопланктона мезозоопланктоном уменьшает давление на фитопланктон [4, 5], поэтому включение его в модель рассматривается как биологический фактор управления цветением фитопланктона.

Однако, микрозоопланктон является для копепод не только жертвой, но и конкурентом. В некоторых моделях планктонных сообществ не учитывается этот факт, а рассматривается потребление копеподами только микрозоопланктона. Влияние же крупного зоопланктона на фитопланктона осуществляется опосредованно, через мелкий. Вместе с тем, рацион копепод состоит из растительной и животной пищи, их соотношение зависит от их относительной доступности [6, 7].

В представленной работе рассматривается математическая модель планктонного сообщества, включающего фитопланктон, микрозоопланктон и мезозоопланктон (копеподы). Трофическая функция копепод зависит от биомассы фитопланктона и микрозоопланктона с весовыми коэффициентами, определяющими доли жертв в рационе хищника. В работе анализируется влияние этих долей, а также констант полунасыщения зоопланктона на динамику популяций.

Численный анализ модели показал, что при малых значениях константы полунасыщения копепод и емкости среды для фитопланктона микрозоопланктон вытесняется из сообщества при любой структуре рациона мезозоопланктона. С ростом предельной нагрузки фитопланктона на среду возможно устойчивое сосуществование всех трех популяций, если основу рациона мезозоопланктона составляет фитопланктон. С

увеличением константы полунасыщения мезозoopланктона при любом его рационе устойчиво сосуществуют три популяции. Если же емкость среды для фитопланктона невелика, а доля его в рационе копепод выше доли микрзоопланктона, то мезозoopлнктон не выдерживает конкуренции с микрзоопланктоном и вымирает. Копеподы могут вытеснить микрзоопланктон из системы лишь при высоких значениях его константы полунасыщения.

Анализ модели выявил влияние структуры рациона копепод на возникновение мультирежимности в системе. Если доля растительной пищи мала по сравнению с животной, то в сообществе возможна реализация одного из устойчивых динамических режимов в зависимости от начального состояния системы. При этом вариант с высокой плотностью микрзоопланктона возможен лишь для небольшой области начальных данных. В остальных вариантах либо микрзоопланктон полностью вытеснен из системы копеподами, либо присутствует в небольшом количестве.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 18-01-00213).

1. Franks P.J.S, Walstad L.J. Phytoplankton patches at fronts: a model of formation and response to wind events // Journal of Marine Research. 1997. Vol. 55(1). P. 1-29.
2. Wroblewski J, Sarmiento J.L., Flierl G.R. An Ocean Basin Scale Model of plankton dynamics in the North Atlantic: 1. Solutions For the climatological oceanographic conditions in May // Global Biogeochemical Cycles. 1988. Vol. 2. P. 199-218.
3. Edwards C. A., Batchelder H.P., Powell T.M. Modeling microzooplankton and macrozooplankton dynamics within a coastal upwelling system // Journal of Plankton Research. 2000. Vol. 22(9). P. 1619-1648.
4. Fileman E., Petropavlovsky A., Harris R. Grazing by the copepods *Calanus helgolandicus* and *Acartia clausi* on the protozooplankton community at station L4 in the Western English Channel // Journal of Plankton Research. 2010. Vol. 32(5). P. 709-724.
5. Hansen F.C., Reckermann M., Klein Breteler W.C.M., Riegman R. Phaeocystis blooming enhanced by copepod predation on protozoa - Evidence from incubation experiments // Marine Ecology-progress Series. 1993. Vol. 102. P. 51-57.
6. Kleppel G.S. On the diets of calanoid copepods // Marine Ecology-progress Series. 1993. Vol. 99. P. 183-195.
7. Rivkin R.B., Putland J.N., Anderson M.R., Deibel D. Microzooplankton bacterivory and herbivory in the NE subarctic Pacific // Deep-Sea Research II. 1999. Vol. 46. P. 2579-2618.

ФИЗИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ В ПРОЦЕССЕ РАЗВИТИЯ СЛУХА И АКУСТИЧЕСКИ НАПРАВЛЯЕМОГО РАННЕГО ПОВЕДЕНИЯ ПТИЦ

PHYSICAL FACTORS IN THE PROCESS OF THE DEVELOPMENT OF THE HEARING AND ACOUSTICALLY GUIDED EARLY BEHAVIOR OF BIRDS

Голубева Т.Б.

Кафедра зоологии позвоночных Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва
tbgolubeva@list.ru

Развитие слуха и акустически направляемого поведения эндотермных животных подчиняется общебиологическим законам созревания функциональных систем, прежде всего законам системогенеза. В осуществлении этих законов в развивающейся слуховой системе большую роль играют физические факторы. Можно выделить следующие основные физические факторы применительно к развитию слуха и акустически управляемого поведения.

Слух появляется, когда длина слухового эпителия эмбриона составляет около половины длины взрослого эпителия, поэтому в это время влияния физических факторов связаны с иной, чем у взрослых, механикой улитки, иным распространением бегущей волны, и иным взаимодействием колебаний базальной и текториальной мембран. Об этом свидетельствует другая, чем у взрослых, ориентация волосковых клеток (ВК) в улитке при появлении слуха. С увеличением длины улитки увеличивается диапазон воспринимаемых частот и изменяется ориентация ВК, в чем важнейшую роль играет киноцилия. Градиенты созревания ВК сенсорного эпителия улитки меняются в течение онтогенеза. В дофункциональный период имеет место апикально-базальный градиент их дифференцировки, затем из области границы базального и средне-апикального отделов возникает базально-апикальный градиент, а в базальном отделе остается градиент в сторону базального конца. ВК начинают функционировать при небольшом количестве стереоцилий, что обеспечивает появление слуха в относительно узком диапазоне частот (у выводковых это происходит в середине инкубационного периода, у птенцовых - при вылуплении). С возрастом количество стереоцилий на каждой ВК увеличивается. У взрослых птиц в базальном конце улитки число стереоцилий достигает 200-300, а в апикальной составляет чуть больше 10. Верхняя граница воспринимаемого диапазона (F_u) в развитии птенцов мухоловки-пеструшки экспоненциально зависит от максимального числа стереоцилий (nSt) с экспонентой 3,28: $F_u = 9e^{-8} nSt^{3,28}$

($R^2=0,98$). Для определения корреляции между физическими свойствами пучка стереоцилий и частотой настройки использовали «морфологический фактор» n/h^2 - число стереоцилий, деленное на квадрат максимальной их длины [1]. Высота пучка стереоцилий в базальной части улитки у взрослых на большом протяжении (до 40-50%) остается неизменной и самой короткой во всем слуховом эпителии, поэтому при исследовании настроенных на высокую частоту ВК этим параметром можно пренебречь.

Воздействие звука является необходимым фактором развития слуха. Акустическая стимуляция в пределах, не вызывающих повреждение сенсорного эпителия, ускоряет развитие определенных ВК, улитки и всего организма, приводит к понижению порога слуха на частоте озвучивания. В естественных условиях эту стимуляцию обеспечивает собственная вокализация и вокализация родителей и сиблингов, последняя ведет к акустическому импринтингу и синхронизации развития (вылупления у выводковых и вылета из гнезда у птенцовых). Отсутствие акустической стимуляции катастрофически тормозит развитие слуховой чувствительности.

В развитии слуха существенную роль играет развитие эндотермии, а именно установление эффективной терморегуляции, после чего температура тела птенца не зависит от температуры среды в обычных для птенца условиях и держится выше 37°C . Постоянная температура тела приводит к стабильному, независимому от температуры среды, функционированию волосковых клеток, нейронов кохлеарного ганглия и всей нервной системы, укорочению и стабилизации латентных периодов. Высокая температура позволяет также развиваться базальному отделу слухового эпителия, поскольку настроенные на высокую частоту ВК особенно чувствительны к температуре (и кислородному снабжению). У ряда выводковых птиц, например, куриных, процесс установления эффективной терморегуляции растянут, птенцам необходим обогрев родителем. У незрелорождающихся птенцовых (мухоловки-пеструшки) низкая температура внешней среды в первые 4 суток после вылупления, несмотря на постоянное насиживание самкой, прерываемое для кормления, ведет к более раннему появлению предметного зрения, и, поскольку и акустический импринтинг частотно-временных и частотно-амплитудных характеристик сигнала, и появление предметного зрения, приурочены к моменту установления эффективной терморегуляции, к более раннему акустическому импринтингу.

Работа поддержана грантом РФФИ (проект № 17-06-00404).

1. Corfield J., Kubke M.F., Parsons S., Wild J. M., Köppl C. Evidence for an Auditory Fovea in the New Zealand Kiwi (*Apteryx mantelli*) // PLoS ONE. 2011. 6(8): e23771. doi:10.1371/journal.pone.0023771.

ФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ ХЛОРОФИЛЛА В ОПРЕДЕЛЕНИИ ВЛИЯНИЯ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОЗДУШНОЙ СРЕДЫ НА ЗИМНИЙ ПОКОЙ РАСТЕНИЙ

CHLOROPHYLL FLUORESCENCE IN DETERMINING THE EFFECT OF AIR POLLUTION ON WINTER DORMANCY OF PLANTS

Григорьев Ю.С., Гаевский Н.А., Пахарькова Н.В., Сорокина Г.А.

Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, e-mail: gr2897@gmail.com

Переход растений от активной вегетации к зимнему покою сопровождается значительными перестройками в фотосинтезирующих клетках: меняются количество и соотношение фотосинтетических пигментов, структура фотосинтетического аппарата, увеличивается фракция ненасыщенных жирных кислот в мембранах, повышается концентрация криопротекторов в цитоплазме. В результате растения способны избежать повреждения клеток низкими отрицательными температурами и минимизировать потерю воды в зимний период [1].

В ранее выполненных исследованиях установлено, что особенности структурной организации хлоропластов можно определить на основе регистрации температурной зависимости нулевого уровня флуоресценции хлорофилла (Φ_0) [2]. Показано, что при постепенном нагревании хвои, листа или тканей феллодермы в диапазоне $25-75^\circ\text{C}$ кривая зависимости Φ_0 от температуры в период активной вегетации характеризуется двумя максимумами при температурах $45-50$ и $60-65^\circ\text{C}$. Низкотемпературный максимум указывает на снижение эффективности захвата реакционным центром ФС-2 энергии от светособирающего комплекса. Высокотемпературный максимум в основном принадлежит ФС-1 [2]. Отношение амплитуд низко- и высокотемпературного пиков у активно вегетирующих растений обычно составляет 2-3 единицы.

Термоиндуцируемые изменения нулевого уровня флуоресценции (ТИНУФ) у содержащих хлорофилл тканей феллодермы и хвои в зимний период кардинально отличается от ТИНУФ в летний период [3]. Зимой, когда растение находится в состоянии вынужденного покоя, низкотемпературный пик исчезает, а высокотемпературный пик увеличивается по амплитуде и смещается к $70-75^\circ\text{C}$. При этом, отношение флуоресценции в области летнего низкотемпературного максимума (50°C) к флуоресценции при $70-75^\circ\text{C}$ снижается до 0,2-0,3 единиц. Отсутствие низкотемпературного пика объясняют особым состоянием фотосинтетического аппарата в зимний период, при котором развиваются процессы, защищающие хлорофилл-белковые комплексы от фоторазрушения [2, 3]. Флуоресценция в области 75°C испускается, по-видимому,

всеми хлорофилл-белковыми комплексами после усиления их взаимодействия с липидной фазой мембран тилакоидов [3]. Осенью при переходе в состояние зимнего покоя отношение максимумов постепенно снижается, а весной при выходе из него увеличивается. Таким образом, величину отношения интенсивности флуоресценции в низко- и высокотемпературном пиках ТИНУФ можно использовать в качестве показателя глубины зимнего покоя [3].

С использованием разработанного многоканального флуориметра «Фотон 11 (производитель ООО «СФУ-Система»)), нами показано, что растения в загрязненных местах обитания позднее уходят в состояние зимнего покоя [4]. При этом глубина зимнего покоя у них заметно ниже, чем у растений из чистых районов произрастания. Данный факт был подтвержден в экспериментах, в которых ветки растений из экологически неблагоприятных территорий, собранные в зимний период и перенесенные в условия лаборатории, быстрее выходили из состояния зимнего покоя. По сравнению с ними величина отношения температурных максимумов ТИНУФ хвои и феллодермы растения из чистых районов медленнее увеличивалась при их выведении из состояния зимнего покоя, а его значение было всегда ниже, чем у растений из промышленных зон. Оба этих факта свидетельствуют о том, что в условиях загрязнения атмосферы растения не могут полностью перейти в состояние глубокого зимнего покоя. Это приводит к их повреждению в холодный период года. Также, в условиях загрязнения растения могут повреждаться и весной, в результате преждевременного выхода из состояния зимнего покоя после кратковременных оттепелей [5].

1. Oquist G., Huner N.P.A. Photosynthesis of overwintering evergreen plants // *Annu. Rev. Plant Biol.* 54. (2003). P. 329–355
2. Schreiber U., Berry J. Heat-induced changes of chlorophyll fluorescence in intact leaves correlated with damage of the photosynthetic apparatus // *Planta.* 1977. 136(3). 233-238.
3. Гаевский Н.А., Сорокина Г.А., Гольд В.М., Миролюбовская И.В. Сезонные изменения фотосинтетического аппарата древесных и кустарниковых растений // *Физиология растений.* 1991. Т. 38. Вып. 4. С. 685-692.
4. Григорьев Ю.С., Пахарькова Н.В. Влияние техногенного загрязнения воздушной среды на состояние зимнего покоя сосны обыкновенной // *Экология.* 2001. № 6. С. 471 – 473.
5. Pakharkova N.V., Heilmeyer H., Gette I.G., Andreeva E.B., Grachev A.M., Gaevskiy N.A., Grigoriev Yu.S. // *Quantitative characteristics of the phases of winter dormancy of conifer species at a site in Central Siberia.* *Braz. J. Bot* (2016). 39(4). P. 1005–1014.

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СИГНАЛЫ РАСТЕНИЙ И ИХ РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ УСТОЙЧИВОСТИ К СТРЕССОРАМ СРЕДЫ

EFFECTS OF CHRONIC RADIATION ON PLANT ELECTRIC SIGNALS AND THEIR ROLE IN FORMATION OF RESISTANCE TO ENVIRONMENTAL STRESSORS

Гринберг М.А., Громова Е.Н.¹, Гудков С.В.^{1,2}, Воденев В.А.¹

ННГУ им. Н.И. Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23, E-mail: *mag1355@yandex.ru*

¹ ННГУ им. Н.И. Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

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

При изучении действия ионизирующей радиации на растения наибольший интерес представляют эффекты хронического облучения в малых дозах. В природной среде этот режим облучения встречается, например, после радиационных катастроф. Так, окрестностях зоны Чернобыльской катастрофы естественный радиационный фон, составляющий в среднем 0,1-0,2 мкГр/час, до сих пор повышен в десятки и сотни раз достигая значений 400 мкГр/час и более [1]. При изучении эффектов ионизирующего излучения на растения в первую очередь уделяется внимание изменению морфометрических показателей и активности отдельных физиологических процессов. Однако, влияние радиации на различные сигнальные системы лишь начинает изучаться. Этот аспект особенно важен при анализе сочетанного действия радиации и других стрессовых факторов среды. Единичные работы, появляющиеся в последние годы, свидетельствуют о том, что растения, растущие на загрязнённых радионуклидами территориях, иначе адаптируются к аномальным (слишком жарким или холодным) погодным условиям [2]. Возможной причиной может быть влияние радиации на стрессовые сигналы, которые в норме активируют адаптационные механизмы. Одним из значимых дистанционных стрессовых сигналов растений, возникающих в ответ на быстросрастающие факторы среды, является переменный потенциал (ВП) – один из видов электрических сигналов растений. Он возникает в ответ на изменение температуры, влажности, атаку листогрызущих насекомых [3]. Предполагается, что за счёт изменения редокс-статуса клеток и проницаемости мембраны для отдельных ионов [4], хроническое ионизирующее излучение способно модифицировать параметры ВП и вызываемых им функциональных ответов.

Исследования проводились на 15-дневных проростках пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.). В качестве источника ИИ использовался β -излучатель ^{90}Sr - ^{90}Y с активностью 0,1 МБк, мощность дозы составляла

примерно 31,3 мкГр/час. Облучение производилось на протяжении всего периода выращивания растений. Максимальная накопленная доза составляла около 11,3 мГр. Параметры индуцированного нагревом электрического сигнала регистрировались внеклеточно с использованием многоканальной макроэлектродной установки. Активность фотосинтеза и интенсивность транспирации измерялись при помощи инфракрасного газоанализатора и РАМ-флуориметра. Устойчивость растений к тепловому шоку определялась по остаточной фотосинтетической активности.

В ходе работы было обнаружено существенное возрастание амплитуды и скорости распространения индуцированного нагревом ВП. Длительность сигнала при этом не изменяется. Показано, что у облучённых растений сигнал значительно медленнее затухает по мере удаления от зоны раздражения. Ответ основных фотосинтетических параметров на ВП у облучённых растений также становится более интенсивным. При прохождении ВП под действием радиации происходит существенное усиление подавления ассимиляции (А) – интегрального показателя фотосинтеза. Уровень транспирации (Е) изменяется аналогичным образом. Из параметров световой стадии наибольшей модификации подвергается квантовый выход фотосистемы 2 (Y(II)), в то время как ответы на ВП нефотохимического тушения флуоресценции (NPQ) и квантового выхода фотосистемы 1 (Y(I)), напротив, не претерпевают значительных изменений. Ответы фотосинтеза на ВП способствуют формированию устойчивости к последующему действию неблагоприятных факторов, что было продемонстрировано нами при последовательном воздействии на растения локального нагрева (вызывающего ВП) и тотального теплового шока. Однако, у облучённых растений предварительное прохождение ВП, напротив, нарушает формирование устойчивости к прогреву, о чём свидетельствует наблюдаемый у них более низкий уровень фотосинтетической активности после теплового шока.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 19-04-01141_A).

1. Smith J.T. et al. Low dose ionizing radiation produces too few reactive oxygen species to directly affect antioxidant concentrations in cells // *Biol Lett*. 2012. Vol. 8. P. 594–597.
2. Pozolotina V.N., Antonova E.V. Temporal variability of the quality of *Taraxacum officinale* seed progeny from the East-Ural radioactive trace: is there an interaction between low level radiation and weather conditions? // *Int J Radiat Biol*. 2016. Vol. 93(3). P. 330–339.
3. Vodeneev V.A. et al. Electrical Signals in Higher Plants: Mechanisms of Generation and Propagation // *Biophysics*. 2016. Vol. 61, №3. P. 505–512.
4. Gudkov S.V. et al. Effect of ionizing radiation on physiological and molecular processes in plants // *J Environ Radioact*. 2019. Vol. 202. P. 8–24.

АНАЛИЗ СВЯЗИ МЕЖДУ НЕФОТОХИМИЧЕСКИМ ТУШЕНИЕМ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА И ФОТОХИМИЧЕСКИМ ИНДЕКСОМ ОТРАЖЕНИЯ (PRI) У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

AN ANALYSIS OF CONNECTION BETWEEN A NON-PHOTOCHEMICAL QUENCHING OF CHLOROPHYLL FLUORESCENCE AND A PHOTOCHEMICAL REFLECTANCE INDEX (PRI) IN HIGER PLANTS

Громова Е.Н., Сухова Е.М., Хлопков А.Д., Юдина Л.М., Неруш В.Н., Воденев В.А., Сухов В.С.

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

Одной из ключевых тенденций, направленных на повышение урожайности сельскохозяйственных угодий, является развитие так называемого «точного земледелия», т.е. комплекса мероприятий по управлению урожаем растений, которые учитывают роль пространственного распределения состояния растений. Базовой составляющей такого земледелия является регулярный мониторинг состояния растения, позволяющий осуществить своевременное выявление и идентификацию действия на растения неблагоприятных факторов. Мульти- и гиперспектральный имиджинг является одним из наиболее перспективных инструментов такого мониторинга. Существует ряд спектральных индексов – нормализованный вегетационный индекс (NDVI), индекс хлорофиллов (CI), фотохимический индекс отражения (PRI) и другие – которые позволяют оценить фотосинтетические процессы. Особый интерес среди таких индексов вызывает PRI, который связан с переходами в ксантофилловом цикле и показывает развитие стрессовых изменений в фотосинтетическом аппарате. Однако, эффективность применения PRI для оценки стрессовых ответов фотосинтеза (прежде всего – роста нефотохимического тушения, NPQ) может значительно варьировать; она зависит от условий измерения, исходного физиологического состояния растений, интенсивности действующих стрессоров и другого. Таким образом, оценка эффективности применения PRI в условиях действия различных стрессовых факторов и поиск подходов к повышению такой эффективности является актуальной прикладной задачей, требующей широкого использования подходов из биофизики и физиологии растений. Целью настоящей работы стал анализ связи между PRI и NPQ в условиях избыточного освещения, почвенной засухи и повышенной температуры, а также поиск условий, при которых показатели фотохимического индекса отражения смогут быть эффективно использованы для оценки стрессового ответа фотосинтетического аппарата.

Объектами исследования служили 2-3-недельные проростки гороха, пшеницы и тыквы, выращенные в контролируемых условиях. Почвенная засуха достигалась прекращением полива; действие повышенной температуры осуществляли путем нагрева растений в термостате. Оценку общей величины PRI в области листа осуществляли с использованием спектрометров (S100, Солар ЛС, Беларусь, и Flame, Ocean Optics, США); оценку пространственного распределения фотохимического индекса отражения осуществляли с использованием специализированной системы, разработанной коллективом совместно с Институтом прикладной физики (Нижний Новгород, Россия). Оценку общей величины NPQ осуществляли с использованием ПАМ-флуориметра Dual-ПАМ-100 (Walz, Германия); оценку пространственного распределения осуществляли с использованием системы ПАМ-имиджинга - Open FluorCam FC 800-O (Photon System Instruments, Чехия). Dual-ПАМ-100 и Open FluorCam FC 800-O использовали также для обеспечения освещения растений светом высокой интенсивности.

Исследования, проведенные без анализа пространственного распределения PRI и NPQ, показали, что повышение интенсивности освещения, развитие засухи и действие высокой температуры приводит к снижению фотохимического индекса отражения и к увеличению нефотохимического тушения флуоресценции у исследованных объектов. В то же время, абсолютная величина PRI была слабо связана с величиной NPQ и существенно варьировала в различных экспериментах; т.е. возможность использования абсолютной величины фотохимического индекса отражения для оценки стрессированности фотосинтетического аппарата является достаточно ограниченной. Иная картина наблюдалась при использовании Δ PRI, т.е. изменения фотохимического индекса, которое развивалось в условиях освещения исследуемого листа. Применение всех исследованных стрессоров вызывало увеличение абсолютной величины Δ PRI, которое было линейно связано с увеличением NPQ у исследованных растений. Связь фотохимического индекса отражения с нефотохимическим тушением при различных стрессовых воздействиях хорошо описывалась сходными линейными уравнениями, что показывает возможность построения единой регрессионной модели для оценки выраженности стрессового ответа фотосинтетического аппарата на основе измерения фотохимического индекса отражения. Далее был проведен анализ связи исследованных показателей в условиях измерения их пространственного распределения. В качестве объекта этого блока исследований использовали только проростки гороха. Было показано, что изменения условий измерения не влияло на получаемые результаты: связь NPQ и абсолютной величины PRI была достаточно слабой; в то же время, между нефотохимическим тушением и Δ PRI наблюдалась выраженная линейная связь. Более того, коэффициенты линейной регрессии в этом блоке экспериментов были также достаточно близки к аналогичным коэффициентам, полученным в ходе предыдущего блока работ.

Таким образом, Δ PRI является достаточно эффективным инструментом для оценки стрессового ответа фотосинтетического аппарата у сельскохозяйственных растений; при этом, линейные регрессионные функции могут быть использованы для описания количественной связи между показателями.

Работа была выполнена при поддержке Российского научного фонда (Проект №17-76-20032)

ДИНАМИКА ПОПУЛЯЦИИ ФИТОПЛАНКТОНА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ИОНОВ Cu

DYNAMICS OF PHYTOPLANKTON POPULATION UNDER THE EXPOSURE OF Cu IONS

А. А. Губарев, С.В. Чуфицкий, В.В. Перебийнос, Б.А. Готин
Донецкий национальный университет (Gubarev_A_A@mail.ru)

Многие существующие модели, описывающие динамику численности популяции в присутствии токсиканта, имеют вид системы обыкновенных дифференциальных уравнений первого порядка, задающей изменение плотности численности особей популяции, концентрацию токсиканта в среде и концентрацию токсиканта в организмах популяции. Вид правых частей известен приближённо. Основное внимание в работах направлено на исследовании состояний покоя и выживаемости популяции [1, 2]. Для проверки применимости модели желательно иметь достаточно простую модель, допускающую оценку параметров по экспериментальным данным.

Упрощённая модель, в которой рассматривается только плотности численности n и концентрации токсиканта m (на промежутке времени, достаточно малом, чтобы можно было пренебречь изменением лимитирующего рост особей популяции ресурса) можно записать в виде системы уравнений и начальных условий

$$\dot{n} = (a - \sigma m)n, \quad \dot{m} = -cnm, \quad n(0) = n_0, \quad m(0) = m_0. \quad (1)$$

Здесь предполагается, что изменение концентрации токсиканта в среде вызвано только его поглощением клетками. После гибели клеток токсикант не возвращается в среду (приближение бесконечно длительного лизиса.)

При помощи замены $n = \tilde{n}a/c$, $m = \tilde{m}a/\sigma$, $t = \tau/b$ система (1) сводится к системе (не содержащей параметры)

$$d\tilde{n}/d\tau = (1 - \tilde{m})\tilde{n}, \quad dm/d\tau = -\tilde{n}\tilde{m}, \quad \tilde{n}(0) = \tilde{n}_0, \quad \tilde{m}(0) = \tilde{m}_0. \quad (2)$$

Если $\tilde{n}_0 < \tilde{n}_0^c$, где $\tilde{n}_0^c \equiv \tilde{m}_0 - 1 - \ln \tilde{m}_0$, то n стремится к нулю (популяция вымирает, а m стремится к некоторому конечному пределу). Если $\tilde{n}_0 > \tilde{n}_0^c$, то, возможно после промежутка времени убывания, плотность популяции возрастает (а концентрация токсиканта стремится к нулю).

Для проверки и применения данной модели необходим способ оценки параметров по экспериментальным данным. При этом, в связи с трудностью измерения концентрации токсиканта как функции времени, желательно, чтобы оценки параметров использовали только значения плотности в некоторые моменты времени. Для оценки параметров предлагается использовать следующую методику, состоящую из двух экспериментов. В одном эксперименте измеряется зависимость плотности от времени в отсутствие токсиканта и по результатам оценивается параметр a . Во втором эксперименте измеряется зависимость в присутствии токсиканта. Если параметр a мал, то система (1) имеет приближённое решение

$$n(t) = \frac{(a + kn_0 - \sigma m_0)n_0}{kn_0 + (a - \sigma m_0)\exp(-(a + k - \sigma m_0)t)}, \quad k \equiv \frac{\alpha}{\sigma - a/m_0}. \quad (3)$$

Используя найденную по результатам первого эксперимента оценку параметра a , по результатам второго эксперимента оцениваются при помощи (3) параметры σ и c .

Данная методика сначала была проверена на синтетических данных: в качестве экспериментальных данных использовались значения $z_i = n(t_i) + \varepsilon_i$, где t_i — моменты времени, ε_i — значения независимых и одинаково нормально распределённых случайных величин с нулевым математическим ожиданием (ε_i моделировала погрешности эксперимента), $n(t_i)$ — решение (1), полученное численным интегрированием, в момент времени t_i . Для малых значений a и стандартного отклонения ε вероятность ошибочного предсказания вымирания популяции, когда в силу модели (1) она выживает, достаточно мала. Однако ошибка быстро растёт при увеличении значения параметра a .

Применение данной методики к оценке параметров двух альгологически чистых культур *Chlorella ellipsoidea* и *Scenedesmus quadricauda* позволило получить аппроксимации, согласующиеся с экспериментальными данными в пределах погрешности, хотя аппроксимация (3) воспроизводила не все особенности экспериментальных данных. (Культивирование проходило при температуре 22°C. Концентрация CuSO_4 равнялась двум предельно допустимым дозам. Подсчет числа клеток выполнялся при помощи камеры Горяева.) Найденные значения оценок показывают, что скорость поглощения токсиканта более мелкими водорослями *Chl. ellipsoidea* выше, чем скорость поглощения более крупными *S. quadricauda*.

1. Zhihen M., Guirong C., Wendi W. Persistence and extinction of population in polluted environment. // Mathematical biosciences, 1990, Vol. 101, P. 75–97.
2. Liu J., Wei F., Geritz S.A.H. Effects of a toxicant on a single-species population with partial pollution tolerance in a polluted environment. // Ann. of Appl. Math., 2016, Vol. 32, N 3, P. 266–274.

ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ СЫВОРОТКИ КРОВИ КАК ЭКСПРЕСС МЕТОД ДЛЯ ОЦЕНКИ НИТРИТНОЙ ТОКСИЧНОСТИ

CHEMILUMINESCENCE OF SERUM AS AN EXPRESS METHOD FOR THE EVALUATION OF NITRITE TOXICITY

Гүлиева Р.Т., Магеррамова С.М., Гусейнова С.Я., Яхъяева Ф.Р., Гусейнов Т.М.

Институт Биофизики НАН Азербайджана, Баку, Азербайджан. ruhiyya.guliyeva@yahoo.com

Нитриты широко используются в аграрной и пищевой промышленности и могут угрожать здоровью населения, что делает актуальным изучение влияния обогащения нитритами организма на окислительные процессы на всех уровнях организации.

Целью исследования является мониторинг хода окислительных процессов в изолированных эритроцитах и сыворотке крови при различных дозах нитрита натрия (NaNO_2 , 0,07; 0,70; 7,00 мМ).

Были использованы образцы крови от 40 здоровых лиц (эритроциты, сыворотка крови). Образцы крови, инкубировались с NaNO_2 , с конечной концентрацией 0,07; 0,70; 7,00 мМ. Изучались накопления дериватов Нб в суспензиях и лизатах эритроцитов и сыворотке крови, накопление продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), осмотический гемолиз и интенсивность хемилюминесценции (модель ХЛ, люминол) в лизатах и сыворотке крови. При всех концентрациях NaNO_2 , в первые 10 минут инкубации (37 °С), MetHb значительно повышался. Содержание MetHb при 0,07 мМ по сравнению с контролем (MetHb 3%) составило 100%; 0,70 мМ 300%; 7,00 мМ увеличился на 500%. Инкубирование лизатов с NaNO_2 с конечной концентрацией в 7,00 мМ приводило к появлению гемихрома (Hi) и нитрозо-MetHb. Осмотическая резистентность изучалось при 10-ти и

20-минутной инкубациях, при этом величина гемолиза составляет 20%; 60; 100% (при 20 минутах) соответственно. Что касается накопления ТБК активных продуктов, то в эритроцитах оно уменьшается под действием 0,07 мМ нитрита, заметно не изменяется при 0,70 мМ и увеличивается на 100% при 7,00 мМ. Продукты перекисного окисления липидов в сыворотке крови соответственно на 15, 25 и 50% выше, тогда как интенсивность ХЛ в сыворотке выше чем в контроле на 50 - 100%. Интенсивность ХЛ в сыворотке крови инкубированной с нитритами существенно в 2-3 раза выше, чем в лизате эритроцитов.

Из представленных данных можно заключить, что сывороточный материал крови дает более выраженную картину окислительного повреждения, чем эритроцитарный, что делает возможным рассматривать ХЛ сыворотки как удобный экспресс метод оценки нитритной окислительной токсичности.

ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ЛИСТОВОЙ ПЛАСТИНЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ ТЕХНОГЕННОГО ФАКТОРА

CHANGE OF MORPHOMETRIC PARAMETERS OF SHEET PLATE UNDER THE ACTION OF THE TECHNOGENIC FACTOR

Гурова Н.Н.¹, Дигурова И.И.²

¹Сибирский федеральный университет, Красноярск, nina-guro@mail.ru

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, Москва, digurova56@mail.ru

Объективная оценка результатов эксперимента подразумевает не только их обычную статистическую обработку, но и применение альтернативных математических методов, направленных на возможное обнаружение скрытой информации. В совокупности это обеспечивает надежную интерпретацию, особенно в крупных массивах данных. Например, в современных биологических исследованиях широко используется кластерный анализ, относящийся к *datamining* и позволяющий классифицировать элементы совокупности [1, 2]. Так, после ортостатического 45-минутного стресса у крыс, не было отмечено статистически значимых изменений показателей клеточной реологии по сравнению с исходными цифрами. Однако с помощью иерархического дивизимного метода (*Divisive Analysis*), позволяющего получить последовательность расщепляющих групп, были получены различия, которые выявили как адаптационные изменения индексов агрегации и деформируемости эритроцитов, направленных, вероятно, на оптимизацию кровотока в условиях действия стрессового фактора [2]. Для сравнения трех или более выборок можно использовать непараметрический критерий Краскела-Уоллиса, который проверяет нулевые гипотезы, согласно которым различные выборки были взяты из одного и того же распределения, или из распределений с одинаковыми медианами.

Реакция древесных растений на токсические воздействия в техногенной среде позволяет оценить глубину экологической проблемы и выявить возможные адаптационные изменения. В наших исследованиях анализу были подвергнуты результаты, полученные при изучении в зоне воздействия в течение четверти века Ачинского нефтеперерабатывающего завода видимых признаков возможного повреждения древесных растений. К таким признакам относятся морфометрические параметры наиболее чувствительного органа растений – зеленого листа. Измерения периметра и площади листовой пластины березы повислой, *Betula pendula Roth.*, были проведены в августе на трех разных экотонах: опушках леса, ближней (500 м от факела) (n=249) и дальней по отношению к источнику загрязнения (n=138), а также на удаленном фоне в 13,5 км от факела (контроль) (n=460). Периметр и площадь листьев определялись с помощью Программы для анализа изображений *Digimizer V 3.7.1*. Результаты свидетельствовали об отсутствии статистически значимых сдвигов исследуемых показателей в зонах возможного загрязнения, как между разными опушками, так и по сравнению с контрольными значениями [3]. Этот факт заставил предполагать либо отсутствие выбросов, либо наличие полной устойчивости этих пород к таковому загрязнению. Однако, экспресс-оценка результатов по всем трем участкам с помощью диаграмм *Box-and-Whisker-Plot*, компактно изображающих распределение вероятностей, позволила предположить наличие изменений производных морфометрических характеристик листовых пластин на разных точках трансекты. С наветренной стороны диапазон колебаний периметра был сужен в 1,7 раза, а площади – в 2,2 раза по сравнению с фоновыми значениями. В ходе применения критерия Краскела-Уоллиса была отклонена нулевая гипотеза о том, что площадь и периметр листовой пластины являются одинаковыми для изучаемых площадок. При проведении кластеризации решение о числе кластеров принималось на основании визуальной оценки данных и личного опыта. При разбиении на 3-5 кластеров значения площади листа ниже контрольной медианы имели с наветренной стороны (85-100%) листьев, с подветренной – (72 - 95%). Периметр ниже фоновой медианы имели 85% листьев на ближней к факелу опушке. При разбиении на 3 кластера на фоновом участке наибольшее число объектов (43%) относилось к кластеру со средним значением площади листовой пластины 16,3 см², в то время как с наветренной стороны 44% листьев относились к кластеру со средним значением 12,6 см². Это согласуется с данными литературы об уменьшении исследуемых показателей в ответ на загрязнение среды [4]. Полученные результаты могут быть расценены как реакция на

продолжительное стрессовое воздействие, возможно, направленная на оптимизацию морфометрических параметров.

1. Акопов А.С., Московцев А.А., Доленко С.А., Г.Д.Савина. Кластерный анализ в медико – биологических исследованиях// Патологическая физиология и экспериментальная терапия.2013.Т. 57.-№3.С.84-96.
2. Дигурова И.И., Шипов А.А.Оценка гемореологических нарушений при экспериментальном стрессе у крыс с помощью кластерного анализа//Вестник КрасГАУ. 2011. №7. С. 132 -137.
3. Гурова Н.Н., Гуров А.В. Изменение параметров листовой пластинки березы и активность филлофагов в зоне воздействия Ачинского НПЗ // Лесные биогеоценозы бореальной зоны: география, структура, функции, динамика: Мат-лы Всерос. науч. конф. с междунар. участ., посвящ. 70-летию создания Ин-та леса им. В. Н. Сукачева СО РАН, Красноярск, 16–19 сент., 2014 г. Новосибирск: Изд-во СО РАН. 2014. С. 319–321.
4. Хузина Г.Р. Влияние урбано среды на морфометрические показатели листа березы повислой (*Betula pendula* Roth.) // Вестник Удмуртского университета. Биология. Науки о Земле. 2010. №3. С. 53-57.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЙ АКТИВНОСТИ ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗЫ И КАТАЛАЗЫ В ИЗОЛИРОВАННЫХ ЭРИТРОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА ПРИ НИТРИТНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ COMPARATIVE ASSESSMENT OF CHANGES IN GLUTATHIONE PEROXIDASE AND CATALASE IN ISOLATED HUMAN ERYTHROCYTES WITH NITRITE EXPOSURE

Гусейнова С.Я., Яхьяева Ф.Р., Дадашов М.З., Гусейнов Т.М.
Институт Биофизики НАН Азербайджана, Баку, Азербайджан.

Изменения в активности таких антиоксидантных (АО) ферментов как глутатионпероксидазы (ГП) и каталазы при нитритиндуцированном окислительном стрессе могут служить его маркером.

Изучалось действие различных доз нитрита натрия (конечная концентрация- 0,007, 0,07, 0,70 и 7,00 мМ) на активность этих ферментов в инкубационной среде, содержащей суспензию эритроцитов, а также селенита натрия (0,05- 0,10 мМ), как возможного АО-фактора, влияющего на развитие окислительных процессов *in vitro*.

Изменение активности изучаемых ферментов при нитритиндуцированном окислительном стрессе осуществлялось в условиях предварительного обогащения среды с изолированными эритроцитами селенитом натрия в течение 30 мин с последующим добавлением в среду нитрита натрия с инкубированием в 0-30-60 мин при 37 °С.

При нитритиндуцированном окислении имеет место разнонаправленные изменения в активности ГП в зависимости от дозы нитрита. Так, под влиянием минимальной дозы (0,007 мМ) активность ГП фермента увеличивается до 30 % в сравнении с контролем. Дальнейшее увеличение конечной концентрации нитрита (от 0,70 и 7,0 мМ) приводило к понижению активности ГП от 50% до 80% относительно контроля соответственно. Включение Se в инкубационную среду определенной мере (\approx на 20%) сдерживало падение активности фермента.

В случае с каталазой так же имеет место дозозависимое изменение активности фермента и при концентрации нитрита натрия 7,0 мМ оно достигает 80% относительно контрольного значения. Предварительное обогащение инкубационной среды с эритроцитами селенитом приводило к незначительному повышению активности фермента (\approx 10-15%) относительно образцов инкубированных только с нитритом.

Полученные результаты свидетельствуют об активном участии указанных антиокислительных ферментов эритроцитов в окислительном метаболизме при нитритном воздействии. Селенит натрия в определенной мере может выступать в роли регулятора нитритиндуцированного окислительного стресса.

РАСТИТЕЛЬНЫЕ ЭКСТРАКТЫ В ЗАЩИТЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ ХЛОРОПЛАСТОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ МЕДИ

PROTECTION OF PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS FROM TOXIC ACTION OF COPPER BY PLANT EXTRACTS

Dadashova S.B., Bayramova S.A., Kurbanova I.M.

Plant Cell Biophysics Laboratory, Institute of Botany, National Academy of Sciences of Azerbaijan, Badamdar highway, 40, AZ 1004, Baku, Azerbaijan, E-mail: sevil_fotosintez@mail.ru

Inhibition of photosynthetic pigments biosynthesis is one of the primary events in plants during metal stress [1]. As a consequence a delay in the assembly of photosynthetic apparatus, lower photosynthetic efficiency, slower plant growth and decreased biomass production occurs. One mechanism leading to inhibition of photosynthesis by heavy metals is their substitution for Mg^{2+} in the chlorophyll (Chl) molecules [2] leading to a breakdown in photosynthesis. High concentration of Cu^{2+} may catalyze the formation of the hydroxyl radical from O_2 and H_2O_2 . This Cu-catalyzed

reaction takes place mainly in chloroplast. The excess of Cu^{2+} also decreases the photosynthetic pigments affecting both their synthesis and degradation. The use of traditional medicine is widespread and plant still present a large source of natural antioxidants (AO) [3]. In the present work the protective properties of extracts from plant Azerbaijan flora rich by AO such as leaves of sage (*Folia Salvia officinalis*), root of liquorice (*Radix glycyrrhizae*) and leaves of relict plant *Danae racemosa* were used. With aim to determination of protective properties of used extracts they were added separately to solution containing of copper ions. The investigation of protective properties of tested plants on content of photosynthetic pigments Chl *a* and Chl *b* under toxic action of Cu^{2+} (10^{-3}M) during 24, 48, 72 hours were conducted on 7-days seedlings of wheat (*Triticum aestivum* L.). The investigation were performed under different pH of growth medium. The plants were subjected to stress by action of Cu^{2+} by means to create in chloroplasts and cell of increasing amount of reactive oxygen species (ROS). The analysis of absorption spectrum of native forms of Chl was revealed that in acid medium (pH 4,5) action Cu^{2+} during 24 h decreased of Chl *b* 645 nm content on 36%, Chl *a* 663 nm, 680 nm on 60% relatively to control. After 48 hours action of Cu^{2+} the pigments content composed: Chl *b* 645 nm-35%, Chl *a* 663 nm-52%, Chl *a* 680 nm-37% from control. After 72 hours action of Cu^{2+} the content of Chl *b* 645 nm was decreased on 36%, Chl *a* 663 nm on 50%, Chl *a* 680 nm on 56%. The plant extracts were added to growth medium for determination of there AO capacities. The obtained results shows that under pH 4,5 during 24 hours action of extracts separately to plants the content of Chl *b* 645 nm and Chl *a* 663 nm changed insignificantly, and action of sage was shown to increased a content of Chl *a* 680 nm on 62,5% relatively to action of Cu^{2+} . After 48 hours of extracts action to seedlings a positive effect manifest itself with roots of liquorice, that is shown to protect of investigated forms of chlorophyll and heightened its content on 60-100%. After 72 hours protective effect is shown to manifest itself by *Danae racemosa*. The content of Chl *b* 645 nm on 36%, Chl *a* 663 nm on 72% and Chl *a* 680 nm on 83% as compared with oxidative action. Under pH 6,8 during 24 hours the Chl *a* 680 nm was increased under action of *Danae racemosa* as compared with stress. After 48 hours in neutral medium the extract of sage was shown to protect all chlorophyll forms and increased their content on 50-100%, accordingly. After 72 hours incubation with extracts at neutral medium protective effects was not observed.

The assumption is made that low molecular phenol compounds in plant extracts able to scavenging of reactive oxygen species, formed under stress provide nonenzymatic protection of native forms to chlorophylls, at oxidative stress, induced by Cu^{2+} and activities of photosystems.

1. Mysliwa-Kurczak B., Strzalka K. Influence of metal on the biosynthesis of photosynthetic pigments // In: Physiology and biochemistry of metal toxicity and tolerance in plants. Eds. Prasad M.N.V., Strzalka K. 2002. Chapter 8. P. 201-228.
2. Solymosi K. et al. Hg^{2+} reacts with different components of the NADPH: protochlorophyllide oxidoreductase macrodomains // Plant Biology. 2004. Vol. 6. P. 358-368.
3. Dadasheva S.B. et al. The determination of antioxidant and antiradical activity of some plant extracts // Proceeding of NASA. 2012. Vol. 67. №1. P. 133-138.

ИНДИВИДУАЛЬНАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЦИКЛА СОН- БОДРСТВОВАНИЕ У МЫШЕЙ К МЕТЕОРОЛОГИЧЕСКИМ И ГЕОМАГНИТНЫМ ФАКТОРАМ

INDIVIDUAL SENSITIVITY OF THE INDICATORS SLEEP- WAKE CYCLE OF MICE TO METEOROLOGICAL AND GEOMAGNETIC FACTORS

Дорохов В.Б., Арсеньев Г.Н., Ткаченко О.Н., Блохин И.С., Зенченко Т.А.^{1,2}

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, г. Москва

1 - Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино

2 - Институт космических исследований РАН, г. Москва

В ряде работ показана большая интра- и интериндивидуальная вариабельность длительности и качества сна у человека, наличие которой затрудняет анализ различных фармакологических и физиотерапевтических воздействий на качество сна. Одной из причин такой вариабельности могут быть метеорологические и геомагнитные факторы, оказывающие, как было многократно показано ранее, существенное влияние на самочувствие человека. Учет возможного влияния атмосферных факторов на качество сна может сделать эти исследования более объективными.

Целью работы была оценка корреляции индивидуальных показателей цикла "сон-бодрствование" мышей с метеорологическими показателями. Были использованы среднесуточные значения показателей атмосферного давления, относительной влажности, температуры, парциального давления кислорода, а также суточного Кр-индекса геомагнитной активности. Для анализа использовали данные цикла сна и бодрствования, регистрируемые одновременно у 8 мышей в весенний период с 12 марта по 30 апреля (48 суток) 2018 г. в г. Москве.

Регистрация показателей цикла сна бодрствования мышей проводилась в Москве, на автоматизированной установке, позволяющей проводить многодневную регистрацию нейрофизиологических

(ЭЭГ) и поведенческих показателей цикла сна- бодрствования. Мыши (линия C57BL/6, самцы) содержались по одной особи в каждой клетке из светопрозрачного пластика при температуре 22-26⁰С, искусственный 12-ти часовой световой режим (08.00-20.00 – яркий белый свет, 20.00-08.00 – слабый красный) и свободный доступ к воде и пище. Животные находились в двух отдельных камерах, в каждой камере находились 4 индивидуальных бокса из оргстекла. Мыши - животные ночные, и период активности у них ночь. Предварительно животным эпидурально хронически вживлялись электроды для регистрации электроэнцефалограммы (ЭЭГ). Голова каждого животного с помощью гибкого кабеля подсоединялись к входу миниатюрного автономного цифрового двухканального беспроводного усилителя биопотенциалов, снабженного 3-канальным встроенным акселерометром. В данном исследовании использовались только показания двигательной активности, регистрируемые акселерометром. На 20 секундных отрезках определялось наличие или отсутствие двигательной активности, которое оценивалось, как бодрствование или сон. Для дальнейшего анализа использовали усредненные значения 20-секундных эпох за 12 часов дня (08.00-20.00) и ночи (с 00.00 до 08.00 и с 20.00 до 24.00). Затем подсчитывался коэффициент корреляции между этими средними значениями активности мышей со средними значениями суточных климатических показателей по данным метеостанции ВДНХ.

Показано, что корреляция показателей сна и бодрствования в светлое время суток выражена существенно слабее, чем в темное (период активности у мышей). Для пяти мышей получены статистически значимые коэффициенты корреляции с показателями атмосферной температуры, для трех - с парциальным содержанием кислорода, по два случая - с атмосферным давлением и геомагнитной активностью, и один - с относительной влажностью. Наибольшая (по модулю) корреляция была получена для показателя температуры (которая значительно менялась за исследуемый весенний период в диапазоне с -5 до +13), несколько меньшая - для содержания кислорода в воздухе. Важно отметить, что индивидуальная реакция мышей с выраженными корреляциями на модуляцию физических показателей могла быть разнонаправленной.

Полученные результаты показывают, что вариабельность качества сна у мышей сложным образом зависит от исследованных физических факторов и ее надо учитывать при исследованиях сна у людей.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант №17-36-00025-ОГН-МОЛ-А1).

ОСОБЕННОСТИ ГАЗОВЫДЕЛЕНИЯ ТОМАТОВ В ПРОЦЕССЕ ХРАНЕНИЯ

FEATURE OF TOMATO GAS SECRETION DURING STORAGE

А.Г. Кузьмин¹, Ю.А. Титов¹, Р.С. Кертлинг², А.Н. Шатерников², А.В. Дроздов¹

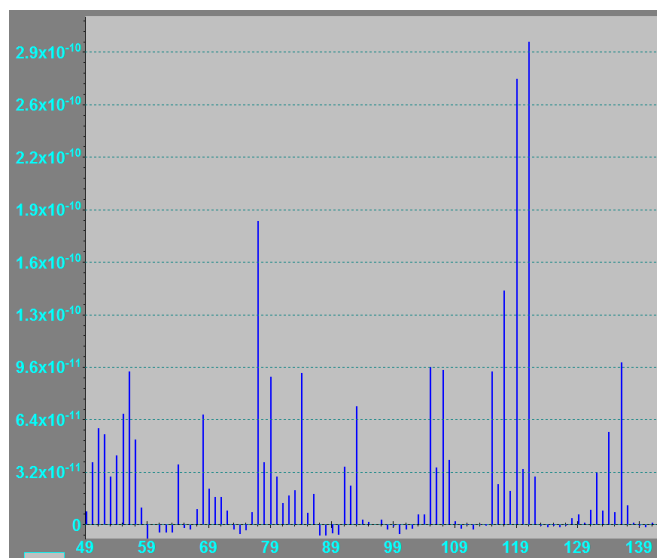
¹ Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, E-mail: agqz55@rambler.ru

² «IT компания-Info Wings», Санкт-Петербург

Известно, что плодовые и овощные культуры обладают определенными запахами. Объективные данные о составе газовой выделения культур могут быть использованы для определения их потребительского качества и прогнозирования сроков годности. Поэтому исследование газовой выделения плодоовощной продукции является актуальной задачей.

В качестве объекта исследования были выбраны перенумерованные томаты в количестве 15 шт. Анализ состава газов, выделяемых томатами, проводился на квадрупольном малогабаритном масс-спектрометре MS7-200 (Россия) с прямым капиллярным вводом пробы при атмосферном давлении [1]. Измерения проводились ежедневно в 11⁰⁰ в течение трех недель с 29.05.17г. по 29.06.17г. Пробы воздуха забирались у поверхности томатов.

В масс-спектрах, в некоторые дни, наблюдалось появление одновременно нескольких характерных органических компонент с приповерхностной концентрацией на уровне 5-10 ppm. Типичный масс-спектр выделений представлен на рис. 1. Все спектры имели свой характерный отпечаток. Анализ полученных масс-спектров показал, что выделения имели место не каждый день и у разных экземпляров по-разному. График изменения суммарного количества выделений



томатов по дням представлен на рис. 2. Так, например, томаты №2 и №7 имели наиболее интенсивные выделения, причем выделения наблюдались в разные дни, но по 6 дней у каждого. На восьмой день наблюдений (05.06.17) было выявлено резкое увеличение общего количества выделений у большинства томатов (у 11 экземпляров из 15).

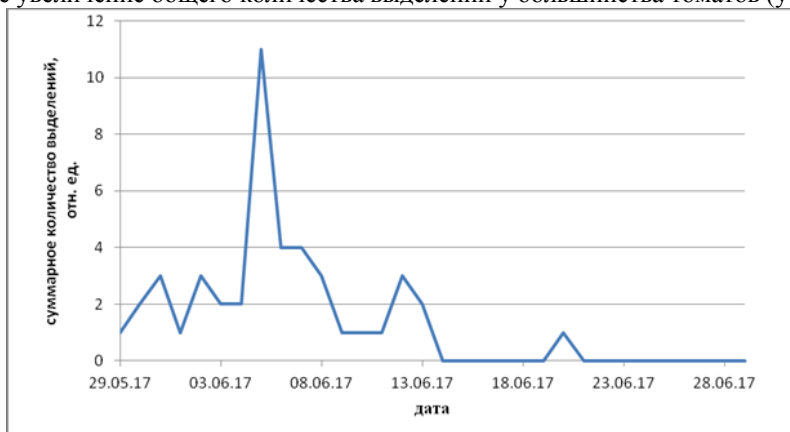


Рис. 2. Изменение суммарного количества выделений за время измерений

Таким образом, данные мониторинга состава газовой выделения в хранилище могут быть использованы для разработки методик оценки текущего состояния и эффективности хранения культур.

1. Кузьмин А.Г. Квадрольный масс-спектрометр. Патент РФ №94763 от 27.05.2010г.

ФОРМИРОВАНИЕ ТОНКОЙ СТРУКТУРЫ ПОЛЯ БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ В ЧЕРНОМ МОРЕ ПОД ВЛИЯНИЕМ ГИДРОЛОГИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ВОД

FINE STRUCTURE OF THE BLACK SEA BIOLUMINESCENCE FIELD CONDITIONED BY HYDROLOGICAL VARIABILITY OF ITS WATER MASSES

Евстигнеев В.П.^{1,2}, Серикова И.М.²

¹ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», Севастополь, E-mail: vald_e@rambler.ru

²Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН, Севастополь, E-mail: irasimwin@yandex.ru

Совокупность абиотических факторов создает режим функционирования морской экосистемы, в котором протекают все процессы жизнедеятельности видов, и осуществляется взаимодействие между ними. Исследование влияния гидрофизических параметров на трофодинамику и в целом экологическое состояние морей является важной задачей, актуальность которой продиктована наблюдающимся в последние десятилетия изменением климата и растущей антропогенной нагрузкой как в глобальном масштабе, так и на региональном уровне [1]. Однако, установление закономерности таких влияний определяется знанием структуры и пониманием динамики планктонного сообщества в водной толще, в особенности фитопланктона как основного первичного продуцента органического вещества. Одним из решений такой задачи является использование биофизических методов исследования пелагических сообществ. К таковым относится регистрация интенсивности биолюминесценции в водной толще, формируемой агрегациями светящегося планктона. В литературе существуют подтверждения того, что применение метода батифотометрических зондирований является эффективным для оценки обилия зоопланктона и концентрации светящихся динофитовых водорослей [2].

Определяющий вклад в формирование пространственной структуры полей планктона [3] имеют мелкомасштабные неоднородности распределения живых организмов в толще морской воды, в связи с чем исследования биологических характеристик водных масс на таких масштабах приобретают особую актуальность. Тонкоструктурные неоднородности, регистрируемые при вертикальном батифотометрическом зондировании водной толщи, достаточно точно отражают картину неравномерности вертикального распределения морских организмов.

Настоящее исследование посвящено исследованию субмезомасштабной и мелкомасштабной неравномерности вертикального распределения интенсивности биолюминесценции под влиянием наиболее важного абиотического фактора морской среды – термохалинной структуры ее вод. Исследование основано на данных батифотометрического зондирования гидробиофизическим комплексом «Сальпа М» во время экспедиции НИС «Профессор Водяницкий» по северной части Черного моря в августе 2011 г. Методика выявления сопряженности основана на эмпирическом разложении вертикальных профилей интенсивности биолюминесценции, температуры и солености воды на конечное число ортогональных нерегулярных

компонент (метод EMD [4]) – от крупно- и мезомасштабных неоднородностей, приуроченных к слоям естественной стратификации морских вод, до мелкомасштабных, определяющих тонкую структуру рассматриваемых полей. Метод EMD не зависит от строго заданного базиса функций разложения (Фурье-анализ) или от необходимости предварительного определения материнского вейвлета (вейвлет-анализ), что, по сути, больше подходит для рядов с регулярной структурой.

На основании разложения рядов, в работе показана приуроченность тонкоструктурных неоднородностей поля биолюминесценции к таковым в термохалинной структуре вод. Был показан кинематический эффект внутренних волн на тонкую структуру поля биолюминесценции. По профилям биолюминесценции был разработан метод расчета параметров тонкой структуры.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУН ИМБИ РАН имени А. О. Ковалевского по теме «Структурно-функциональная организация, продуктивность и устойчивость морских пелагических экосистем», № АААА-А-18-118020790229-7.

1. IPCC, 2013: Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Stocker T.F. et al. (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 2013. 1535 pp, doi:10.1017/CBO9781107415324.
2. Токарев Ю.Н. и др. Роль некоторых фракций планктона в формировании поля биолюминесценции в морях Средиземноморского бассейна // Морской гидрофизический журнал. 2002. №3. С. 51-60.
3. Mackas D.L. Spatial autocorrelation of plankton community composition in a continental shelf ecosystem // Limnol. Oceanogr. 1984. Vol.29 (3). P.451-471.
4. Huang N.E. et al. The Empirical Mode Decomposition and the Hilbert Spectrum for Nonlinear and Non-Stationary Time Series Analysis // Proc. Roy. Soc. Lond. 1998. V.454A. P.903-995.

РОЛЬ ФИТОПЛАНКТОНА ПРИ ЛЕТОВАНИИ ПРОТОЧНОГО ВОДОЕМА НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА МОДЕЛИ ФОТОСИСТЕМЫ 2 ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ИЗМЕРЕНИЙ ИНДУКЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ

THE PHITOPLANCTON ROLE IN THE RUNNING-WATER POND RENOVATION ANALYZED WITH THE PHOTOSYSTEM II MODEL ON THE BASIS OF FLUORESCENCE INDUCTION MEASUREMENTS

Ермаченко П.А.¹, Середин Д.С.¹, Беляева Н.Е.²

¹ООО «АЯ ПРОЕКТ», Новочеркасск, neo-ecology@mail.ru

²Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова

Метод "Летование" был успешно применен с целью восстановления устойчивого функционирования естественного биоценоза водоема в бассейне р. Темерник, г. Ростов-на-Дону. В процессе летования модельный водоем, средний в каскаде трех проточных прудов, в течение 10 лет ежегодно осенью осушался, а весной переводился в режим заливного луга. При этом колебание уровня воды вызывали периодические переходы прибрежной зоны от водных к наземным сукцессиям, что благоприятно сказывалось на экологическом состоянии водоема. Данный механизм восстановления биопродуктивности водных экосистем исследован несколькими научными группами [1,2]. Качественно новые сукцессии при переходе между водными и наземными сообществами способствуют бурным процессам самоочищения [1] и приводят к оздоровлению [2] популяции гидробионтов.

Однако, взаимосвязанные факторы природного самоочищения многокомпонентной водной экосистемы ещё подробно не изучены. В сукцессию водных сообществ включены фито- и зоопланктон, водные растения, бентос и наземные растения, которые сменяют друг друга в процессе летования. В результате, обеспечивается формирование кормовой базы для активного роста мальков рыб. Понимание особенностей самопроизвольного процесса формирования водного биоценоза при летовании необходимо для установления принципов устойчивого и продуктивного сосуществования природных и антропогенных систем. Важно отметить, что методика оценки воздействия на рыбохозяйственные водоемы [3] в результате строительства сооружений и других инженерных работ может быть дополнена согласно новым представлениям о самоорганизации водных экосистем с учетом положительного влияния летования на биопродуктивность.

Для мониторинга цикла восстановления биопродуктивности проточного водоема при ежегодном "летовании" нами предложено использовать современные методы исследования состояния фотосинтетического аппарата фитопланктона. В 2017 году [4] мы проанализировали пробы фитопланктона из каскада трех водоемов бассейна реки Темерник: пруд №1 в антисанитарном состоянии биологической деградации, пруд №2 после "летования" с высокой биопродуктивностью (контрольный) и нижний пруд №3 с цветущей водой. Измерения индукции флуоресценции Хл *a* (ИФ) провели на флуорометрах собственной разработки [4] – стационарном

«МЕГА 25» и портативном с плотностью мощности света: PFD 7500 и 4500 мкмоль квантов·м⁻²·с⁻¹, соответственно. Использовали также опорные данные по ИФ лабораторного штамма микроводоросли *Chlorella*. Отношение величин измеренной флуоресценции, максимальной (F_m) к минимальной (F₀), для *Chlorella in vivo* составило ~3.5, а для проб контрольного пруда №2 ~2, что оказалось существенно выше, чем у прудов №3 (< 1.5) и №1 (< 1.2), это говорит о резком снижении эффективности фотосинтеза при деградации пруда №1. Фитирование параметров модели фотосистемы 2 по кривым ИФ, показало снижение уровня генерации кислорода (O₂), примерно в 10 раз для водоема №1 по сравнению с контрольным прудом №2. Различия ИФ позволили не только провести диагностику состояния водоемов, но и проанализировать механизмы, включенные в процесс самовосстановления. Результаты подтверждают, что проточный пруд №2 остаётся чистым за счёт высокой окислительной мощности биоценоза при летовании. В дальнейшем планируется исследовать эффект дополнительного образования O₂ при самовосстановлении пруда №2, с учетом известных активных форм кислорода [5]. По результатам сравнительного анализа таксономического состава фитопланктона с преобладанием микроводорослей (пруд №2) и цианобактерий (пруд №3), можно рекомендовать новые инструментальные методы оценки биопродуктивности водоемов по измерениям ИФ [6].

1. Скальская И.А. Зооперифитон водоемов бассейна верхней Волги в условиях антропогенного воздействия // Диссертация на соискание степени доктора биологических наук. Специальность: 03.00.18. Борок, 2000
2. Наумова А.Ю. Влияние периодичности летования прудов на оздоровление рыбоводного хозяйства от инвазионных и инфекционных болезней // Диссертация, кандидат биолог наук 03.00.19. Москва, 2002
3. Временная методика оценки ущерба, наносимого рыбным запасам в результате строительства, реконструкции и расширения предприятий, ..." (утв. Минрыбхозом СССР, Госкомприроды СССР 20.10.1989)
4. Ermachenko P., Belyaeva N., Riznichenko G. et al. Quantifying fluorescence yield and O₂ generation in algal or cyanobacterial samples with Photosystem II and Thylakoid membrane models // In Abstracts, 8th International Conference "Photosynthesis and Hydrogen Energy Research for Sustainability-2017, Hyderabad, India, p. 99-99.
5. Konstantin E. Klementiev и др. «Radioprotective role of cyanobacterial phycobilisomes». *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, 1860(2):121–128, 2019
6. Belyaeva N, Bulychev A, Riznichenko G, Rubin A (2019) Analyzing both the fast and the slow phases of chlorophyll *a* fluorescence and P700 absorbance changes in dark-adapted and preilluminated pea leaves using a Thylakoid Membrane model. *Photosynthesis Research* 140 pp. 1-19.

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОЧИСТНЫХ СООРУЖЕНИЙ MATHEMATICAL MODELING OF BIOLOGICAL TREATMENT PLANTS

Ермаченко П.А.

ООО «Новые трубные технологии», Москва, ermachenko@ntt.su

Согласно опубликованным докладом «Всемирной программы оценки водных ресурсов» (WWAP), сейчас более 1,2 млрд. людей живут в условиях постоянного дефицита пресной воды. Продолжающаяся урбанизация усугубляет ситуацию, поскольку строительство традиционных централизованных очистных сооружений не способно обеспечить потребности растущих мегаполисов. В следующие несколько десятилетий ожидается, что число городских жителей увеличится ещё на 1,8 миллиарда человек, из которых на развивающиеся страны придётся около 95% роста населения. Нами предложен генеративный подход проектированию локальных биологических очистных сооружений, на базе вычислительного моделирования, дающий возможность значительно повысить эффективность интеграции в существующую городскую среду.

Предложенная концепция автономных энергонезависимых биологических очистных сооружений, в первую очередь предназначена для обеспечения биосферной совместимости крупных мегаполисов в развивающихся странах, где строительство централизованных очистных сооружений не поспевает за темпами роста городского населения, что в перспективе нескольких десятилетий будет угрожать устойчивому развитию всего человечества.

На основе вычислительного эксперимента нами была показана триггерная структура процессов в аэротенке-смесителе при ингибировании нитрификации высокими дозами аммония, что позволило определить для рыночных условий современной России тот факт, что экономически рентабельной степенью удаления загрязнений для традиционных биологических очистных сооружений выполненных из железобетона является эффективность в районе 70-80%, что намного ниже нормативной в 96-99% [1].

Далее была исследована технология биологического удаления фосфора, для которой применяется чередование кислородных режимов очистки на сооружениях предварительной минерализации сточных вод. Это позволяет накапливать фосфор в биологически доступной форме полифосфатов. При этом максимальное содержание полифосфатов в бактериях составляет 50%, что соответствует содержанию фосфора 15-20%. Однако при pH выше 8,5 часть фосфатов осаждается в виде солей кальция, поэтому очень важно

контролировать кислотность при организации биологического аккумуляирования фосфора. Также необходимо обеспечить поступление летучих жирных кислот в анаэробный реактор, поэтому целесообразно перед подачей сточных вод в денитрификатор производить предварительную ацидофикацию сырого осадка [2].

Реализация процесса накопления фосфора микроорганизмами в сооружениях минерализации связана с организацией чередующихся кислородных режимов обработки сточных вод с коэффициентом рециркуляции от 2 до 15. Для реализации данной технологии уместным является использовать сооружения карусельного типа с непрерывным течением иловой смеси в кольцевых каналах, что обеспечивает чередование аноксидных и аэробных условий в объеме одного сооружения [3].

Созданная математическая модель динамического аккумуляирования биогенных элементов предназначена для использования в качестве базы для автоматизированной системы управления. Предложенный алгоритм параметрической оптимизации необходим для поиска оптимального расположения биологических очистных сооружений в городской среде. Параметрический подход к проектированию биологических очистных сооружений подходит для создания урбанизированных объектов отвечающих принципам биосферной совместимости. При этом метод оптимизации основывается на прототипировании многофакторной нелинейной системы, а процесс генерирования проекта подобен выращиванию живого организма, за счёт генетических алгоритмов.

1. Булгаков А.Г., Ермаченко П.А., Бузало Н.С. Исследование триггерной структуры процессов в аэротенке-смесителе при ингибировании нитрификации высокими дозами аммония // Известия Юго-Западного государственного университета. Серия: Техника и технологии. 2014. № 2. С. 20-30.
2. Buzalo N., Ermachenko P., Bulgakov A., Bock T. Mathematical modelling of phosphorus accumulation in photo-biological treatment plants of a biosphere-compatible city // 32nd International Symposium on Automation and Robotics in Construction and Mining: Connected to the Future, Proceedings 32, Connected to the Future. 2015.
3. Бузало Н.С., Ермаченко П.А., Проценко Е.А., Хачунц Д.С., Чистяков А.Е. Трёхмерная математическая модель динамики жидкости и концентрации воздушных пузырьков в карусельном аэротенке // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 1-1. С. 1787.

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ОТБОРА ПО ПРИЗНАКУ ОГРАНИЧЕННОМУ ПОЛОМ: ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ РЕПРОДУКТИВНЫХ СТРАТЕГИЙ В ЕСТЕСТВЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ ПЕСЦОВ, *ALOPEX LAGOPUS*

MATHEMATICAL MODELING OF SELECTION BY A SEX-LIMITED GEN: DIFFERENTIATING REPRODUCTIVE STRATEGIES IN NATURAL POPULATIONS OF ARCTIC FOXES, *ALOPEX LAGOPUS*

Жданова О.Л.^{1,2}, Фрисман Е.Я.²

¹Институт автоматизации и процессов управления ДВО РАН, г. Владивосток, axanka@iacp.dvo.ru

²Институт комплексного анализа региональных проблем ДВО РАН, г. Биробиджан, frisman@mail.ru

Эколого-генетическое направление моделирования, рассматривающее взаимосвязанные изменения численности и генетической структуры популяции появилось в 60-е годы прошлого столетия, когда формировались представления о плотностно- и частотно-зависимых составляющих в действии естественного отбора. Работы в этой области позволили охарактеризовать действие эволюционных факторов, в первую очередь, естественного отбора, на изменение генетической структуры, а соответственно и изменений характера динамики популяций, которые сталкиваются с естественным ограничением экологических ресурсов (т.е. находящихся под действием лимитирующих факторов окружающей среды) [1]. Эколого-генетический подход открывает большие перспективы для изучения эволюции естественных популяций, а также прогнозирования изменений, связанных с антропогенным воздействием.

В представленной работе рассматривается комплексный подход к моделированию динамики генетической структуры и численности естественной популяции для объяснения полиморфизма в популяциях песцов, демонстрирующих кардинально различающиеся репродуктивные стратегии, закрепленные на генетическом уровне. Естественные популяции *A. lagopus*, населяющие прибрежные и континентальные территории радикально отличаются по своей репродуктивной стратегии. Прибрежные песцы дают приплод небольшого размера каждый год. Континентальные же питаются мелкими грызунами, главным образом, полевками, численность которых характеризуется циклическими колебаниями. В голодные годы популяции континентальных песцов демонстрируют крайне низкий репродуктивный уровень; а в годы с обильной пищей (когда в популяциях жертвы наблюдается подъем численности) резко увеличивают свою плодовитость. Это позволяет предположить, что прибрежные песцы однородны по размеру помета, а континентальные неоднородны и представлены особями с разной потенциальной плодовитостью. В работе [2] на основе комплексного сегрегационного анализа типа наследования размера приплода в расширенной генеалогии фермерских песцов было показано, что данный признак является аутосомным женским признаком, а его

наследование можно описать в рамках модели с основным геном и контролем малого размера приплода по рецессивному типу.

Применение классических уравнений математической теории популяционной генетики здесь ограничено тем фактом, что генотип потомков определяют оба родителя, а их выживаемость - генотип матери. В результате нарушаются соотношения Харди-Вайнберга, связывающие частоты аллелей и генотипов в смежных поколениях, что приводит к необходимости писать уравнения эволюции для частот генотипов, а не аллелей, как в классической теории отбора. Предложенный ранее набор динамических моделей с различными типами естественного отбора [3] дополнен моделями отбора по материнской линии признака «размер помета», ограниченного полом. Анализ результатов моделирования в рамках классической теории и с отбором по материнской линии признака, ограниченного полом, показывает возможность установления мономорфизма по рассматриваемому признаку в популяциях прибрежных песцов, где пищевые ресурсы практически постоянны, и установление полиморфизма с циклическими колебаниями численности и частот аллелей рассматриваемого гена в континентальных популяциях, где происходят регулярные всплески численности грызунов – основного компонента пищи. При этом скорость вытеснения неоптимального для конкретной среды обитания аллеля значительно замедляется за счет отбора по материнской линии, а также за счет наличия возрастной структуры у песцов. Эти факторы увеличивают возможность сохранения полиморфизма в популяции континентальных песцов.

Работа выполнена в рамках государственных задания Института автоматизации и процессов управления ДВО РАН, Института комплексного анализа региональных проблем ДВО РАН, а также при частичной финансовой поддержке РФФИ (проект 18-04-00073, 18-51-45004 ИНД_а).

1. Hanski I. *Metapopulation Ecology*. Oxford University Press. 1999.
2. Axenovich T.I., Zorkoltseva I.V., Akberdin I.R. et al. Inheritance of litter size at birth in farmed arctic foxes (*Alopex lagopus*, Canidae, Carnivora) // *Heredity*. 2007. Vol. 98. P. 99 – 105.
3. Жданова О.Л., Фрисман Е.Я. Математическое моделирование механизма дифференциации репродуктивных стратегий в естественных популяциях (на примере песцов, *Alopex lagopus*) // *Компьютерные исследования и моделирование*. 2016. № 2 (8). С. 213–228.

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИНАМИКИ ПЛАНКТОННОГО СООБЩЕСТВА: ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЗООПЛАНКТОНА НА ДИНАМИКУ ФИТОПЛАНКТОНА

MATHEMATICAL MODELING OF PLANKTON COMMUNITY DYNAMICS: INVESTIGATING A ZOOPLANKTON EFFECT IN PHYTOPLANKTON DYNAMICS

Абакумов А.И., Неверова Г.П., Колбина Е.А., Жданова О.Л.

Институт автоматизации и процессов управления ДВО РАН, г. Владивосток, abakumov@iacp.dvo.ru

Важнейшей подсистемой водных экосистем является пелагиаль, в которой функционируют специфические сообщества, не имеющие аналогов в наземных экосистемах [1]. Основными из таких сообществ (кроме бактерий) являются фито- и зоопланктон. Наше исследование направлено на изучение функционирования фитопланктона при взаимодействии с зоопланктоном. Фитопланктон является основой жизни в водоеме. В нашем случае речь идет о морских экосистемах. Фитопланктон – нижний уровень трофической цепи, его первичная продукция составляет основу (более 95%) продуктивности всей водной экосистемы. По его состоянию и функционированию можно оценить особенности жизнедеятельности морской экосистемы в целом [2]. А это, в свою очередь, ведет к оценке экологического состояния экосистемы и ее роли в экономике региона.

Существенное воздействие на динамику обилия фитопланктона оказывает зоопланктон, который, в свою очередь, является кормовой базой для многих видов рыб и «протягивает» влияние фитопланктона к верхним трофическим уровням. Зоопланктон, как и фитопланктон, является многовидовым сообществом, в котором, как правило, выделяют следующие группы беспозвоночных: коловратки (*Rotatoria*), ветвистоусые раки (*Cladocera*), веслоногие раки (*Soropoda*) [3].

С помощью методов математического моделирования в данной работе проведена оценка спектра возможного влияния зоопланктона на динамику обилия фитопланктона. В частности, предложена модель сообщества фитопланктон-зоопланктон, рассматривающая неоднородность зоопланктона по стадии развития и типу питания, при этом учтено наличие каннибализма в сообществе зоопланктона, в процессе которого зрелые особи некоторых его видов поедают ювенильных. Процессы взаимодействия зоо- и фито- планктона в явном виде учтены в выживаемостях на ранних стадиях жизненного цикла зоопланктона; кроме того, явно рассматривается убыль фитопланктона в результате выедания его биомассы зоопланктоном; насыщение при питании зоопланктона фитопланктоном, а также хищных видов зоопланктона травоядными позволяет учесть использование трофической функции Холлинга II типа. Видовая разнородность фитопланктона в данной модели не учитывается, поскольку изменение его биомассы происходит за счет деления клеток или их

выбывания из сообщества по причинам, мало отличающимся для разных видов. Это позволяет описывать динамику фитопланктонного сообщества одним уравнением с самолимитированием (в данной работе использовано уравнение Рикера), при этом неявно учитывается ограничение роста биомассы фитопланктона доступностью внешних ресурсов (минерального питания, кислорода, освещенности и т.п.). Соответственно, модель содержит три компонента и дискретна во времени.

Проанализированы сценарии перехода от стационарной динамики к колебаниям численности фито- и зоопланктона при различных значениях внутривидовых параметров, определяющих характер динамики каждого из составляющих сообщество видов, и параметров их взаимодействия. Хотя возможно и устойчивое существование сообщества со стационарной динамикой обоих видов, когда их скорости роста невелики, основное внимание уделено изучению сложной динамики сообщества. Высокая скорость роста фитопланктона позволяет ему достаточно быстро менять свою биомассу (на порядок в течение суток). В рамках используемой в работе модели, описывающей динамику фитопланктона в отсутствие межвидового взаимодействия, происходит усложнение его динамики через серию бифуркаций удвоения периода. При этом с появлением зоопланктона каскад бифуркаций удвоения периода у фитопланктона и сообщества в целом реализуется раньше (при более низких скоростях воспроизводства клеток фитопланктона), чем в случае, когда фитопланктон развивается изолированно. Чем выше значения таких параметров как интенсивность потребления фитопланктона зоопланктоном, средняя выживаемость зоопланктона на ювенильной и половозрелой стадиях, тем при более низкой скорости роста фитопланктона возникают колебательные режимы динамики. При этом вариация уровня каннибализма зоопланктона способна значительно изменить как существующий в сообществе режим динамики, так и его бифуркацию; при определенной структуре пищевых отношений зоопланктона возможна реализация сценария Неймарка-Сакера в сообществе. Учитывая, что уровень каннибализма зоопланктона может меняться из-за естественных процессов созревания особей отдельных видов и достижения ими плотоядной стадии, можно ожидать выраженные изменения динамического режима в сообществе: резкие переходы от регулярной к квазипериодической динамике (по сценарию Неймарка-Сакера) и далее к точным циклам с небольшим периодом (обратная реализация каскада удвоения периода).

Работа выполнена в рамках государственного задания Института автоматизации и процессов управления ДВО РАН, а также при частичной финансовой поддержке РФФИ (проект 18-01-00213).

1. Винбер Г.Г. Особенности водных экологических систем // Журн. общ. биол. 1967. № 5 (28). С. 538–545.
2. Williams P.J.B. Phytoplankton productivity. New York: Wiley and Sons. 2007
3. Фефилова Е.Б. Изученность и видовое разнообразие зоопланктона водоемов северо-востока европейской части России // Вестник Института биологии Коми НЦ УрО РАН. 1999. № 24.

АКУСТИЧЕСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ ДЕЛЬФИНОВ ПРИ НАБЛЮДЕНИИ СОБСТВЕННОГО ИЗОБРАЖЕНИЯ УМЕНЬШЕННОГО МАССШТАБА

ACOUSTIC BEHAVIOR OF THE DOLPHIN OBSERVING ITS OWN REDUCED SCALE IMAGE

Иванов М.П.¹, Данилов Н.А.², Соколов П.А.², Толмачев Ю.А.¹, Спивак И.М.¹, Стефанов В.Е.¹

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 20mivanov@mail.ru

² Государственный научно-исследовательский институт прикладных проблем, Санкт-Петербург

Когнитивные исследования высших животных обычно начинаются с психологического теста на самоидентификацию с помощью разработанного теста «зеркало». Первое знакомство дельфина с собственным изображением, геометрические размеры которого соизмеримы с наблюдателем, вызывает агрессивную акустическую реакцию практически так же, как и у всех млекопитающих. Последующее в течение нескольких месяцев наблюдение вызывает заинтересованную реакцию дельфина к его изображению – самоидентификацию, проявляющуюся в самонаблюдении, манипуляции с предметами и навешивании их на себя [1].

В отличие от большинства млекопитающих у дельфинов дистантный ольфакторный анализатор редуцирован, поэтому акустический дистантный канал – это естественный вторичный канал получения информации о неизвестном объекте. Как правило, поведение млекопитающих с неизвестными объектами, значительно меньшими собственного размера, носит исследовательский характер. С помощью подводной видеокамеры и подводного монитора подобное поведение показано у дельфинов [2]. В эксперименте два взрослых дельфина (*Delphinapterus leucas*) выбирали самостоятельно момент подхода к монитору. Изображение возникало только в ответ на эхолокационные сигналы наблюдателя, т.е. включение изображения на мониторе синхронизировано с сигналами дельфина. Изображение во много раз меньше естественного, и первое знакомство с уменьшенным изображением вызвало бурную акустическую реакцию наблюдателя.

В записанных акустических последовательностях четко выделены пакеты акустических сигналов из ультракоротких (УКИ) импульсов. Длительность фрагментов акустической реакции для самки и для самца составила ~ 60 секунд и состояла из последовательности пакетов импульсов. Длительность пакетов меняется от ~100 мс до ~550 мс с изменяемым временным интервалом между УКИ, т.е. отчетливо наблюдается время-

импульсная модуляция (ВИМ). Пакеты разделяются паузами от ~100 мс до ~2500 мс. Изменение временной модуляции от пакета к пакету не выходит за пределы $2 \div 120$ мс. Отчетливо выделяются два пакета с ВИМ: пакет 1-го рода с коэффициентом модуляции $K_{\text{мод.}} \sim 0,85 \div 0,96$ (модуляция меняется от 2 до 120 мс) и пакет 2-го рода с $K_{\text{мод.}} \sim 0,1 \div 0,4$ (модуляция меняется от 3 до 6 мс). Закон изменения модуляции от пакета к пакету, как правило, повторяемый. Количество импульсов в пакетах 1-го и 2-го рода меняются от 25 до 100. Некоторые пакеты удивляют повторяемостью параметров, например, пакеты 1-го рода: пакет №1/(пакет №2) – минимальная длительность интервала между импульсами $T_{\text{min}} = 4,3$ мс/(4,5 мс); максимальная длительность интервала между импульсами $T_{\text{max}} = 74,1$ мс/(65 мс); коэффициент модуляции $K_{\text{мод.}} = 0,89/(0,87)$; длительность пакета $T_{\text{пакета}} = 273$ мс/(259 мс); количество импульсов в пакете $N = 25/(25)$. В пакетах 2-го рода также встречается повторяемость параметров: пакет №1/(пакет №2) - $T_{\text{min}} = 3,5$ мс/(3,5 мс); $T_{\text{max}} = 4,2$ мс/(4,8 мс); $K_{\text{мод.}} = 0,1/(0,16)$; $T_{\text{пакета}} = 186$ мс/(186 мс); $N = 49/(46)$.

В обработанных фрагментах встречаются два типа составных сигналов. Первый тип - это сигналы из длинных последовательностей импульсов, сформированных из двух или трех пакетов 2-го рода. Второй тип составных сигналов сформирован из длинных импульсов с частотной модуляцией несущей (ЧМ) и пакета УКИ. Длительности пакета УКИ и ЧМ, как правило, совпадают, но начало сигналов может различаться. Амплитуда УКИ в 10-20 раз больше амплитуды ЧМ импульса. ЧМ внутри пакетов в анализируемом материале выражена слабо, но хорошо выражена одна составляющая 4577 Гц у самца и выраженная ЧМ по псевдо синусоидальному закону у самки.

Первая реакция на собственное изображение уменьшенного масштаба, демонстрируемое с помощью подводного монитора и подводной видеокамеры, показывает весьма доброжелательное отношение к увиденному подвижному изображению и провоцирует дельфина на вокальное взаимодействие. Предполагается, что полученная последовательность акустического репертуара носит информационный характер, означающий уменьшительно-ласкательное вокальное сообщение, адресованное теленку. Выделяются фрагменты с повторяемыми последовательностями, состоящие из пакетов 1-го и 2-го рода. Если условно обозначить пакет 1-го рода буквой - R1, а пакет 2-го рода – R2, то некоторые повторяемые фрагменты состоят из комбинаций R1-R2-R1; R2-R2-R2; R1-R2-R1-R1.

1. Rachel Morrison, Diana Reiss Precocious development of self-awareness in dolphins // Published: January 10, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189813>

2. Иванов М.П. Толмачев Ю.А., Тулуб А.А., Леонова Л.Е., Романовская Е. В. Изучение когнитивных функций дельфина (*Delphinapterus leucas*) // Ж. эвол. биох. и физиол., 2018, т.54, №3. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0022093018030110>

ДИАГНОСТИКА ДЕФИЦИТА МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ ПЛАНКТОННЫХ ВОДРОСЛЕЙ ПО ПАРАМЕТРАМ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА

DIAGNOSIS OF MINERAL DEFICIENCIES IN PLANKTONIC ALGAE VIA CHLOROPHYLL FLUORESCENCE

Конюхов И.В.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, г. Москва, vanka.kon@gmail.com

В докладе рассмотрен метод измерения флуоресценции хлорофилла на устройстве с импульсной модуляцией интенсивности возбуждающего света (англ. PAM). Прибор автоматически проводит серию из 10-20 измерений флуоресценции после адаптации микроводорослей к свету различной интенсивности. Это позволяет построить световую кривую скорости первичных реакций фотосинтеза (англ. ETR). Данная кривая характеризует способность клеток к усвоению световой энергии и показывает, выше какой интенсивности света наступает насыщение фотосинтеза [1]. Приведены результаты экспериментов на культурах одноклеточных водорослей, где показана зависимость световых кривых скорости фотосинтеза от температуры, от условий длительной световой адаптации культуры, а так же от дефицита азота. Таким образом, кривую ETR можно рассматривать как результирующую от видового состава фитопланктонной пробы и определенного сочетания основных физико-химических факторов среды - температуры, pH и концентрации элементов минерального питания, в т.ч. углекислого газа (карбонат-ионов) [2]. Сопоставление световой кривой ETR и интенсивности света на том горизонте водной толщи, с которого была взята проба фитопланктона, дает возможность подтвердить или исключить световой характер лимитирования роста клеток водорослей в природных условиях.

Особое внимание уделено сравнительно новому экспериментальному подходу к экспресс-диагностике дефицита элементов минерального питания. Метод построен на регистрации (присутствии или отсутствии) так называемого NIFT-сигнала флуоресценции (Nutrient Induced Fluorescence Transient) в первые минуты после добавления питательных элементов в среду с клетками водорослей [3]. Приведены результаты модельных

NIFT- экспериментов с культурами водоросли *Chlorella vulgaris*, выращенных на среде без минерального дефицита и на средах с дефицитом либо азота, либо фосфора. Показана селективность NIFT- сигналов флуоресценции хлорофилла к различным типам минерального дефицита, а так же возможность детекции NIFT- сигналов при содержании хлорофилла в пробе около 2 мкг/л на флуориметре собственной разработки с низким уровнем шума.

1. Figueroa F.L, Conde-Alvarez R, G'omez I. Relations between electron transport rates determined by pulse amplitude modulated chlorophyll fluorescence and oxygen evolution in macroalgae under different light conditions // *Photosynth Res.*, 2003, 75, pp 259–275.
2. Linda A. Franklin, Murray R. Badger A Comparison of Photosynthetic Electron Transport Rates in Macroalgae Measured by Pulse Amplitude Modulated Chlorophyll Fluorometry and Mass Spectrometry // *J. Phycol.*, 2001, 37, pp 756-767.
3. D. J. Suggett, O. Prasil, M. A. Borowitzka. Chlorophyll a Fluorescence in Aquatic Sciences: Methods and Applications. –UK: Springer, 2010. 322 p.

МЕХАНИЧЕСКАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ В ГОРОДСКОЙ СРЕДЕ THE MECHANICAL RESISTANCE OF WOODY PLANTS IN URBAN ENVIRONMENT

Корниенко В.О.

ГОУ ВПО Донецкий национальный университет, кафедра биофизики, 83050, г. Донецк, ул. Щорса, 46., e-mail: dayterry@rambler.ru

Механическая устойчивость зеленых насаждений к статическим и динамическим нагрузкам определяется несколькими основными факторами: морфологией и архитектоникой кроны и корневой системы [1-4, 7], а также биомеханическими свойствами тканей [4-6, 12, 13].

Биомеханические свойства древесных растений в значительной мере определяют их экологические свойства, например, распространение вибрационных сигналов животных, топически связанных с ними [8-9]; вибрационные параметры деревьев, которые отражаются на взаимодействии деревьев с грунтом [10]; освещенность под древесным пологом, величина которой отражается на формировании экологической структуры фитоценоза [11]; способность дерева удерживать собственную массу и противостоять внешним нагрузкам, например, действию ветра и осадков, особенно в виде снега и наледи [5, 6]. Тем не менее, малоисследованными остаются вопросы механической устойчивости деревьев в условиях антропогенно-трансформированной среды.

Исследования выполнены в период с 2015 по 2019 гг. на территории города Донецка. Контрольными считались древесные растения, произрастающие в дендрарии Донецкого ботанического сада (Южный массив), экспериментальными – насаждения, произрастающие в условиях влияния автомагистралей города. Для вычисления модуля упругости тканей, расчета механической устойчивости растений к нагрузкам по параметрам P_{cr} (критическая нагрузка), RRB (относительное сопротивление изгибу), m_{cr} (критическая масса), H_{cr} (критическая высота), EI (жесткость на изгиб) использовались общепринятые методы, описанные в работах [12-14].

В результате мониторинговых исследований установлено, что в условиях городской среды древесные растения *Acer negundo* L., *Acer saccharinum* L., *Betula pendula* Roth, *Tilia cordata* Mill. имеют недостаточную механическую устойчивость с общим баллом 4 из 12. Высокой устойчивостью обладают следующие виды: *Populus nigra* L. (12 б.), *Robinia pseudoacacia* L. (12 б.), *Fraxinus excelsior* L. (11 б.), *Fraxinus lanceolata* Borkh (11 б.), *Ulmus laevis* Pall. (11 б.), *Aesculus hippocastanum* L. (10 б.), *Quercus robur* L. (10 б.), *Acer pseudoplatanus* L. (9 б.), *Gleditschia triacanthos* L. (9 б.), *Populus bolleana* Lauche. (9 б.). Выявлены адаптивные стратегии механической устойчивости деревьев связанные с модулем упругости тканей.

1. Read J., Stokes A. Plant biomechanics in an ecological context // *American journal of botany*, 2006. – Vol. 93. – №10. – P. 1546-1565. DOI: 10.3732/ajb.93.10.1546
2. Sellier D., Fourcaud T. Crown structure and wood properties: influence on tree sway and response to high winds // *American Journal of Botany*, 2009. – N 96. – P. 885–896. DOI: 10.3732/ajb.0800226
3. Niklas K.J. Plant Allometry: the scaling of form and process. – Chicago: University of Chicago Press, 1994. – 365 p.
4. Niklas K.J. Plant biomechanics: an engineering approach to plant form and function. — Chicago: University of Chicago Press, 1992. — 622 p.
5. Корниенко В.О., Нецветов М.В. Криоскопия влаги и температурная зависимость модуля упругости древесины // *Вісті Біосферного заповідника "Асканія-Нова"*, 2014. – Т. 16. – С. 88–94.
6. Корниенко В. О., Нецветов М. В. Влияние отрицательных температур на механическую устойчивость

- дуба красного (*Quercus rubra* L.) // Промышленная ботаника, 2013. – Вып. 13. – С. 180–186.
7. Dahle G.A. et al. A review of factors that affect the static loadbearing capacity of urban trees // *Arboriculture & Urban Forestry*, 2017. – Vol. 43(3). – P. 89–106.
 8. Cocroft R.B., Rodríguez R.L. The behavioral ecology of insect vibrational communication // *BioScience*, 2005. – Vol. 55 (4). – P. 323-334.
 9. Fowler–Finn K.D. et al. Local population density and group composition influence the signal-preference relationship in *Enchenopa* treehoppers (Hemiptera: Membracidae) // *Journal of Evolutionary Biology*, 2017. – Vol. 30. – P. 13-25.
 10. Нецветов М. В. Передача энергии ветра по радиалам лесных биогеоценозов и ее значение в процессах почвообразования // *Экологія та ноосферологія*, 2011. – Т. 22., №3-4. – С. 99–108.
 11. Нецветов М.В. Вплив вітру на освітленість піднаметового простору *Acer saccharinum* L. та *A. pseudoplatanus* L. // *Український ботанічний журнал*, 2012. – Т 69. – № 1. – С. 46-53.
 12. Корниенко В.О. и др. Влияние температуры на биомеханические свойства древесных растений в условиях закрытого и открытого грунта // *Сибирский лесной журнал*, 2018. – №6. – С. 91-102. DOI: 10.15372/SJFS20180608
 13. Корниенко В.О., Калаев В.Н. Механическая устойчивость древесных пород и рекомендации по предотвращению их аварийности в городских насаждениях. – Воронеж: Роза Ветров, 2018. – 92 с.
 14. Корниенко В.О., Приходько С.А. Новый методический подход к оценке механической устойчивости зелёных насаждений в городской среде // *Самарский научный вестник*, 2018. – Т. 7. – № 2 (23). – С. 72-77.

БИОФИЗИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ В ФЕРМЕНТАТИВНЫХ БИОТЕСТАХ

BIOPHYSICAL APPROACHES IN ENZYMATIC BIOASSAYS

Кратасюк В.А.^{1, 2}

¹Сибирский федеральный университет, Красноярск,

²Институт биофизики СО РАН, Красноярск, valkrat@mail.ru

Исторически применение биолюминесценции в токсикологии началось с использования светящихся бактерий, и они до сих пор широко используются. В отличие от классических тестируемых объектов, таких как парameции, водоросли, дафнии и т.п., анализ в биотестах на светящихся бактериях происходит быстрее (<30 мин). Однако, как и в случае других организмов, светящиеся бактерии имеет много недостатков, связанных с использованием живых объектов. Так, трудности поддерживать стабильное состояние бактериальной культуры во время измерений и при хранении приводят к низкой точности измерения. При этом реакция бактерий на токсичные вещества неоднозначна и выражается как в уменьшении, так и в увеличении интенсивности светоизлучения, что часто приводит к неоднозначной интерпретации результатов. Из-за этих недостатков биотест на светящихся бактериях также не дает надежных результатов. Для решения проблем ферментативного анализа и биотестирования предлагается новый подход к разработке ферментативных биосенсоров, а также биотестов на токсичность. В противовес методам химического анализа, которые занимаются поиском в окружающей среде известных загрязнителей и токсичных веществ и сравнивают их концентрацию с ПДК, предлагаются методы ферментативного биотестирования, позволяющие решить проблему обнаружения неизвестных многочисленных химических соединений в окружающей среде, пищевых продуктах и др. объектах. Ферментативные биотесты дают интегральную оценку качества или загрязнения анализируемой среды и, также же как классические биотесты, показывают влияние вредных веществ на функции живых организмов (рыбы, водоросли, растения, дафнии, бактерии и т.д.), но в качестве тест объекта используют ферментативные реакции, отвечающие за биологические функции, например, дыхание, подвижность и т.д. Предложена новая методология комплексного ферментативного биотеста, предусматривающая замену живых организмов, используемых в качестве тест-систем в биотестах, на набор репрезентативных ферментативных систем, составляющих комплексный ферментативный биотест. Каждая из ферментативных систем моделирует, как правило, одну ключевую функцию организма. Выявлены принципы выбора ферментных систем исходя из задач исследования. Определены составы такого теста для исследования загрязнения городских и сельскохозяйственных почв, на основе специфического действия токсикантов на ферменты. Была разработана методология получения иммобилизованных реагентов «Энзимолном», содержащих в своем составе ферменты и их субстраты для проведения одного измерения, по сути являющихся биологическим модулем биосенсора. Предлагаемые подходы обеспечивают ферментативным биотестам ценовые преимущества, универсальность, высокую чувствительность и точность, быстрый отклик, а реагенты обладают стабильностью и увеличенным сроком хранения. Была разработана экспериментальная ферментативная модель организма (ФМО) как новый комплексный биотест для оценки качества почвы. ФМО используется также для мониторинга природных и промышленных водных экосистем, загрязнения воздуха, а также для анализа качества пищевых продуктов, разнообразных материалов, включая наноматериалы.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект № 16-14-10115.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ФИТОПЛАНКТОННОГО СООБЩЕСТВА ПОЛЯРНЫХ МОРЕЙ РОССИИ МИКРОФЛУОРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

THE MICROFLUORIMETRIC STUDY OF THE PHYTOPLANKTON FUNCTIONAL STATE IN THE ARCTIC SEAS OF RUSSIA

Кузнецов А.Г., Погосян С.И.

Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, pogosyan@biophys.msu.ru

Полярные моря России – Карское море и море Лаптевых – являются нетипичными низко продуктивными гидробиологическими сообществами. Одна из причин низкого содержания фитопланктона и низкой первичной продукции – ледовый покров на поверхности в течение 7-8 месяцев в году и низкие температуры вод от -1,7 до +6°C на протяжении всего года.

Даже в благоприятный для фитопланктона сезон, водная толща имеет двуслойную структуру, слои в которой не перемешиваются. Такая структура вод обусловлена мощным речным стоком – в Карское море впадают реки Обь, Енисей и др. с общим стоком около 1350 км³ в год. Кроме того, данные моря имеют малую глубину и в них отсутствуют выраженные течения. Верхний слой легкой воды со слабой соленостью по данным гидрохимии практически лишен биогенных элементов, а нижний, тяжелый слой воды с высокой соленостью, богат биогенами. Но, как правило, нижний слой находится за пределами глубин, на которых процессы фотосинтеза способны обеспечить рост водорослей ввиду низкой интенсивности освещения. Причиной этому служит относительно низкая инсоляция - максимальная интенсивность на поверхности достигает 200 мкЕ/м²*с и высокая рассеивающая способность вод речного стока.

Таким образом, для роста и размножения фитопланктона в верхнем слое воды не хватает биогенных элементов, а в нижнем – света. Закономерности функционирования фитопланктонного сообщества в таких условиях не описаны. Стандартные гидробиологические методы не подходят для данных условий. Для решения данного вопроса нами был применен микрофлуориметрический метод оценки состояния фотосинтетического аппарата индивидуальных клеток микроводорослей. Экспедиционные работы были проведены в 72 рейсе НИС «Академик Мстислав Келдыш» в августе-сентябре 2018 года.

В работе рассмотрены параметры флуоресценции индивидуальных клеток микроводорослей, измеренные микрофлуориметрическим методом. Пробы с различных водных горизонтов, отобранные батометрическим методом, фильтровали на холоде, после чего темноадаптировали в холодильнике при +4°C в течение 2х часов, после чего производили измерения световой кривой индивидуальных клеток микроводорослей, так же с поддержанием температуры +4°C в измерительной камере.

Рассматривали связь способности к не фотохимическому тушению (NPQ) и значения переменной флуоресценции (Fv/Fm) с глубиной пробоотбора. Статистический анализ проводили в программе IBM SPSS 23. Показаны различия в функционировании фотосинтетического аппарата клеток микроводорослей, отобранных с разной глубины. Предложен механизм активного перемещения фитопланктона между слоями воды.

ВОЗДЕЙСТВИЕ СЛАБЫХ МАГНИТНЫХ ВОЗМУЩЕНИЙ НА СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТУЮ СИСТЕМУ В УСЛОВИЯХ ЕСТЕСТВЕННОГО И ОСЛАБЛЕННОГО ГЕОМАГНИТНОГО ПОЛЯ

WEAK MAGNETIC DISTURBANCES IMPACT ON CARDIOVASCULAR SYSTEM UNDER THE CONDITIONS OF NATURAL AND SHIELDED GEOMAGNETIC FIELD

Кузьменко Н.В.^{1,2}, Щеголев Б.Ф.^{1,3}, Плисс М.Г.^{1,2}, Цырлин В.А.¹

¹ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

²Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

³ФБГУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

Исследовано воздействие слабых магнитных возмущений на систолическое артериальное давление (САД), межсистоличный интервал (МСИ), а также низкочастотный (НЧ), высокочастотный (ВЧ) и НЧ/ВЧ компоненты спектра вариабельности сердечного ритма в условиях естественного и экранированного магнитного поля Земли. Работа проводилась на самцах крыс линии Wistar, помещенных в экранирующую и имитационную камеры. В контрольной и опытной группах крыс исследовалась корреляция планетарных Kp и Ap индексов (ftp://ftp.swpc.noaa.gov/pub/indices/old_indices) с параметрами гемодинамики и компонентами спектра вариабельности сердечного ритма.

У крыс в имитационной камере были выявлены: прямая корреляция между индексами геомагнитной активности и САД, а также между индексами геомагнитной активности и НЧ и ВЧ компонентами спектра вариабельности сердечного ритма. В экранирующей камере индексы геомагнитной активности не коррелировали с исследуемыми параметрами. В условиях экранированного геомагнитного поля связь между

среднесуточным атмосферным давлением и САД существенно ослаблялась. Сделан вывод о том, что слабые геомагнитные возмущения оказывают влияние на функционирование сердечно-сосудистой и вегетативной нервной систем. Высказанная гипотеза о воздействии геомагнитной активности на процессы оксигенации крови позволяет объяснить противоречивость результатов, полученных разными авторами при исследовании влияния геомагнитных возмущений на организм, поскольку помимо геомагнитной активности на оксигенацию крови оказывают влияние и другие метеорологические факторы (атмосферное давление, температура и влажность воздуха). Кроме того на насыщенность крови кислородом влияют и различные патологические процессы внутри самого организма (заболевания крови, патология сердечно-сосудистой, эндокринной, дыхательной систем и др.), которые могут повысить метеочувствительность организма.

ВЛИЯНИЕ ВОСЬМИЧАСОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ НА ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС

THE EFFECT OF THE EIGHT-HOUR EXPOSURE TO A LOW-INTENSITY ELECTROMAGNETIC FIELD ON LABORATORY RATS

Лопаткина Н.В., Буянов Л.С., Лобкаева Е.П.

Российский Федеральный Ядерный Центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики (РФЯЦ-ВНИИЭФ), Нижегородская обл., г. Саров, пр. Мира, д.37, тел: (83130)2-52-99, факс: (83130)2-53-00, memf@bfr.vniief.ru

Исследования показывают высокую биотропность электромагнитных полей и излучений с определенными параметрами. В большинстве таких исследований, биотропность определяется количеством поглощенной организмом энергии. Одним из путей повышения биоэффективности низкоинтенсивных электромагнитного поля (ЭМП) может являться увеличение времени воздействия на организм.

Целью настоящей работы являлось исследование влияния на лабораторных животных низкоинтенсивного ЭМП радиочастотного диапазона в условиях длительного воздействия.

В качестве воздействующего фактора использовали модулированное ЭМП частотой 1 ГГц с амплитудной модуляцией. Величина плотности потока энергии в зоне воздействия не превышала 170 мкВт/см². Объектом исследования являлись лабораторные крысы-самцы массой от 260 до 320 граммов в количестве 96 особей, разделенные на экспериментальную и контрольную группы (которые поделены на подгруппы по 16 голов по методикам исследования). Крысы подвергались восьмичасовому воздействию модулированного ЭМП. После воздействия оценивали работоспособность (тест «принудительное плавание с грузом до отказа» [1,2], моторную координацию (тест «вращающийся стержень») и поведение (тест «Открытое поле») [3].

Воздействие ЭМП привело к повышению работоспособности крыс, выражающемуся в двукратном увеличении времени наступления утомления ($p \leq 0,01$). При этом у животных зарегистрировали вдвое ($p \leq 0,01$) сокращение времени удержания на вращающемся стержне, что свидетельствовало о снижении устойчивости вестибулярного аппарата к предъявляемой динамической нагрузке. При исследовании поведения использовали интегральные показатели: ИПА (индекс поведенческой активности) и ИПП (индекс поведенческой пассивности). Сопоставление значений интегральных показателей ИПА и ИПП позволило выявить тенденцию к смещению баланса времени реализации животными активных и пассивных паттернов (стереотипных форм). После воздействия ЭМП индекс поведенческой активности составил $65,4 \pm 4,6$ %, в то время как в контроле он равнялся $56,7 \pm 5,3$ %.

Таким образом, установили, что восьмичасовое воздействие оказывает стимулирующее влияние на механизмы адаптации к физическим нагрузкам, но отрицательно влияет на работу вестибулярного аппарата в условиях динамического теста на равновесие. В структуре поведения заметных изменений показателей двигательной активности не наблюдали.

Можно предположить, что электромагнитное поле вызвало активизацию стресс-лимитирующих систем, которая способствовала мобилизации энергетических ресурсов и защитных компенсаторных реакций организма, что обусловило поддержание работоспособности на высоком уровне.

1. Волчегорский И.А. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма / Волчегорский И.А. Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейликман В.Э. // Челябинск: Изд-во Челябинского гос. пед. ун-та., 2000. – С. 13 – 15.
2. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. – М.: Профиль–2С, 2010. – 358 с.
3. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения: Пер. с англ. Е.Н. Живописцевой / Буреш Я.и др. – М, 1991. – 399 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ НА МОТОРНУЮ КООРДИНАЦИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС

INVESTIGATION OF ELECTROMAGNETIC FIELD ON MOTOR COORDINATION OF LABORATORY RATS

Лопаткина Н.В., Девяткова Н.С., Лобкаева Е.П.

Российский Федеральный Ядерный Центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики (РФЯЦ-ВНИИЭФ), Нижегородская обл., г. Саров, пр. Мира, д.37, тел: (83130)2-52-99, факс: (83130) 2-53-00, temf@bfr.vniief.ru

В работе представлены результаты исследования влияния электромагнитного поля (ЭМП) радиочастотного диапазона и низкочастотного магнитного поля (НМП) на моторную координацию лабораторных животных.

Объектом исследования являлись беспородные лабораторные крысы-самцы массой от 180 до 250 граммов в количестве 64 особей. В качестве воздействующих факторов использовали ЭМП частотой 1 ГГц с амплитудной модуляцией и НМП с максимальным значением магнитной индукции 1,6 мТл с частотой 110 Гц.

Животные были разделены на группы: ЭМП, НМП, последовательное воздействие ЭМП и НМП, контрольная группа. Оценивали состояние моторной координации на основе теста «вращающийся стержень».

Сразу после воздействия электромагнитного поля радиочастотного диапазона и низкочастотного магнитного поля моторная координация животных не изменяется. Эффект действия ЭМП радиочастотного диапазона проявляется отсрочено, через трое суток выражается в значительном уменьшении времени удержания животного на вращающемся стержне (в 4 раза ($p \leq 0,05$)), что указывает на снижение устойчивости вестибулярного аппарата животных к предъявляемой нагрузке. Воздействие НМП после ЭМП радиочастотного диапазона показало тенденцию к повышению моторной координации животных. Это может служить предпосылкой для использования НМП в целях повышения устойчивости вестибулярного аппарата в качестве средства положительной модификации для животных со сниженной координацией движения.

ГЕМОЛИЗНАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА К ДЕЙСТВИЮ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ПОЛЯ ВЫСОКОЙ НАПРЯЖЕННОСТИ (50ГЦ)

HEMOLYTIC RESISTANCE OF HUMAN ERYTHROCYTES TO THE EFFECT OF HIGH-INTENSITY ELECTRIC FIELD (50HZ)

Дадашов М.З., Магеррамова С.М.

Институт Биофизики НАН Азербайджана, Баку, Азербайджан.

Возрастающее потребление энергетических ресурсов приводит к росту опасных для здоровья последствий, связанных с воздействием электромагнитных полей (ЭМП) 50 Гц на организм человека, что и определяет актуальность его изучения. С этой целью было изучено влияние ЭМП 50 Гц создаваемые источником напряжения (30 кВ/м) на осмотическую прочность изолированных эритроцитов человека. Воздействию электромагнитного поля высокой напряженности (ЭПВН) подвергалась суспензия эритроцитов практически здоровых людей в течении 1-6 часов. По кривой осмотической хрупкости, которая дает информацию об изменениях эластичности и ионной проницаемости мембран эритроцитов, играющих важную роль в метаболической активности этих клеток судили о повреждающем действии ЭПВН. Кривая контрольной эритрограммы имеет симметричный вид, что указывает на наличие динамического равновесия устойчивости в суспензии эритроцитов крови, при которой максимум гемолиза наблюдается при концентрации 0,55 % NaCl. После воздействия ЭПВН длительностью до 6-и часов, график кривой получает асимметричный вид, а сам гемолиз начинается при более высоких концентрациях относительно контроля, при этом максимум на половину менее интенсивнее контрольного, который сдвигается в сторону более низких значений NaCl (0,33 %). Такое распределение обычно появляется при резком нарушении равновесия устойчивости в виде изменения проницаемости мембран для молекул воды, что свидетельствует о вызываемых нарушениях их функции и взаимодействия с соседними клетками. Эти изменения указывают на наличие определенной токсичности ЭП 50 Гц для клеток крови.

ОЦЕНКА АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ НА СОСТОЯНИЕ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЛУОРИМЕТРА M-PEA

EVALUATION OF THE ANTHROPOGENIC EFFECT ON THE WOODEN PLANTS BY USING FLUORIMETER M-PEA

Яковлева О.В., Алексеев А.А.¹, Горячев С.Н., Маторин Д.Н.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, кафедра биофизики, Москва, oyakov@biophys.msu.ru,

¹Северо-Восточный федеральный университет им. М.К.Аммосова, г. Якутск

Устойчивость растения к неблагоприятным воздействиям определяется эффективностью функционирования фотосинтетического аппарата растения, работу которого можно оценивать, измеряя параметры флуоресценции хлорофилла *a*, содержащегося в хлоропластах листьев и коры растений [1]. Многими исследованиями показано, что эти методы быстры и информативны. Высокая чувствительность фотосинтетического аппарата к повреждающим воздействиям позволяет использовать эти методы для экологических исследований [2,3,4]. Работы с использованием PEA-флуориметрии [3,5], регистрации быстрой и замедленной флуоресценции и редокс-состояния P700 [4,5,6] ранее уже выполнялись, однако одновременные измерения быстрой флуоресценции, замедленной флуоресценции и редокс-состояния P700 для определения состояния фотосинтетического аппарата у растений в городских условиях с целью исследования экологического благополучия областей их произрастания выполнены впервые.

Целью настоящей работы было изучение состояния фотосинтетического аппарата растений и оценка возможности использования параметров, полученных при одновременном измерении индукционных кривых быстрой и замедленной флуоресценции хлорофилла и редокс-состояния P700 для экспресс-мониторинга физиологического состояния деревьев при антропогенной нагрузке.

На флуориметре M-PEA2 проведены исследования влияния загрязнений вблизи городских магистралей г. Москвы на фотосинтез липы (*Tilia cordata L.*) и березы (*Betula alba L.*). Одновременные измерения быстрой флуоресценции, замедленной флуоресценции и редокс-состояния P700, а также анализ индукционных кривых флуоресценции с использованием JIP – теста [7] показал подавление эффективности преобразования энергии в фотосистеме II, функциональной активности фотосистемы I и цепи переноса электронов между ними, замедление восстановления пигмента P₇₀₀, а также ΔpH-зависимого нефотохимического тушения (q_E) и способности пула хинонов тушить флуоресценцию q_{PQ} у растений, произрастающих на загрязненных территориях. Было обнаружено отсутствие прямого действия загрязнений на реакции окисления пигмента фотосистемы I P₇₀₀ и влияния на кинетику замедленной флуоресценции, связанной с энергизацией фотосинтетических мембран.

Регистрация индукции быстрой и замедленной флуоресценции и редокс-состояния P700 листьев деревьев, произрастающих в различных экологических условиях, позволило выявить наиболее чувствительные параметры и рекомендовать их использование для экологического мониторинга в условиях антропогенной нагрузки, когда внешних признаков физиологического неблагополучия растений не наблюдается. Наиболее чувствительными параметрами оказались индекс производительности (PI_{ABS}) - показатель функциональной активности фотосистемы II и индекс производительности (PI_{total}), показатель функциональной активности фотосистемы II, фотосистемы I и цепи переноса электронов между ними. Отклонение этих параметров от контрольных может свидетельствовать об изменениях на ранних стадиях токсического воздействия, когда внешних признаков физиологического неблагополучия растений не наблюдается. Использование этих параметров может быть рекомендовано для оценки функциональной активности фотосинтетического аппарата растений и раннего обнаружения ее изменений в условиях антропогенной нагрузки, когда экологическая обстановка не является критической.

1. R. J. Strasser et al. In Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis. Advances in photosynthesis and respiration, Eds. G. Pa-pageorgiou and Govindjee (Springer, Dordrecht). 2004. V.19. P.321-362.
2. Clark A.J. et al., Beech (*Fagus sylvatica*) response to ozone exposure assessed with a chlorophyll a fluorescence performance index. Environmental Pollution.109. 2000. P. 501–507.
3. Волгушева А.А. и др. Использование показателя PI для оценки физиологического состояния деревьев в городских экосистемах// Биофизика. 2011. Т.56. В.1. С.105-112.
4. Гольцев В.Н. и др. Переменная и замедленная флуоресценция хлорофилла а – теоретические основы и практическое приложение в исследовании растений // Москва–Ижевск: ИКИ. 2014. 220 с.
5. Strasser R.J. et al. Simultaneous in vivo recording of prompt and delayed fluorescence and 820-nm reflection changes during drying and after rehydration of the resurrection plant *Haberlea rhodopensis*// Biochim. Biophys. Acta. 2010. 1797:1313–1326.
6. Kun Yan1 et al./ Front. Plant Sci. 2018. 07 May. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00479>
7. Thach L. B. et al.// The OJIP fast fluorescence rise characterizes Craptophyllum species and their stress responses// *Photosynthesis Research*. 2007. May. V.94, №2. P.423–436.

ЭВОЛЮЦИЯ РЕЖИМОВ ДИНАМИКИ ЧИСЛЕННОСТИ СТРУКТУРИРОВАННОЙ ЛИМИТИРОВАННОЙ ПОПУЛЯЦИИ**EVOLUTION OF DYNAMICS MODES OF A STRUCTURED LIMITED POPULATION*****Неверова Г.П.^{1,2}, Жданова О.Л.^{1,2}, Фрисман Е.Я.²***¹Институт автоматизации и процессов управления, Владивосток²Институт комплексного анализа региональных проблем, Биробиджан

В теоретических исследованиях структурированных популяций неоднократно было показано, что увеличение репродуктивного потенциала и параметров, характеризующих выживаемость особей, приводит к усложнению динамики численности от стабильных режимов до нерегулярных колебаний. Однако механизмы роста репродуктивного потенциала, как правило, не рассматривались. Вместе с тем, можно предположить, что рост потенциальной плодовитости особей в природных популяциях происходит в процессе их эволюции под действием естественного отбора. Если это так, то в процессе естественной эволюции природной популяции с выраженной сезонностью жизненного цикла должен происходить закономерный переход от равновесных режимов динамики численности к колебаниям и хаосу (псевдостохастическому поведению). Данная работа посвящена исследованию возможности такого эволюционного перехода.

Рассматривается простейшая модель эволюции двухвозрастной популяции, в которой плотностно-зависимые факторы лимитируют интенсивность рождаемости, но при этом репродуктивный потенциал определяется генетически и подвержен действию естественного отбора. Механизм закономерного эволюционного усложнения динамики численности структурированной популяции, иллюстрируется на примере одной из самых простых модельных ситуаций, когда репродуктивный потенциал – максимально возможная плодовитость особей – является адаптивным признаком, который определяется одним аутосомным диаллельным локусом с аллеломорфами A и a . В рамках двухаллельной ситуации в популяции существуют три генотипические группы AA , Aa и aa с различающимися репродуктивными потенциалами. В целом модель представляет собой систему четырех уравнений. Первые два уравнения описывают динамику численности двух возрастных классов популяции (молодь и зрелые особи). Два следующих описывают динамику частот генов, определяющих репродуктивный потенциал, т.е. описывают сам процесс микроэволюции.

Найдены генетически мономорфные и полиморфная стационарные точки модели, определены условия их существования. Для стационарных точек найдены условия их устойчивости. В соответствии с результатами анализа стационарных точек системы проведено численное исследование модели в различных параметрических областях. Проведена классификация областей различного динамического поведения численности и генетического состава популяции.

Показано, что в рассмотренной модели в случае пониженного репродуктивного потенциала гетерозигот в популяции возникает явление бистабильности. Бистабильность проявляется в том, что устойчивыми являются оба мономорфных состояния равновесия и начальные соотношения численностей возрастных классов и частот аллелей определяют тот генотип, который останется в популяции. В частности, показано, что при одинаковых репродуктивных потенциалах гомозигот области притяжения разных мономорфных равновесий в пространстве частот равны и симметрично расположены. При разных репродуктивных потенциалах гомозигот, область притяжения мономорфного равновесия для гомозиготы с большим репродуктивным потенциалом больше, чем для гомозиготы с меньшим репродуктивным потенциалом. Начальные численности возрастных классов популяции также оказывают влияние на тип достигаемого мономорфного состояния. Действительно, возможна ситуация, когда генетический состав популяции будет постоянным, при этом изменение численностей возрастных групп может привести к тому, что начнет преобладать другая гомозигота.

В рамках рассматриваемой ситуации возможен такой эффект как «ловушка бистабильности», когда более перспективная форма не может естественным образом вытеснить явно более слабого по репродуктивным показателям генетического конкурента. Однако падение численности популяции, вызванное внешними причинами, и связанные с этим случайные процессы (известные, как «прохождение через бутылочное горлышко») могут привести к случайной флуктуации генетического состава и «перескоку» популяции в состояние, обеспечивающее транзит от одного мономорфного состояния к другому, адаптивно более выигрышному, но ведущему к дестабилизации динамики численности.

В целом показано, что появление новых аллелей (например, в результате мутаций), обеспечивающих больший репродуктивный потенциал особей, приводит к естественному отбору этих аллелей и закономерному эволюционному росту среднего значения репродуктивного потенциала в популяции. Однако это увеличение среднего значения репродуктивного потенциала при плотностной регуляции рождаемости приводит к дестабилизации динамики численности возрастных групп. Сценарии изменений режимов динамики могут быть различны и зависят от параметров модели, но основной результат всегда одинаков: динамика становится все более сложной и, как правило, все более хаотической.

Работа выполнена в рамках государственных заданий Института автоматизации и процессов управления ДВО РАН, Института комплексного анализа региональных проблем ДВО РАН, а также при частичной финансовой поддержке РФФИ (проект 18-04-00073 а) и Программы фундаментальных исследований РАН «Приоритетные научные исследования в интересах комплексного развития Дальневосточного отделения РАН» (проект 18-5-013).

АНАЛИЗ МОНИТОРИНГА ЭКОСИСТЕМЫ НАРОЧАНСКИХ ОЗЁР: ЗАВИСИМОСТЬ МЕЖДУ ДИНАМИКОЙ БАКТЕРИОПЛАНКТОНА И ТРОФИЧЕСКИМ СТАТУСОМ ВОДОЁМА

ANALYSIS OF MONITORING OF THE ECOSYSTEM NAROCH LAKES: DEPENDENCE BETWEEN THE DYNAMICS OF BACTERIOPLANKTON AND TROPHIC STATUS OF THE RESERVOIR

Адамович Б.В., Медвинский А.Б.¹, Никитина Л.В., Радчи́кова Н.П.², Михеева Т.М., Ковалевская Р.З., Верес Ю.К., Чакраборти А.³, Русаков А.В.¹, Нуриева Н.И.¹, Жукова Т.В.

Белорусский государственный университет, Минск, Белоруссия

¹ИТЭБ РАН, Пушкино, Россия

²Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

³Школа математики, статистики и вычислительных наук, Раджастан, Индия

Нарочанские озёра это система связанных озёр, расположенных в республике Беларусь. Отличительной особенностью этих озёр является то, что они различаются по трофности – биологической продуктивности водоёма (Адамович и др., 2016). Для количественной оценки трофического статуса водоёмов используют трофический индекс, концепция которого была разработана Карлсоном в 1977 г. (Carlson, 1977). Индекс Карлсона используется в трёх вариантах: индекс, рассчитанный по прозрачности воды по диску Секки, TSI, индекс Карлсона, рассчитанный по концентрации хлорофилла *a*, TSI_{chl} и трофический индекс, рассчитанный по концентрации растворенного фосфора, TSI_{tr}. Среди этих индексов TSI_{chl} является, по-видимому, наиболее адекватным для Нарочанских озёр, поскольку непосредственно сопоставляется с фактором, который влияет на продуктивность водоёма. Нами были проанализированы корреляции между обилием бактериопланктона и трофическим индексом TSI_{chl} как в каждом из водоёмов, так и во всей системе Нарочанских озёр в целом. Было показано, что, несмотря на то, что динамика обилия бактериопланктона и динамика содержания хлорофилла *a* в каждом из озёр Нарочанской группы не коррелируют друг с другом, система Нарочанских озёр как целое характеризуется отчётливой линейной зависимостью между вариациями во времени численных значений индекса TSI_{chl} в каждом из водоёмов, входящих в систему Нарочанских озёр: оз. Баторино, оз. Мястро, малый плёс оз. Нарочь, большой плёс оз. Нарочь, – и соответствующими вариациями обилия бактериопланктона. Этот результат означает, что обилие бактериопланктона неразрывно связано с трофическим статусом исследуемых водоёмов, характеризуемого величиной трофического индекса, вычисленного по концентрации хлорофилла *a*.

1. Carlson R.E. A trophic state index for lakes // *Limnol. Oceanogr.*, 1977, V. 11, P. 361–369.

2. Адамович Б.В., Жукова Т.В., Михеева Т.М., Ковалевская Р. З., Лукьянова Е.В. Многолетние изменения индекса трофического состояния Нарочанских озер и его связь с основными гидроэкологическими параметрами. // *Водные ресурсы*, 2016, Т. 43, № 5, С. 535-543.

ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОГОРЬЯ НА ВОЛНОВУЮ МОДУЛЯЦИЮ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У ЛЮДЕЙ С РАЗЛИЧНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ГИПОКСИИ

THE EFFECT OF HIGH ALTITUDE ON THE WAVE MODULATION OF HEART RHYTHM IN PEOPLE WITH DIFFERENT RESISTANCE TO HYPOXIA

Пак Г.Д., Салихов Н.М.¹, Самойленко Т. В.²

ДТОО «Институт ионосферы» АО НЦКИТ, г. Алматы, E-mail: gpak1@yandex.ru

РГП «Институт физиологии человека и животных», г. Алматы, Казахстан

Работа посвящена исследованию спектральных характеристик variability ритма сердца в диапазоне частот от 0,4 до 0,003 Гц у людей в условиях высокогорья. Variability ритма сердца (BPC) регистрировали с точностью R-R интервалов электрокардиограммы кардиомониторами фирмы «Polar» (Финляндия). в первой половине дня через 30-40 минут после прибытия на высоту. Подъем на высоту осуществляли автотранспортом. Исследования выполнены на высоте 2500м, 2750м, 3340м, контрольные измерения - на высоте 850 м над ур.м. Продолжительность регистрации BPC 30-35 минут, во время которой испытуемые находились в состоянии покоя в положении лежа в теплом помещении. Участники исследования (n=20) - добровольцы были разделены на две группы: 1 группа – молодые условно здоровые люди 20-35 лет, 2 группа – люди 40-68 лет.

Результаты исследования. У всех испытуемых независимо от возраста отмечено повышение ЧСС, прогрессирующее с высотой подъема, что является одним из экстренных механизмов компенсации дефицита кислорода во вдыхаемом воздухе. На выраженность реакции в основном влияла степень устойчивости организма к гипоксии.

Высота 2750 м. У молодых людей по прибытию на высоту 2750м произошло незначительное повышение общей мощности спектра (TP) и спектра мощности VLF (0,04-0,003 Гц) с увеличением вклада последнего в общую мощность спектра в среднем на 8,9%. В соотношении LF (0,15 -0,04 Гц)/HF (0,4-0,15 Гц) изменения были разнонаправленными. У обследуемых 2 группы на высоте 2750м наблюдалась основному противоположная реакция - уменьшение TP и мощности спектра VLF соответственно в среднем на 29,5% и 42,4%. Исключение составили только те лица, кто активно занимается спортом и периодически поднимается на такие высоты, их реакция была аналогичной таковой у обследуемых 1 группы.

Высота 2500 м. Подъем на высоту 2500 м сочетался у испытуемых 1 группы с пешим переходом на завершающей стадии маршрута в течение 20-30 минут. У большинства лиц сочетанная нагрузка приводила к повышению TP в среднем на 24,7% и мощности спектра VLF –на 32,2%, у остальных лиц произошло снижение показателей соответственно на 48,1% и 48,3%. Наибольшее снижение TP и мощности спектра VLF соответственно до 77 и 82,7% произошло у лиц с резким ухудшением самочувствия. Показательно, что у альпиниста с большим стажем восхождений на экстремальные высоты, а также у адаптированного к гипоксии испытуемого увеличение TP не превышало 1%, а мощности спектра VLF – 14- 17%.

Высота 3340 м. При дальнейшем подъеме до высоты 3340 м повышенные показатели сменились снижением TP и VLF спектра в среднем соответственно на 26 и 31,2%. Вклад спектра VLF в общую мощность спектра увеличился в среднем на 25,8%, что указывало на централизацию механизмов регуляции ВРС. Аналогичные по направленности сдвиги, свидетельствующие о негативном влиянии гипоксии на организм, наблюдались у испытуемых 2 группы. Но при этом вклад спектра VLF в общую мощность спектра ВРС имел тенденцию к снижению, спектра мощности LF – к повышению. У всех испытуемых было отмечено 2-х кратное и более повышение соотношения LF/HF относительно контроля. Большинство лиц уже в первые минуты пребывания на высоте 3340 м отмечали те или иные признаки горной болезни и ухудшения самочувствия – вялость, головную боль, затруднение дыхания.

Анализ структуры спектра VLF на высотах 2750 и 3340м выявил присутствие идентичных частотных пиков, отличающихся только амплитудой, что подтвердилось высокой степенью их корреляции ($r = 0,99$). Эта особенность наиболее четко проявилась у лиц с низкой устойчивостью к гипоксии. У лиц более устойчивых к гипоксии в спектре мощности VLF совпадения частотных пиков наблюдались редко и в основном касались отдельных колебаний. У лиц с низкой устойчивостью к гипоксии и чрезмерной по интенсивности стресс-реакцией выявлена большая изрезанность спектра VLF с присутствием малых пиков. И, напротив, у лиц адаптированных к гипоксии, экономичность функционирования систем, ответственных за компенсацию дефицита кислорода во вдыхаемом воздухе, обозначена присутствием в спектре VLF небольшого количества четко выраженных пиков.

Выводы. Недостаток кислорода во вдыхаемом воздухе вызывает выраженную стресс-реакцию, сопровождающуюся изменениями спектральной мощности вариабельности ритма сердца. Особенности изменений спектра мощности очень низких колебаний ВРС в условиях высокогорья определяются функциональными резервами организма и отражают устойчивость к гипоксии. Анализ спектрального состава вариабельности ритма сердца и особенно спектра мощности VLF является весьма информативным для оценки эффективности адаптации к условиям высокогорья.

ФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ ХЛОРОФИЛЛА И УЛЬТРАСТРУКТУРА ХЛОРОПЛАСТОВ ОКОЛОПЛОДНИКА ЯБЛОНИ В УСЛОВИЯХ ВЫСОТНОЙ ПОЯСНОСТИ

CHLOROPHYLL FLUORESCENCE AND CHLOROPLAST ULTRASTRUCTURE OF APPLE-TREE PERICARP IN CONDITION OF HIGH-MOUNTAIN ZONE

Пикуленко М.М., Кумахова Т.Х.¹

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

¹Российский государственный аграрный университет-МСХА имени К.А. Тимирязева, tkumachova@yandex.ru

Актуальным вопросом биологии растений является сопряженность морфофизиологических и функциональных изменений в клетках различных объектов. Динамические изменения под действием света во внутриклеточных компартментах, в частности хлоропластах определяют структурно-функциональные характеристики не только листьев, но и других органов растений. В настоящее время отсутствуют исчерпывающие данные об адаптации клеток околоплодника плодовых растений к условиям высотной поясности (резкие суточные колебания температуры и высокая интенсивность солнечной радиации с высоким уровнем УФ). Ранее нами показано, что при действии факторов внешней среды меняются морфофизиологические характеристики клеток околоплодника яблони, начинающиеся с реакций фотосинтетического аппарата (ФСА) [1]. На работу ФСА оказывают влияние не только параметры, вызывающие изменения в процессах фотосинтеза, но и условия, нарушающие метаболические пути в растениях [2].

Материал для исследования собран на Северном Кавказе в степной (300 м над уровнем моря) и горной зонах (1200 м). Объектом исследования была яблоня домашняя (*Malus domestica* Borkh.). Подготовку материала для электронно-микроскопических исследований проводили по модифицированной нами методике. Материал фиксировали глутаровым альдегидом (на 0,1 М фосфатном буфере с pH=7,2) и 1 %-ым раствором четырехоксида осмия. Затем образцы обезвоживали в серии спиртов и ацетонов возрастающей концентрации и заливали в Эпон-812. Ультратонкие срезы изготовляли на ультрамикротоме LKB-III-8801A. Срезы контрастировали 2 %-ым водным раствором уранил-ацетата (37°C) и цитратом свинца по Рейнольдсу. Флуоресценцию хлорофилла измеряли на микроучастках слоя хлоропластов (диаметр участка 100 мкм) с помощью флуориметра с модулированным освещением Microscopy PAM и программы WinControl (Walz). Тонкий срез поверхности околоплодника длиной около 10 мм и шириной до 7 мм в водном растворе в прозрачной камере устанавливали на столике инвертированного микроскопа Axiovert-25 CFL (Carl Zeiss, Германия), оснащенного флуориметрической насадкой Microscopy PAM (Walz, Германия). Максимальная интенсивность света составляла 100 мкмоль квантов/(м² с). Измерение параметров индукции флуоресценции (Фл хл) ФСА проводили с помощью флуориметра PEA (Plant Efficiency Analyzer, Hansatech, Англия) на срезах наружных слоев плодов толщиной 2–4 мм, площадью около 1,5 см². Образцы плодов адаптировали к темноте в течение 5 мин, а затем освещали светом (максимум при 650 нм, интенсивность 1500 мкмоль / (м² с), длительность освещения 2 с).

По данным трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) популяция хлоропластов представлена, главным образом, в субэпидермальном слое, состоящем из 3 слоев толстостенных колленхимоподобных клеток. Их главная особенность – пристеночное положение и хорошо развитая мембранная система. Кроме того, для хлоропластов околоплодника характерны многочисленные картины слияния и деления, а также контакты между собой и с другими органеллами. У молодых плодов в гранальной структуре стромы хлоропластов видны более рыхлые области, содержащие птДНК (в 1 хлоропласте по 3–4 нуклеоида). В структурном плане отмечается накопление в строме хлоропластов различных включений (крахмальные зерна, пластоглобулы, белковые включения, фитоферритин-железосодержащий белок). В некоторых хлоропластах тилакоиды упакованы довольно плотно, в их внутренних пространствах локализованы электронноплотные вещества, свидетельствующие об их вероятном участии в тех или иных синтетических процессах. По нашим наблюдениям более развитая система контактов пластид отмечается в клетках плодов, выращенных на больших высотах (1200 м над уровнем моря), их количество в два раза больше, по сравнению с равнинными (300 м). При этом с увеличением высоты произрастания плодовых растений перестраивается мембранная система хлоропластов, в них грани состоят из меньшего числа тилакоидов. Полученные результаты свидетельствуют, что ФСА хлорофилла плодов, выросших в условиях высокогорья и равнины при исследовании в условиях без действующего освещения характеризуются одинаковой высокой потенциальной эффективностью нециклического транспорта электронов. Эффективность фотосинтеза хлорофилла плодов, выросших в условиях высокогорья, существенно ниже наблюдаемых на плодах равнинных территорий. По нашему мнению, выявленные структурные и функциональные особенности фотосинтетического аппарата (ФСА) околоплодника плодовых растений можно использовать как биоиндикационный параметр среды.

1. Кумахова Т. Х., Булычев А. А., Крупенина Н. А., Пикуленко М. М. Активность фотосинтетического аппарата как маркер структурно-функциональных изменений клеток растений при адаптации к горным условиям на примере плодов яблони // Доклады ТСХА, 2008, Вып. 280, С. 122-126.
2. Ninemets U., Portsmouth A., Truus L. Leaf structure and photosynthetic characteristics and biomass allocation to foliage in relation to foliar nitrogen content and tree size in tree *Betula* species // Ann.Bot., 2002, Vol. 89, №2, P. 191.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФОТОСИНТЕЗА *CERASUS VUL.* ПО ВЫСОТНОЙ ЗОНАЛЬНОСТИ EFFECT OF ALTITUDE ON THE PHOTOSYNTHETIC ACTIVITY OF *CERASUS VUL.*

Пиняскина Е.В.

ФГБУН ПИБР ДНЦ РАН, лаборатория биохимии и биотехнологии, группа экологической биофизики,
ФГБОУ ВО ДГУ, Махачкала, E-mail: elpin1@yandex.ru

Уникальное расположение республики в восточной части Кавказа - на стыке Европы и Азии, делает Дагестан уникальной моделью с разнообразными эколого-географическими и климатическими условиями, с разнообразным почвенным и растительным покровом, локализованным на сравнительно небольшой территории. Целью исследований было комплексное изучение у растений, произрастающих на разной высоте флуоресцентных и биохимических показателей, исследования адаптационных изменений, раскрывающих адаптивные механизмы и природу устойчивости растений к высотным стресс-факторам. Исследовали динамику изменения фотосинтетической активности растений по флуоресцентным

характеристикам листовых пластинок «равнинных» (100 м) и «высотных» *Cerasus* (Цудахар 1100 м и Гуниб 1800 м) в июле-августе по вертикальной зональности.

Полученные нами данные показали изменение максимальной флуоресценции (Fm) по сортам *Cerasus*. Так, зафиксировано увеличение максимальной флуоресценции (Fm) у Гунибских деревьев относительно Цудахарских и Ленинкентских деревьев кроме сорта *Облачинская*. Значения фоновой флуоресценции (F₀) у горных деревьев практически совпадали, а у равнинных образцов были ниже на 9 %. Фоновая флуоресценция F₀ испускается входящими в состав антенного комплекса ФС II молекулами хлорофилла и отражает постоянную составляющую флуоресценции, независимую от фотохимических реакций. Зафиксированное понижение уровня сигнала F₀ у равнинных образцов *Облачинская* и *Шубинка* связано с активацией реакций темновой фазы фотосинтеза (фотохимическое тушение), увеличение фоновой флуоресценции у сорта *Склянки розовой* (Ленинкент) может быть связано с повреждением фотосинтезирующих систем. Рост максимальной флуоресценции (Fm) у сортов *Шубинка* (Ленинкент) и *Склянки розовой* (Цудахар) указывает на увеличение безизлучательных потерь (тепловой диссипации) в светособирающей антенне ФС2 (нефотохимическое тушение). Уровень флуоресценции отражает изменения эффективности альтернативных путей использования энергии поглощенных квантов света (электронного транспорта и тепловой диссипации), т.к. флуоресценция хлорофилла является конкурентным процессом по отношению к другим путям реализации энергии.

Необходимо отметить, что при невысоких значениях флуоресцентных выходов (F₀ и Fm) равнинных деревьев сорта *Шубинка*, уровень эффективности использования световой энергии (Fv/Fm) не превышает те же сорта *Cerasus*, растущих в Цудахаре и Гунибе, у *Склянки розовой* показатели квантовых выходов и фотосинтеза значительно различаются у Ленинкентских образцов от Гунибских и Цудахарских (15% и 12%, соответственно). Эффективность фотохимического превращения поглощенной световой энергии в ФС2 ($Y = Fv/Fm$) составляла у всех опытных образцов (кроме *Склянки розовой*) $0,81 \pm 0,02$, что свидетельствует о высокой потенциальной фотосинтетической активности исследованных растений, приближаясь к теоретической. Низкие значения F₀ и Fm у равнинных деревьев свидетельствуют об усилении фотохимических реакций перераспределения зарядов между антенными комплексами и ФС II и могут рассматриваться как фотопротекторные реакции. Поскольку фоновая флуоресценция - показатель лабильный, то может изменяться при воздействии неблагоприятных факторов – высокие или низкие температуры, избыточное освещение, и др., температура в городе в период исследований составляла +32- +38°C. Уровень квантового выхода наиболее высок у сорта *Облачинская* Гунибских и Цудахарских образцов, оставаясь на низком уровне у Ленинкентских. Наблюдаемый скачок флуоресценции обусловлен восстановлением Q_A (акцептора хинонной природы) в комплексах ФСII, которые не способны осуществлять электронный транспорт между Q_A и Q_B, так называемых Q_B- невосстанавливающих ФСII. Показано, что у обоих сортов *Cerasus* скорость восстановительных процессов одинакова, увеличение интенсивности электронного транспорта прямо пропорционально высотному градиенту. Изменение интенсивности фотосинтеза по высотному профилю коррелирует с изменением суммарного содержания хлорофиллов *a* и *b*. Выявлено изменение соотношений в пигментном составе: увеличение общего количества пигментов у Цудахарских образцов, невысокие количественные значения у Ленинкентских и уменьшение общего содержания хлорофиллов у Гунибских с увеличением в них каротиноидов. У всех Гунибских сортов *Cerasus* наблюдается увеличение накопления продуктов ПОЛ. Исследование количественного содержания пролина показало, значительное увеличение содержания пролина у Цудахарских образцов относительно Гунибских, что коррелирует с данными по накоплению МДА в листьях.

В результате комплексных биохимических и биофизических исследований показано, что с увеличением высотной зональности у древесных растений изменяется содержание и соотношение фотосинтетических пигментов, повышение содержания пролина обратно коррелирует с накоплением малонового диальдегида. В результате адаптации к высокой инсоляции горных растений зафиксировано увеличение эффективности использования световой энергии, уменьшение доли избыточной флуоресценции за счет увеличения интенсивности электронного транспорта. На основании анализа исследований сделан вывод о том, что зафиксированные у высокогорных растений изменения как на уровне морфологических и структурных параметров, так и основных физиологических функций являются следствием адаптационных изменений к высотному градиенту.

ОСОБЕННОСТИ СИНХРОНИЗАЦИИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВАРИАбельНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА И ЛОКАЛЬНЫХ ВАРИАЦИЙ КОМПОНЕНТ ГЕОМАГНИТНОГО ПОЛЯ У ЛИЦ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ

FEATURES OF SYNCHRONIZATION OF HEART RATE VARIABILITY AND LOCAL VARIATIONS OF THE GEOMAGNETIC FIELD COMPONENT'S IN INDIVIDUALS WITH DIFFERENT BLOOD PRESSURE LEVELS

Поскотникова Л.В.¹, Кривоногова Е.В.¹, Зенченко Т.А.^{2,3}, Дёмин Д.Б.¹

¹Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаврова РАН, Архангельск, e-mail:liliya200572@mail.ru, ²Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, ³Институт космических исследований РАН, Москва, e-mail:zench@mail.ru

Многообразие электромагнитных явлений во всех слоях околоземного пространства обуславливает также наличие широкого диапазона индивидуальных адаптивных реакций физиологических систем человека. Длительный мониторинг (1 час и более) физиологических показателей, при котором можно вычислить периоды колебаний как внешних, так и внутренних ритмов, влечет формирование трендов, связанных со снижением уровня бодрствования, утомления. Многократные записи электрофизиологических показателей в течение нескольких дней и месяцев могут быть на фоне разных психофизиологических состояний людей, связанных не с космическими, а с социальными факторами; вклад последних более значим, чем сверхмалые воздействия колебаний геомагнитного поля (ГМП). Поэтому представляется важным использовать такой метод оценки взаимосвязи внешних и внутренних осцилляторов электрической активности, при котором сохранялось бы состояние активного бодрствования и субъективного комфорта, оптимальная кратность фиксации синхронизируемых значений. Метеопатии более выражены у лиц с нарушенным сосудистым тонусом, с признаками артериальной гипертензии. Однако отражение такой индивидуальной чувствительности в конкретных взаимосвязях показателей сердечно-сосудистой системы и показателей ГМП происходит по-разному. Таким образом, целью исследования было определение степени синхронизации показателей variability сердечного ритма (VCP) и вариаций компонент ГМП у лиц с различными уровнями артериального давления (АД). Обследованы местные жители (30 женщин и 3 мужчин, 28-65 лет) в Архангельской области (60°51'52" с. ш. 39°31'05" в. д). Из них 23 человека с АД менее 120-140/80-90 мм.рт.ст., 8 человека – выше 140/90 мм.рт.ст., 2 человека – ниже 110/80 мм.рт.ст. Данные ежеминутных вариаций напряженности геомагнитного поля (ГМП) - X, Y, Z-компоненты вектора ГМП (нТл) и полного вектора геомагнитной индукции (F, нТл) в течение 30-минутных записей VCP получены с сайта геофизического центра РАН <http://geomag.gcras.ru/obs-KLI.html> по станции Климовская. Время обследования – с 14.00 12 марта 2018 года по 21 час 16 марта 2018 года по времени г. Москвы (UTC+3). Усредненный Кр-индекс в каждые сутки не превышал 4. В течение 30 минут в положении сидя с закрытыми глазами у человека регистрировали кардиоинтервалограмму для последующего вычисления ежеминутных временных и спектральных показателей VCP с помощью прибора «Варикард» (ИВНТ «Рамена», г. Рязань). При статистическом анализе выполнили фильтрацию временного ряда полосовым фильтром с границами среза $L=0.05$ и $R=0.995$ (от частоты Найквиста) для исключения линейного тренда и низкочастотных колебаний; вычисление матрицы коэффициентов корреляции Спирмена с временными рядами 1-минутных значений четырех компонент (X, Y, Z и полного значения F) вектора геомагнитной индукции, полученным по станции Климовская (KLIX, KLIY, KLIZ, KLIF) при нулевом значении временного лага (синхронные значения) между физиологическим и геофизическим 30-минутным временным рядом. Для оценки степени статистической связи были рассчитаны коэффициент корреляции Спирмена r_s и уровень его значимости p . Установлено, что чувствительность вегетативных структур человека, модулирующих сердечный ритм, к изменениям той или иной компоненты (X, Y, Z или F) локального ГМП имеет индивидуальный характер. Повышение ЧСС и снижение вагусных влияний на ритм сердца (риск артериальной гипертензии) наиболее часто было связано со снижением магнитной индукции по вертикальным компонентам – Z и F. Частота встречаемости связи компонент ГМП с показателями VCP была значимо больше у лиц с повышенным и сниженным артериальным давлением, особенно с показателями, характеризующими вагусную активность (RMSSD, HF). У 54,5% лиц, считающих себя метеозависимыми по субъективным признакам регистрируется связь показателя AMo50 (симпатическая активность) с вариациями ГМП, а у лиц без таковой зависимости – лишь у 18% ($p<0,05$). У лиц группы с повышенным или сниженным АД не выявлена значимая корреляция динамики частотного показателя VCP, отражающего барорефлекторную активность (LF – low frequency, 0,15-0,04 Гц) и вариаций компонент ГМП, в то время как у лиц с нормальным АД такая корреляция встречается у 35% лиц. Таким образом, по 30-минутной записи параметров VCP с оценкой синхронизации ежеминутных показателей VCP и вариаций компонент ГМП возможно выполнить прогноз степени магниточувствительности вегетативных структур, контролирующих ритм сердца у каждого человека. Выход вегетативных параметров за пределы нормативов во время значимой синхронизации показателей VCP и ГМП при мониторинге обуславливают наличие риска обострения сосудистой патологии, связанной с колебаниями ГМП. Снижение синхронизации барорефлекторной активности и вариаций ГМП как предиктор обострения сосудистой патологии при колебаниях ГМП нуждается в дальнейшей проверке. Работа выполнена по программе ФНИР ФГБУН ФИЦКИА РАН (№115050610141).

АДАПТАЦИЯ АССИМИЛЯЦИОННОГО АППАРАТА ХВОЙНЫХ И ЛИСТВЕННЫХ ВИДОВ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ К УСЛОВИЯМ ГЕТЕРОГЕННОЙ СРЕДЫ

ADAPTATION OF ASSIMILATION APPARATUS IN CONIFEROUS AND DECIDUOUS PLANTS UNDER HETEROGENEOUS ENVIRONMENT

Придача В.Б.¹, Сазонова Т.А.¹, Новичонок Е.В.¹, Ольчев А.В.²

¹Институт леса КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

В настоящее время на большей части таежных территорий трансформация лесных сообществ определяется рубками леса. Динамичность процессов, происходящих на вырубках под влиянием естественных факторов, делает их хорошим модельным объектом для изучения отклика растений на изменения условий внешней среды, который проявляется в первую очередь в изменении интенсивности их биофизических и биохимических реакций, важным индикатором которых является скорость газообмена CO_2 (фотосинтез и дыхание) и обмена H_2O (транспирация) между растениями и окружающим воздухом. Вместе с тем, особую ценность при прогнозировании возможного отклика как отдельного вида, так и лесной экосистемы в целом на изменения природной среды и климата представляет межвидовая оценка адаптивного потенциала растений в условиях гетерогенной среды. В этой связи нами было проведено исследование влияния гетерогенной среды, сформированной вследствие антропогенной трансформации соснового древостоя, в частности сплошной рубки, на морфофизиологические показатели листа (хвои) сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), березы повислой (*Betula pendula* Roth), ольхи серой (*Alnus incana* (L.) Moench) и осины (*Populus tremula* L.) 10-15 лет, произрастающих на вырубке и в пологе среднетаежного сосняка черничного свежего (Южная Карелия).

Гетерогенность внешней среды была обусловлена в первую очередь градиентом свето-температурных условий и относительной влажности воздуха, величины которых регистрировали с помощью системы Li-Cor 6400XT (Li-Cor Inc., США) и автономной системы непрерывной регистрации температуры и относительной влажности ТРВ-2 (Инженерные технологии, Россия). В тоже время средние значения концентрации CO_2 в воздухе на обоих участках были близкими ($360 \text{ мкмоль моль}^{-1}$). Средние значения полевой влажности почвы корнеобитаемого слоя (0–50 см) на вырубке и в лесу также были схожими (10%). Сравнительный анализ показателей $\text{CO}_2/\text{H}_2\text{O}$ -обмена листа березы, осины, ольхи и сосны, регистрация которых была проведена с помощью газоанализатора Li-Cor 6400XT (Li-Cor Inc.) и камеры давления Plant Moisture Vessel SKPM 1400 (Skye Instruments Ltd., Великобритания), в условиях рубки и древостоя показал однонаправленную реакцию разных видов на изменение условий среды. Устьичная проводимость, интенсивность фотосинтеза и транспирации как у хвойного, так и у лиственных видов уменьшились в условиях сосняка черничного по сравнению с вырубкой. Значения водного потенциала побегов всех исследуемых видов в пологе леса по сравнению с таковыми на вырубке, напротив, увеличились, что обусловлено, очевидно, устьичным ограничением транспирационных расходов. Меньшая степень раскрытия устьиц, также как и меньшие значения интенсивности транспирации и водного дефицита листа растений в древостое по сравнению с таковыми на вырубке могут быть обусловлены высокой относительной влажностью воздуха (71%) и, соответственно, низким дефицитом упругости водяного пара в воздухе в сосняке относительно рубки. Вместе с тем сопоставление физиолого-биохимических (содержание макроэлементов NPK и суммы Хл (а+б) на единицу поверхности листа) и анатомо-морфологических (толщина листа, доля мезофилла в структуре листа) показателей выявило для всех растений их значимое снижение в градиенте условий от рубки к древостою. Этот факт свидетельствует о структурно-функциональных перестройках фотосинтетического аппарата растений, направленных на оптимизацию светопоглощающих свойств листа при изменении световых условий произрастания. Следует также отметить, что в условиях древостоя нами отмечен сдвиг практически всех параметров моделей световых кривых фотосинтеза в сторону более низких значений. Вместе с тем, отмеченное нами увеличение угла наклона начального участка световой кривой у лиственных видов при затенении в древостое может быть адаптивным признаком, способствующим повышению эффективности фотосинтеза в области малых интенсивностей света. Для моделирования нетто-фотосинтеза мы также использовали хорошо известный подход Фаркхара, предполагающий, что нетто-фотосинтез листа определяется скоростью карбоксилирования рибулозобифосфаткарбоксилазы/оксигеназы (РБФК/О) ($V_{c_{\max}}$), скоростью транспорта электронов при световом насыщении для регенерации акцептора рибулозо-бифосфата (J_{\max}) и скоростью темнового дыхания (R_d). В качестве дополнительного лимитирующего фактора фотосинтеза рассматривается также доступность внутренних неорганических фосфатов для цикла Кальвина (TRU). Проведенный анализ параметров углекислотной кривой CO_2 -газообмена показал, что более низкая интенсивность фотосинтеза хвойного растения обусловлена более низкими значениями максимальной скорости карбоксилирования ($V_{c_{\max}}$), скорости электронного транспорта (J_{\max}) и утилизации триозофосфатов (TRU) по сравнению с лиственными видами как в условиях рубки, так и в пологе леса. Вместе с тем, более высокие значения скорости фотосинтеза у лиственных растений связаны с более эффективной работой световых и темновых процессов фотосинтетического аппарата в исследуемых условиях произрастания.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (Институт леса КарНЦ РАН) и при финансовой поддержке РФФИ (грант 17-04-01087-а).

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ МЕТИЛРТУТИ НА КЛЕТКИ ЗЕЛеноЙ ВОДРОСЛИ SCENEDESMUS QUADRICAUDA С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЛУОРИМЕТРА M-PEA-2

ESTIMATION OF THE IMPACT OF METHYLMERCURY ON CELLS OF GREEN ALGAE SCENEDESMUS QUADRICAUDA USING M-PEA-2 FLUORIMETER

Протопопов Ф.Ф.¹, Маторин Д.Н.², Тодоренко Д.А.²

¹Северо-Восточный федеральный университет им. М.К.Аммосова, Физико-технический институт, кафедра общей и экспериментальной физики, Якутск, protopopov_fedor@mail.ru

²Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, кафедра биофизики, Москва

Проблема загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами (ТМ) хорошо освещена и представлена в литературе [1]. Известно, что ионы ТМ попадая вовнутрь растительных клеток ингибируют функционирование фотосинтетического аппарата [1], одним из способов оценки функционирования данного процесса *in vivo* являются параметры флуоресценции хлорофилла *a* [2]. Металлическая ртуть попадая в природную водную среду практически всегда метилируется с образованием органической ртути – метилртути, который является одним из сильнейших по токсическому воздействию соединений ТМ [1]. Ионы метилртути жирорастворимы и хорошо проникает через клеточную мембрану. Ранее проводились исследования влияния метилртути на фотосинтетические реакции клеток водорослей, но подробных исследований с одновременным измерением редокс-состояния двух фотосистем не проводилось.

Целью настоящей работы было изучение состояния фотосинтетического аппарата водорослей под воздействием ионов метилртути и анализ параметров индукции флуоресценции хлорофилла на ряду с одновременным измерением редокс-состояния реакционного центра ФС1 (P700) и кинетики микросекундной замедленной флуоресценции.

Зеленые водоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turpin) Brébisson выращивали фототрофно с циклом день/ночь 14/10 ч в среде Успенского №1 при интенсивности освещения 100 мкмоль квантов м⁻² с⁻¹. В эксперименте использовалась культура водорослей с концентрацией 1.5-2 млн. кл./мл. Предварительно перед измерением флуоресценции образцы осаждались с помощью вакуумной установки на фильтре GF/F (Whatman). Измерения проводились после темновой адаптации 5 минут, с поддержанием влажности фильтра с водорослями. Предварительное исследования и сравнение параметров флуоресценции на флуориметре AquaPen-C AP-C 100 (PSI, Чехия) показали, что применение процедуры обогащения проб на фильтре не повлияло на физиологическое состояние клеток.

С помощью multifunctional флуориметра M-PEA-2 (Hansatech Instruments Ltd, Англия) были проанализированы пробы зеленых водорослей *S. quadricauda* инкубированные с ионами метилртути (10⁻⁶, 10⁻⁵ и 10⁻⁴ М) в течении 3, 24, 48, 72 ч. Результаты показали, что воздействие метилртути замедляло скорость роста (10⁻⁶ М), а при высоких концентрациях (10⁻⁵ М и выше) значительно снижало количество клеток в культуре, что устойчиво прослеживалось в снижении минимального значения флуоресценции F₀. Параметр F_v/F_m, отражающий максимальный квантовый выход первичных фотохимии, достоверно снижался в присутствии метилртути (10⁻⁵ и 10⁻⁶ М). Снижение параметра F_v/F_m преимущественно было вызвано уменьшением максимального значения флуоресценции (F_m), которое показывает снижение активности донорной стороны ФС2. Анализ параметров JIP-теста [3] индукционной кривой флуоресценции хлорофилла и замедленной флуоресценции [2] выявило преимущественное места воздействия ионов метилртути на нециклический электронный транспорт в мембране тилакоида. Было показано, что воздействие метилртути в первую очередь снижает активность акцепторной стороны ФС2, которую связывают с увеличением доли Q_B-невозстановливающих центров т.е. с затруднением переноса электронов с Q_A акцептора далее на пул хинонов. Тогда как, воздействие метилртути на донорную сторону ФС2 и активность акцепторной стороны ФС1 было слабее. Редокс-состояния пигмента P700 (ФС1) и пластоцианина показало, что воздействие на активность акцепторной стороны ФС1 было ниже, чем на акцепторную сторону ФС2.

Следует отметить, что воздействие ионов метилртути зависело не только от концентрации, но и от длительности инкубации. Наиболее характерные токсические эффекты можно было наблюдать в первые часы инкубации с токсикантом (3 ч и 24 ч), затем воздействие низких концентраций снижалось в виду связывания с органическим веществом и выпадением их в осадок и увеличением резистентности клеток водорослей к токсиканту. Наиболее чувствительными параметрами индукции флуоресценции хлорофилла для клеток водорослей оказались индекс производительности ФС2 (PI_{ABS}), а также квантовый выход электронного транспорта (φ_{E0}), которые можно рекомендовать при проведении биотестирования и мониторинга активности световых реакций фотосинтеза культур водоросли.

1. Kumar K.S. et al. Algal photosynthetic responses to toxic metals and herbicides assessed by chlorophyll a fluorescence, Ecotoxicology and environmental safety – 2014. – V.104 – N.1. – P.51–71
2. Гольцев В.Н. и др. Переменная и замедленная флуоресценция хлорофилла *a* – теоретические основы и практическое приложение в исследовании растений // Москва–Ижевск: ИКИ. 2014. 220 с. 6.
3. Strasser R.J. et al. In Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis. Advances in photosynthesis and respiration, Eds. G. Pa-pageorgiou and Govindjee (Springer, Dordrecht). 2004. V.19. P.321-362.

МОЛОДОЕ СОЛНЦЕ, ФИЗИЧЕСКИЕ УСЛОВИЯ НА РАННЕЙ ЗЕМЛЕ И БИОФИЗИКА ЖИВЫХ СИСТЕМ

YOUNG SUN, CONDITIONS ON EARLY EARTH AND PHYSICS OF LIVING SYSTEMS

Рагульская М. В., Обридко В. Н., Храмова Е. Г.

ИЗМИРАН, Москва, ra_mary@mail.ru

Рассматриваются физические условия в ранней Солнечной системе и на Земле, определяющие возникновение, отбор и развитие первых живых систем. Подчеркивается роль динамики молодого Солнца, космических лучей, магнитных полей и других защитных оболочек Земли в формировании биосферы. Проводится верификация имеющихся теоретических моделей формирования Солнечной системы и физических условий на ранней Земле с точки зрения возможности развития современного типа жизни. Отбор единого генетического кода, древних способов длительного хранения энергии и адаптивных технологий первых живых систем происходил при активном воздействии космогеофизических факторов, в частности – интенсивного ультрафиолетового излучения молодого Солнца, а также солнечных и галактических космических лучей.

Первый миллиард лет совместного существования Солнца и биосферы – это время парадоксов. Самые известные из них – парадокс «слабого молодого Солнца», геомагнитный парадокс и ряд изотопных парадоксов. Рассматриваются адаптационные технологии первых биосистем, которые могли обеспечить выживание биосферы в условиях пониженной светимости молодого Солнца, при инверсиях магнитного поля Земли или при повышенной интенсивности космических лучей. Показано, что возникновение биосферы и геомагнитного поля определялись не только условиями на самой Земле, но и динамикой раннего Солнца, миграцией планет-гигантов и формированием системы Земля – Луна. Обсуждается возможность расширения поисков бактериальной жизни на планетах земной группы, на спутниках внешних планет и экзопланетах.

Работа поддержана программой 17 Президиума РАН «Эволюция органического мира и планетарных процессов» и российско-азербайджанским грантом РФФИ Аз_а 18-52-06002.

1. Рагульская М. В. «Солнце и биосфера: миллиарды лет вместе». – Москва, Из-во «Радиотехника», 2019
2. Life and the Universe” (ed. Obridko V., Ragulskaya M.) – Spb, ВВМ, 2017, 335 p. <http://www.izmiran.ru/pub/izmiran/Life-n-Universe.pdf>
3. Рагульская М. В., Б. М. Владимирский Б. М., Чибисов С. М.. «Хронобиология ранней и современной Солнечной системы, Земли и биосферы». «Хронобиология и хрономедицина» (под редакцией С. М. Чибисова) – Москва, Из-во РУДН, 2018, стр. 167-205
4. Рагульская М. В., Обридко В. Н. Солнце и биосфера: парадоксы 4 миллиардов лет сосуществования. Радиопизика и радиоастрономия. 2017, Т. 22, № 4, с. 276–283.

СЛОЖНЫЕ РЕЖИМЫ ДИНАМИКИ В МОДИФИЦИРОВАННОЙ МОДЕЛИ НИКОЛСОНА-БЕЙЛИ ПРИ УЧЕТЕ ВОЗРАСТНОЙ СТРУКТУРЫ ЖЕРТВЫ

COMPLEX MODES IN MODIFIED NICHOLSON-BAILEY MODEL WITH AGE-STRUCTURE FOR PREY

Ревуцкая О.Л., Кулаков М.П., Фрисман Е.Я.

Институт комплексного анализа региональных проблем ДВО РАН, Биробиджан, oksana-rev@mail.ru

Изучение взаимодействий типа хищник-жертва или паразит-хозяин является одной из важнейших задач экологии сообществ, решению которой посвящены теоретические, лабораторные и полевые исследования на протяжении многих десятилетий. Большинство хищников осуществляет селективное изъятие особей из популяции жертв, что приводит к перестройкам разного рода в структуре жертвы в зависимости от того, на какую часть популяции воздействует хищник. Следовательно, при изучении динамики взаимодействующих видов важно рассматривать популяционную, прежде всего возрастную структуру жертвы и влияние ее на динамику биосистемы.

Данная работа посвящена детальному изучению модели динамики видов, взаимодействующих по типу «хищник – жертва». Исследуемая модель представляет собой модификацию модели Николсона – Бейли, которая была расширена путем добавления возрастной структуры жертвы [1, 2]. При этом регуляция роста численности жертвы осуществляется путем лимитирования выживаемости молодежи, когда с увеличением численности (плотности) младшего и старшего возрастных классов наблюдается увеличение смертности молодежи.

Целью работы является изучение механизмов формирования и развития динамических режимов, возникающих в модели «хищник – жертва» с учетом возрастной структуры жертвы. Здесь исследуются различные сценарии сосуществования взаимодействующих видов и анализируются механизмы переходов

между этими состояниями, а также потери их устойчивости. Такая постановка задачи, в частности, позволяет изучать и выявлять особенности динамики взаимодействующих популяций при вариации интенсивности хищнического воздействия и процессов саморегуляции жертвы.

В ходе исследования были описаны условия устойчивого сосуществования взаимодействующих видов. Показано, что сосуществование видов становится возможным в случае, если имеет место транскритическая или седло-узловая (касательная) бифуркация. Благодаря седло-узловой бифуркации, в системе взаимодействующих видов наблюдается бистабильность динамики: в зависимости от начальных условий хищник либо сосуществует с жертвой, либо погибает. Показано, что диапазон популяционных параметров, при которых жертва и хищник сосуществуют, может существенно увеличиться с ростом выживаемости взрослых особей жертв, доли родившихся хищников и скорости потребления жертвы хищниками. Изучены сценарии возникновения колебательных режимов численностей взаимодействующих популяций, описаны условия переходов между разными режимами, связанные с изменениями параметров, определяющих интенсивность воспроизводства, саморегуляции жертвы и хищничества, а также вариацией текущей численности видов. Выявлено, что увеличение плодовитости жертвы в условиях внутривидовой конкуренции может приводить к дестабилизации динамики и возникновению колебаний численности. При этом хищничество может стабилизировать динамику системы. Вместе с тем, при высокой рождаемости жертвы устойчивость системы обеспечивается высокой выживаемостью взрослых особей жертв.

Исследование предложенной модели «хищник – жертва» выявило, что сосуществование взаимодействующих популяций или, наоборот, их несовместимость определяются не только характером взаимоотношений видов, выраженных в изменении популяционных параметров, но и зависят от их начальной численности. Такая зависимость, очевидно связанная с бистабильностью и мультистабильностью системы, приводит к тому, что даже небольшая вариация текущей численности усложняет поведение взаимодействующих популяций и может привести к кардинальной смене, как наблюдаемого динамического режима, так и сценария сосуществования видов. В частности, при различных начальных условиях и значениях модельных параметров исследованная система «хищник – жертва» демонстрирует разные комбинации сосуществования стационарной динамики, периодических и нерегулярных колебаний. Причем диапазон популяционных параметров, при которых реализуются бистабильные режимы, с увеличением выживаемости взрослых особей жертв, доли родившихся хищников и скорости потребления жертвы хищником расширяется в сторону высоких значений репродуктивного потенциала и внутривидовой конкуренции [3].

Работа выполнена в рамках государственного задания Института комплексного анализа региональных проблем ДВО РАН, а также при частичной финансовой поддержке РФФИ (№ 18-51-45004 ИНД а, №18-04-00073 а).

1. Hassell M P. Host-parasitoid population dynamics // *Journal of Animal Ecology*. 2000. Vol. 69. P. 543–566.
2. Hastings A. Age-Dependent Predation Is Not a Simple Process. II. Wolves, Ungulates, and a Discrete Time Model for Predation on Juveniles with a Stabilizing Tail // *Theoretical population biology*. 1984. Vol. 26. P. 271–282.
3. Ревуцкая О.Л., Кулаков М.П., Фрисман Е.Я. Бистабильность и бифуркации в модифицированной модели Николсона–Бейли при учете возрастной структуры жертвы // *Математическая биология и биоинформатика*. 2019. Т. 14. № 1. С.257–278. doi: 10.17537/2019.14.257.

ЧИСЛЕННЫЙ РЕКУРРЕНТНЫЙ АНАЛИЗ ДИНАМИКИ ПОПУЛЯЦИЙ

RECCURENT NUMERICAL ANALYSIS OF THE POPULATIONS DYNAMICS

Русаков А.В., Медвинский А.Б., Нуриева Н.И.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, E-mail: rusakov_a@rambler.ru

Оценка характера динамики временного ряда, полученного в результате измерений параметров исследуемой системы, необходима для оценки предсказуемости состояния системы и дальнейшего изучения механизмов ее функционирования. Существует богатый набор как линейных, так и нелинейных методов исследования временных рядов. Во многих случаях, использование нелинейных методов для оценки предсказуемости и выявления механизмов, лежащих в основе изменения динамики исследуемой системы, оказываются более эффективными по сравнению с линейными [1]. Это связано с тем, что большинство природных биологических и экологических процессов существенно нелинейны. При всем разнообразии существующих численных методов, нет такого метода, который можно было назвать универсальным и использовать для всех случаев. Существенным недостатком многих методов нелинейного анализа при оценке временных рядов, полученных в ходе наблюдения за природными процессами, является зависимость этих методов от длины исследуемого ряда. При анализе временных рядов, полученных в ходе полевых наблюдений (а это обычно порядка ста точек), такие методы дают недостаточно достоверные результаты.

Одним из немногих нелинейных методов, позволяющих проводить численную оценку характеристик исследуемых процессов, представленных короткими временными рядами, является численный рекуррентный анализ. В основе этого метода лежит фундаментальное свойство детерминированных колебательных процессов

– повторяемость состояний или рекуррентность, что предполагает тесное сближение достаточно продолжительного фрагмента фазовой траектории с более ранним фрагментом той же траектории. Наличие рекуррентности является существенным отличием детерминированных колебательных процессов от случайных колебаний.

В работе [2] с помощью численного рекуррентного анализа на примере многолетних наблюдений за динамикой планктона в Нарочанских озерах республики Беларусь показано, что эта динамика является хаотической. При этом степень хаотичности, оцененная по величине доминантной ляпуновской экспоненты, находится далеко от границы хаоса, принятой в интервале $-0.1 - +0.1$.

В данной работе на примере разностной логистической математической модели показано, что метод численной оценки характера временных рядов с использованием рекуррентных диаграмм позволяет отличать случайные флуктуации от детерминированных колебаний даже в условиях сильной зашумленности последних.

1. Kantz H. and Schreiber T., *Nonlinear Time Series Analysis*. – Cambridge: Cambridge University, 1997.
2. Medvinsky A.B. et. al. *Chaos far away from the edge of chaos: A recurrence quantification analysis of plankton time series // Ecological Complexity 2015. Vol. 23, P. 61-67.*

ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ВОДНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ПОБЕГОВ ХВОЙНОГО И ЛИСТВЕННОГО ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ

THE EFFECT OF ABIOTIC FACTORS ON THE WATER POTENTIAL IN CONIFEROUS AND DECIDUOUS PLANTS

Сазонова Т.А., Тихова Г.П., Придача В.Б.

Институт леса КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск,
E-mail: sazonova@krc.karelia.ru

В рамках общих проблем глобального изменения климата одной из важнейших является оценка чувствительности составляющих гидрологического цикла в разных регионах к возможным изменениям климата. Универсальным показателем энергетического состояния воды в системе «почва-растение-атмосфера» является водный потенциал (Ψ). Этот биофизический показатель определяется как разность между химическим потенциалом воды в рассматриваемой системе и химическим потенциалом свободной чистой воды, отнесенной к парциальному молярному объему воды. Величина водного потенциала побегов отдельных деревьев отражает состояние баланса между поступлением влаги из почвы и потерями влаги в процессе транспирации, и зависит от запасов воды в самом растении. Во многих работах исследуется суточная динамика этого показателя. Однако попытки подобрать приемлемый вид функциональной зависимости биоритма Ψ от времени суток большей частью приводили к синусоиде, которая вполне адекватно представляла периодическую составляющую ритма, однако на определенных временных отрезках давала серьезные погрешности для абсолютных значений аппроксимируемого показателя и не достигала желаемой точности воспроизведения суточного тренда. При этом, исследуя влияние абиотических факторов на формирование величины Ψ , не достаточно четко рассматривался вопрос о приоритете и величине вклада каждого из факторов. Наше исследование направлено на комплексный анализ влияния освещенности, температуры и относительной влажности воздуха, дефицита упругости водяного пара на Ψ побегов хвойного (*Pinus sylvestris* L.) и лиственного (*Betula pendula* Roth) растений в условиях сосняка черничного свежего, и оценка вклада каждого фактора внешней среды в формирование величины Ψ исследуемых древесных растений в вегетационной динамике.

Исследования проводили в сосняке черничном свежем европейской части средней тайги (62°13'N, 34°10'E, Южная Карелия) в течение нескольких вегетационных периодов. Объектами исследования были деревья сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и березы повислой (*Betula pendula* Roth) 35-45 лет. Отбор образцов (с 6 деревьев по 3 побега со средней части кроны) проводили с интервалом в 1 час в течение суток с июня по сентябрь в дни с разными погодными условиями. Измерения величины Ψ охвоенных (облиственных) побегов сосны и березы проводили с помощью камеры давления Plant Moisture Vessel SKPM 1400 (Skye Instruments Ltd., Великобритания). Для определения интенсивности света, температуры и относительной влажности воздуха, дефицита упругости водяного пара использовали стандартные метеорологические приборы, систему Li-Cor 6400XT (Li-Cor Inc., США) и автономную систему непрерывной регистрации температуры и относительной влажности TPВ-2 (Инженерные технологии, Россия).

На основе анализа модельных данных нами установлено, что вклады ведущих факторов среды в формирование величины водного потенциала для хвойного и лиственного растения сопоставимы и не имеют значимых межвидовых различий. Показано сходство доминирования ведущих факторов для обоих видов, в частности в июле – интенсивности ФАР, августе – относительной влажности воздуха, сентябре – температуры воздуха. Между тем, в июне выявлены значимые межвидовые отличия доминирующего влияния факторов среды на водный обмен сосны обыкновенной (относительной влажности воздуха) и березы повислой

(интенсивности ФАР). Вероятно, выявленные различия обусловлены биологическими особенностями формирования побегов и листьев (хвои) хвойного и лиственного растения в период интенсивного роста. Так, у березы распускание листьев происходит по мере роста побегов, тогда как у сосны полное распускание хвои происходит уже после окончания роста побегов. Таким образом, межвидовые различия формирования ассимиляционной, а также транспирирующей поверхности в период интенсивного роста (июнь) обеспечивают существенно различное влияние факторов внешней среды на исследуемый показатель водообмена сосны и березы, тогда как во все последующие месяцы и доминирующий фактор, и его вклад в формирование величины Ψ статистически сопоставимы для хвойного и лиственного растений. Вместе с тем, нами отмечена некоторая инертность отклика водного потенциала облиственных (охоенных) побегов древесных растений на резкие изменения абиотических факторов в течение суток, что обусловлено механизмом эндогенной регуляции водного обмена. Так, при определенной величине Ψ начинается устьичное ограничение транспирации, что снижает интенсивность дегидратации водопроводящих путей. Выявленное нами сходство ведущих абиотических факторов и их вклада в формирование величины водного потенциала хвойного и лиственного видов древесных растений в вегетационной динамике указывает на сходные механизмы адаптации систематически разных видов, произрастающих в одном климатическом регионе.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (Институт леса КарНЦ РАН) и при финансовой поддержке РФФИ (грант 17-04-01087-а).

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ГИПОТЕТИЧЕСКОЙ ЖИЗНИ НА ВЕНЕРЕ PHYSICAL AND CHEMICAL BASES OF HYPOTHETICAL LIFE ON VENUS

Снытников В.Н.¹, Зеленый Л.М.², Ксанфомалити Л.В.², Пармон В.Н.¹

¹Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН, Россия, г. Новосибирск,

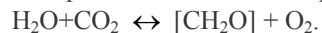
²Институт космических исследований РАН, Россия, г. Москва, e-mail: snyt@catalysis.ru

Большинство современных исследователей придерживаются гипотезы Опарина-Холдейна о возникновении жизни. По современной версии этой гипотезы у звезд в зоне обитаемости формируются планеты земного типа. На их поверхности происходит локальное образование предбиологических молекул в геологически компактных местах (грязевых вулканах, курильщиках и тому подобных). Для Земли это привело к появлению жизни. Ее следы найдены в древнейших земных породах возраста 3,7 - 3,9 миллиарда лет. Однако признаков возникновения жизни на Земле не обнаружено.

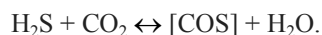
Жизнь берет свое начало в космосе. Эта альтернативная гипотеза выдвинута Вернадским практически одновременно с гипотезой Опарина. Вернадский исходил из «геологической вечности жизни на Земле». Им поставлена задача найти в космосе «особые условия» для зарождения жизни [1].

Такие особые условия по гипотезе «астрокатализа» [2] возникают в допланетном околозвездном диске на этапе укрупнения пыли и формирования первичных тел. Из гипотезы «астрокатализа» следует возможность найти биоценозы на других телах Солнечной системы ее возраста. Физико-химические основы биоценозов складываются под влиянием условий их существования и эволюции за миллиарды лет.

Для современной земной биосферы базовым является синтез органических соединений $[\text{CH}_2\text{O}]$ из воды и CO_2 согласно реакции, проходящей в сложном фотокаталитическом процессе,:



Кроме этого синтеза умеренных температур возможна и другая, в диапазоне 300 - 550°C, высокотемпературная активация CO_2 , которую необходимо изучить как возможность принципиально иной физико-химической основы жизни:



Такие химические процессы интересны для Венеры с ее главным компонентом атмосферы CO_2 и соединениями серы на твердой поверхности и в атмосфере. В миссиях на Венеру, осуществленных в период 1975 -82 годы, были обнаружены объекты, которые рассматриваются как гипотетическая жизнь [3].

1. Вернадский В.И. «Живое вещество и биосфера», Стр. 277. – М.:Наука, 1994.
2. Snytnikov V.N. Astrocatylisis - Abiogenic Synthesis and Chemical Evolution at Pregeological Stages of the Earth's Formation // Paleontological Journal. V. 44. N 7. P. 761-777. 2010.
3. Ксанфомалити Л.В., Зеленый Л.М., Пармон В.Н., Снытников В.Н. Гипотетические признаки жизни на планете Венера: ревизия результатов телевизионных экспериментов 1975—1982 гг. // Успехи физических наук. 2019. Т.189. №4. С. 403–432.

МОДЕЛИ ПОПУЛЯЦИОННОЙ ДИНАМИКИ НА ОСНОВЕ РЕКУРРЕНТНЫХ УРАВНЕНИЙ POPULATION DYNAMICS MODELS BASED ON RECURRENCE EQUATIONS

Фрисман Е.Я., Кулаков М.П., Неверова Г.П., Ревуцкая О.Л., Шлюфман К.В.

Институт комплексного анализа региональных проблем, Биробиджан, frisman@mail.ru

В начале 70-х годов прошлого века математическая популяционная биология пополнилась достаточно простыми, но весьма эффективными моделями, основанными на рекуррентных уравнениях. Эти модели представлялись достаточно адекватными при описании динамики видов, характеризующихся сезонным периодом размножения. Неожиданно оказалось, что эти «простенькие» модели, обладают колоссальным разнообразием возможных динамических режимов, весьма сложно эволюционирующих при изменении параметров модели. Наиболее яркая особенность этих моделей заключается в том, что при увеличении репродуктивного потенциала моделируемой популяции (обозначим его a) происходит потеря устойчивости равновесия, которая сопровождается возникновением предельного цикла длины 2, т.е. возникновением колебаний с периодом в два года. Фактически, при этой бифуркации возникает не один, а два 2-цикла, отличающиеся фазой колебаний. Соответственно, такая система оказывается бистабильной: из одних начальных условий решения сходятся к одному 2-циклу, из других – к другому.

При дальнейшем увеличении репродуктивного потенциала решения уравнения сходятся к устойчивым предельным циклам длины 4, затем к предельным циклам длины 8 и т.д. Описанные изменения характера динамики численности, принято называть первой серией бифуркаций. Сценарий образования этих циклов принято называть сценарием Фейгенбаума. Естественно он приводит и к соответствующему усложнению фазовой мультистабильности. При еще больших значениях a поведение численности популяции теряет сколько-нибудь регулярный характер и становится хаотическим. Однако зоны хаотического поведения численности перемежаются с «окнами» периодического, т.е. регулярного поведения.

Следует отметить, что весьма часто попытки применения данной модели к описанию и прогнозу динамики конкретных природных популяций оказывались малопродуктивными: модельные кривые, отлавливая тенденции изменения численности, статистически плохо описывали наблюдаемую динамику реальных популяций.

Ситуация существенно меняется, если анализировать динамику численности популяций с учетом возрастной структуры. В ряде случаев применение модели с учетом возрастной структуры к описанию реальной динамики позволяет существенно улучшить качество аппроксимации. Это связано с тем, что здесь помимо хаотических колебаний могут возникнуть и квазипериодические. Дело в том, что нетривиальное равновесие даже весьма простой системы с возрастной структурой может потерять устойчивость как по сценарию удвоения периода, так и по сценарию Неймарка-Сакера, который является дискретным аналогом бифуркации Хопфа (точнее, Пуанкаре-Андропова-Хопфа) и приводит к квазипериодической динамике. Как правило, точечные оценки параметров модели, полученные на основе данных о динамике реальных популяций, попадают в область именно квазипериодических колебаний.

Примечателен тот факт, что в ходе исследования моделей с возрастной структурой была обнаружена еще одна форма мультистабильности, которая выражается в сосуществовании устойчивой нетривиальной неподвижной точки и устойчивых циклов, в частности, 3- или 4-цикла при одних и тех же значениях популяционных параметров. Тип предельного (окончательно установившегося) динамического режима определяется в этом случае начальными условиями (значениями численности): при одних численностях популяция стремится к равновесию, при других – устанавливаются колебания численности.

Следующим этапом улучшения адекватности рассматриваемых моделей является учет изменений среды обитания, т.е. влияния внешних факторов. В этом случае коэффициенты, характеризующие репродуктивные потенциалы особей, не являются постоянными величинами, а принимают значения в зависимости от степени воздействия внешних факторов.

Проведенные исследования позволяют заключить, что действие внешнего случайного фактора на системы, описываемые дискретными моделями, в которых наблюдается мультистабильность (зависимость предельных режимов динамики от начальных условий), приводит к качественно новому явлению – мультирежимности. Это явление заключается в перманентных сменах динамического режима, обусловленных блужданием популяционных параметров в параметрическом пространстве и значительными трансформациями фазового пространства (областей притяжения).

Особый интерес представляет наличие периодических изменений факторов внешней среды. В частности, они могут приводить к периодическому изменению репродуктивного потенциала (мальтузианского параметра) рассматриваемых популяций. Обнаружено, что такое периодическое изменение факторов внешней среды может привести к синхронным изменениям численности популяций. Однако, возможны и асинхронные собственные колебания численности. В параметрическом пространстве рассматриваемой модели выявлены обширные области мультистабильности, в которых при одних и тех же значениях параметров могут сосуществовать нескольких устойчивых режимов: разных циклов конечной длины и хаоса. Это указывает на возможность, наблюдать в биологическом сообществе, находящемся под воздействием периодически меняющихся средовых факторов, как регулярную, так и нерегулярную популяционную динамику.

ВЛИЯНИЕ ДИСТАНЦИОННЫХ СТРЕССОВЫХ СИГНАЛОВ НА ТРАНСПИРАЦИЮ В УСЛОВИЯХ НАГРЕВАНИЯ И ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХИ

INFLUENCE OF DISTANCE STRESS SIGNALS ON TRANSPIRATION UNDER HEATING AND SOIL DROUGH CONDITIONS

Юдина Л.М., Гринберг М.А., Сухова Е.М., Воденеев В.С., Сухов В.С.

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород, E-mail: lyubovsurova@mail.ru

Влияние различных стресс-факторов (в первую очередь – засухи и повышенной температуры, которые часто действуют совместно) является одним из самых распространенных лимитирующих факторов для выживания растений в природных условиях. В первую очередь они влияют на водный обмен; так, низкий уровень влажности почвы и воздуха в большинстве случаев приводит к уменьшению размеров устьичной щели и снижению проводимости устьиц для воды и транспирации. Для эффективной регуляции жизнедеятельности растения используют дистанционные сигналы различной природы. Такие сигналы, распространяясь по растению, способны индуцировать многообразные физиологические ответы, включая изменения фотосинтеза и транспирации, в конечном итоге приводя к изменению устойчивости растения в целом.

Целью работы стало исследование влияния стрессовых сигналов, вызванных локальным нагревом листа на изменение транспирации при наличии или отсутствии комбинированного стресса в виде жары или засухи.

В качестве объектов исследования были использованы 2-3-недельные растения гороха посевного (*Pisum sativum* L.) и 1-недельные проростки пшеницы мягкой (*Triticum aestivum*). Растения культивировали гидропонным способом в климатической камере Binder KBW 240 (Binder, Германия) при 16-и часовом световом периоде и температуре 24°C. Параметры газообмена и водного обмена растения регистрировались с помощью системы, включающей инфракрасный газоанализатор GFS-3000 и измерительную головку Dual-PAM gas-exchange Cuvette 3010-Dual (Heinz Walz GmbH, Германия).

На первом этапе исследования был проведен анализ изменений транспирации при 30 мин нагревании воздуха в кювете измерительной головки PAM-флуориметра с исследуемым листом растения. Нагревание листа пшеницы до 32°C и 42°C выявило наличие двух выраженных максимумов возрастания транспирации на 5 и 20 мин после начала нагревания, причём при более высокой температуре выраженность максимумов (особенно, второго) была больше. Анализ другого объекта – проростков гороха, листья которого нагревали до 42°C, также показал наличие двух максимумов возрастания транспирации.

По-видимому, первый максимум был связан с возрастанием движущей силы для воды при повышении температуры, что обусловлено снижением относительной влажности воздуха в нагреваемой кювете с листом растения; второй же максимум может быть обусловлен активным открытием устьиц для снижения температуры листа при его прогревании. Анализ математической модели процесса транспирации листа подтвердил такое предположение. Было выявлено, что модель, которая была параметризирована на основе показателей растений перед нагревом, очень хорошо описывает первый подъём транспирации, вызванный нагреванием; в то же время – описание второго максимума транспирации полностью отсутствует. Это означает, что развитие второго максимума требует изменения параметров модели, описывающих водное сопротивление растения; т.е. для моделирования второго максимума требуется введение в модель описания активного открытия устьиц при действии повышенной температуры.

Далее был проведен анализ возможного модифицирующего влияния почвенной засухи на вызванные нагревом транспирационные ответы. Было показано, что двухдневная почвенная засуха снижала амплитуды обоих максимумов транспирации, а четырёхдневная засуха приводила к ещё большему снижению амплитуд максимумов. При этом снижение второй фазы было более выражено, т.е. растение, при снижении его водного потенциала, либо уже не способно активно отвечать на тепловое воздействие, либо «выбирает» стратегию сохранения воды ценой более высокого нагрева листа (нет увеличения транспирации).

На следующем этапе исследования перед нагреванием исследуемого листа гороха осуществлялась индукция распространяющегося стрессового сигнала. Сигнал вызывали путём кратковременного нагрева листа, соседнего с исследуемому, в кювете с водой. Стрессовый сигнал в отсутствие последующего нагрева приводил к обратимому снижению ассимиляции углекислого газа и обратимому изменению транспирации. Если же после прохождения сигнала имело место нагревание, сигнал приводил к изменению соотношения амплитуд максимумов развития изменений транспирации на нагрев.

Полученные результаты позволяют предположить, что стрессовые сигналы помогают растению в выборе оптимальной стратегии при наступлении неблагоприятных факторов среды (в первую очередь – при жары или засухе, которые во многих случаях действуют совместно).

Исследование влияния дистанционных сигналов и почвенной засухи на транспирацию растений выполнялась при финансовой поддержке гранта Президента РФ № МК-2707.2019.11, оценка изменений транспирации при нагревании выполнялась при поддержке гранта РФФИ № 18-34-00637мол_а.

Оглавление

| | |
|---|----|
| Секция 11. Действие физико-химических факторов на биологические системы..... | 3 |
| АКТИВАЦИЯ СИНТЕЗА МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК СОПРЯЖЕНА С УВЕЛИЧЕНИЕМ ЕЕ МУТАНТНЫХ КОПИЙ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ПРОТОНАМИ С ЭНЕРГИЕЙ 150 МЭВ..... | 4 |
| ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ЯДЕРНАЯ И МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДНК В МОЧЕ – НЕИНВАЗИВНЫЕ БИОМАРКЕРЫ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ФИЗИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ | 5 |
| МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК И ЭКСПРЕССИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ГЕНОВ В РАЗНЫХ УЧАСТКАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС, ОБЛУЧЕННЫХ ПРОТОНАМИ..... | 6 |
| СУПРАМОЛЕКУЛЯРНАЯ ФИЗИКА ПРИ РЕШЕНИИ РЯДА БИОФИЗИЧЕСКИХ ПРОБЛЕМ | 6 |
| ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ВОЛН МИЛЛИМЕТРОВОГО ДИАПАЗОНА НА ДНК И ДНК-ЛИГАНД КОМПЛЕКСЫ В ВОДНО-СОЛЕВОМ РАСТВОРЕ..... | 7 |
| НЕТЕРМИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ТЕРАГЕРЦОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ТЕРМОФИЛЬНЫЙ МИКРООРГАНИЗМ GEOBACILLUS ISIGIANUS | 8 |
| ОСОБЕННОСТИ РОСТА ЛЯГУШЕК В КАВИТАЦИОННО-ОБРАБОТАННОЙ ВОДЕ | 9 |
| ФОРМИРОВАНИЕ СТРЕССОВОЙ РЕАКЦИИ У КРЫС ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ | 9 |
| АКТИВИРОВАННАЯ «ПЛАЗМЕННАЯ ВОДА» ДЛЯ РЕГУЛЯЦИИ РОСТА И РАЗВИТИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОБЪЕКТОВ | 10 |
| СРАВНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПОСТОЯННОГО, ПЕРЕМЕННОГО, КОМБИНИРОВАННОГО МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ РАЗЛИЧНОЙ ОРИЕНТАЦИИ И МАГНИТНОГО ПОЛЯ, КОМБИНИРОВАННОГО С ЭЛЕКТРИЧЕСКИМ ПОЛЕМ. ЕДИНЫЙ ФИЗИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ | 11 |
| НИЗКОЧАСТОТНОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ, ГЕНЕРИРУЕМОЕ РАСТЕНИЯМИ. ЗАВИСИМОСТЬ ОТ ВНЕШНЕГО ОКРУЖЕНИЯ И ВНЕШНЕГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ..... | 12 |
| РОЛЬ АНИОНОВ ФОСФАТА В АВТО- И ФОТОИНДУЦИРОВАННОМ ОКИСЛЕНИИ NADH..... | 12 |
| ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ОТКЛИК ПРОТЕОГЛИКАНОВЫХ СИСТЕМ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ВЫСОКОЧАСТОТНОЙ ЭЛЕКТРОХИРУРГИЧЕСКОЙ СВАРКИ..... | 13 |
| ПОЛОЖЕНИЕ ДЕЛ В ПОНИМАНИИ СВОЙСТВ ЖИДКОЙ ВОДЫ. ВОЗМОЖНАЯ АЛЬТЕРНАТИВА | 14 |
| ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ, ТРАНСПОРТНЫЕ И ТЕПЛОВЫЕ СВОЙСТВА ЖИДКОЙ ВОДЫ В ТЕРМИНАХ ИОН-МОЛЕКУЛЯРНОЙ МОДЕЛИ | 15 |
| БЕЛКИ ТЕПЛОВОГО ШОКА КАК ФАКТОРЫ ПРОТЕОСТАЗА В ПОПЕРЕЧНОПОЛОСАТЫХ МЫШЦАХ ЗИМНЕСПЯЩЕГО ДЛИННОХВОСТОГО СУСЛИКА (SPERMOPHILUS UNDULATUS)..... | 16 |
| ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА ЭЛЕКТРОГЕНЕЗ БЕЗМЕМБРАННЫХ МИКРОБНЫХ ТОПЛИВНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ БЕНТОСНОГО ТИПА..... | 17 |
| ВЛИЯНИЕ ГИРОМАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ НА АКВА-КОММУНИКАЦИЮ МОЛЕКУЛЯРНЫХ СИГНАЛОВ МЕЖДУ МИКРООРГАНИЗМАМИ И РАСТЕНИЯМИ В СИМБИОТИЧЕСКИХ БИОСИСТЕМАХ | 18 |
| ЭФФЕКТ ПОЛИЕНОВЫХ МАКРОЛИДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ ВИРУСОВ | 19 |
| ВЛИЯНИЕ ОЛИГОСАХАРИДОВ ИЗ HELIANTHUS TUBEROSUS L. НА РАЗВИТИЕ КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ РАСТЕНИЙ | 20 |
| АТМОСФЕРНОЕ ДАВЛЕНИЕ КАК БИОФИЗИЧЕСКИЙ ФАКТОР..... | 21 |
| ГЕНЕРАЦИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА ПРИ ДЕЙСТВИИ ИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА КОЛЛОИДНЫЕ РАСТВОРЫ НАНОЧАСТИЦ В ВОДЕ, ОРГАНИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЯХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ..... | 22 |

| | |
|---|----|
| МЕМБРАННОКЛЕТОЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ И АДАПТИВНЫХ ГОРМОНОВ | 23 |
| ЭЛЕКТРОМИОГРАФИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЫШЦ ВЕРХНЕЙ КОНЕЧНОСТИ В ПРОЦЕССЕ ВЫПОЛНЕНИЯ ДВИГАТЕЛЬНОЙ ЗАДАЧИ В РЕЖИМЕ БИОУПРАВЛЕНИЯ ВИРТУАЛЬНЫМ ОБЪЕКТОМ ПО СТАБИЛОМЕТРИЧЕСКОМУ СИГНАЛУ | 23 |
| ИЗМЕНЕНИЕ БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ У КРЫС ПРИ ИЗОЛИРОВАННОМ И КОМБИНИРОВАННОМ ДЕЙСТВИИ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ МИЛЛИМЕТРОВОГО ДИАПАЗОНА И ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ЭКРАНИРОВАНИЯ | 24 |
| ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ В ЖИВЫХ СИСТЕМАХ ПРИ ФРАКЦИОНИРОВАНИИ ИЗОТОПОВ..... | 25 |
| АКТИВАЦИЯ ЕСТЕСТВЕННОЙ ЗАЩИТЫ МЫШЕЙ ПРИ ОБЛУЧЕНИИ НИЗКОИНТЕНСИВНЫМ ФЕМТОСЕКУНДНЫМ ЛАЗЕРОМ..... | 26 |
| ТЕМПЕРАТУРНАЯ ИНАКТИВАЦИЯ БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ В КРАХМАЛЬНОМ И ЖЕЛАТИНОВОМ ГЕЛЯХ | 27 |
| 2-КАРБОКСИ-2-(N-АЦЕТИЛАМИНО)-3-(3',5'-ДИ-ТРЕТ-БУТИЛ-4'-ГИДРОКСИФЕНИЛ)-ПРОПИОНАТ КАЛИЯ ПОВЫШАЕТ УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ К ДЕЙСТВИЮ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ | 28 |
| МОРФОТРОПИЯ И САМООРГАНИЗАЦИЯ КАРБОНАТА КАЛЬЦИЯ В ХОДЕ БИОМИНЕРАЛИЗАЦИИ: СИНТЕТИЧЕСКИЕ И ПРИРОДНЫЕ ОБЪЕКТЫ | 29 |
| ВЛИЯНИЕ КАПСАИЦИНА НА КАНАЛООБРАЗУЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ ЦЕКРОПИНА А И ФЕНГИЦИНА | 30 |
| НОВЫЕ ДАННЫЕ О СПОСОБНОСТИ АЛКИЛИРУЮЩЕГО АГЕНТА, РАДИОМИМЕТИКА ДИПИНА ИНДУЦИРОВАТЬ КРУПНОМАСШТАБНУЮ ХРОМОСОМНУЮ АНОМАЛИЮ В РАЗВИВАЮЩИХСЯ МУЖСКИХ ПОЛОВЫХ КЛЕТКАХ У МЫШЕЙ..... | 31 |
| ПОВЕДЕНИЕ ВЫСОКОДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ КЛЕТОК СЕРТОЛИ (КС) В ГОНАДАХ МУТАНТНЫХ ПО ГЕНУ ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ ЙОТА МЫШЕЙ ЛИНИИ 129 ПОСЛЕ МУТАГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ..... | 31 |
| ХАРАКТЕРИСТИКИ АДАПТИВНОЙ РЕАКЦИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ЗДОРОВОГО ЧЕЛОВЕКА НА ИЗМЕНЕНИЕ СОСТОЯНИЯ ГЕОМАГНИТНОГО ПОЛЯ В РАЗНЫХ ЧАСТОТНО-ВРЕМЕННЫХ ДИАПАЗОНАХ..... | 32 |
| ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НЕТЕПЛОВОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ В ПРЕНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ..... | 33 |
| ИЗМЕНЕНИЕ ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК КРИОПРОТЕКТОРА НА ОСНОВЕ ГЛИЦЕРИНА ПОСЛЕ ДОБАВЛЕНИЯ ОТДЕЛЬНЫХ КОМПОНЕНТ | 34 |
| ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕРАЦИИ КАПИЛЛЯРНЫХ ВОЛН В ВОДНОЙ СРЕДЕ В УСЛОВИЯХ МИКРОВОЛНОВОГО ОБЛУЧЕНИЯ..... | 35 |
| ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НИЗКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В КЛЕТКАХ | 36 |
| ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА АКТИВАЦИЮ НЕЙТРОФИЛОВ..... | 37 |
| РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ЭФФЕКТОВ МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА МЕЖКЛЕТОЧНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА..... | 38 |
| РОЛЬ МЕМБРАНАКТИВНЫХ КАНАЛООБРАЗУЮЩИХ СОЕДИНЕНИЙ В УСИЛЕНИИ МЫШЕЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ | 39 |
| ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ВЫЯСНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ВЕКТОРНОГО ПОТЕНЦИАЛА ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ | 40 |

| | |
|--|----|
| ТОКСИЧНОСТЬ И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ Фуллеренолов. Роль кислородсодержащих заместителей. Биолюминесцентный мониторинг | 41 |
| ИЗОТОПНОЕ ЗАМЕЩЕНИЕ D/N ВО ВНУТРЕННЕЙ СРЕДЕ ОРГАНИЗМА ПРИВОДИТ К СМЕЩЕНИЮ ПРО – И АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА ТКАНЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА | 41 |
| НЕГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ТОКСИЧЕСКИХ И АДАПТАЦИОННЫХ ЭФФЕКТОВ. ИЗУЧЕНИЕ С ПОМОЩЬЮ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ ТЕСТОВЫХ СИСТЕМ РАЗЛИЧНОЙ СЛОЖНОСТИ – КЛЕТОК, ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ И ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ БЕЛКОВ | 42 |
| УЧАСТИЕ КЛЕТОЧНЫХ СИСТЕМ РЕГУЛЯЦИИ У МЫШЕВИДНЫХ ГРЫЗУНОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ФИЗИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В МАЛЫХ ДОЗАХ | 43 |
| ВЛИЯНИЕ АТМОСФЕРНЫХ ФАКТОРОВ НА БАЗАЛЬНЫЕ И ИНДУЦИРОВАННЫЕ АКТИВНЫМИ ФОРМАМИ КИСЛОРОДА УРОВНИ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК КЛЕТОК МЫШЕЙ | 44 |
| РЕЗУЛЬТАТЫ ЦИФРОВОГО МОРФОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПРИЗНАКОВ ИМАГО НАСЕКОМЫХ, ПОДВЕРГНУТЫХ ЭКЗОГЕННУМУ НИЗКОИНТЕНСИВНОМУ КОГЕРЕНТНОМУ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ НА ЭМБРИОНАЛЬНОЙ И ПОСТЭМБРИОНАЛЬНОЙ СТАДИЯХ ОНТОГЕНЕЗА | 45 |
| ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ САМООРГАНИЗАЦИИ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ УНИТИОЛА | 46 |
| ВОЗМОЖНЫЕ ПРИЧИНЫ ВЫСОКОЙ ПОВРЕЖДАЕМОСТИ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК | 47 |
| ДЕЙСТВИЕ НИЗКОЧАСТОТНЫХ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ ПОЛЕЙ НА АКТИВНОСТЬ РЕКОМБИНАНТНОЙ ЛЮЦИФЕРАЗЫ | 48 |
| ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ И РОСТ МАГНИТОМАРКИРОВАННЫХ КЛЕТОК <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> | 49 |
| УПРАВЛЕНИЕ СИНТЕЗОМ АТФ С ПОМОЩЬЮ СЛАБЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ И МАГНИТНЫХ ИЗОТОПОВ ²⁵ Mg И ⁶⁷ Zn IN VIVO | 50 |
| ВОЗДЕЙСТВИЕ ВЕРТИКАЛЬНОЙ СОСТАВЛЯЮЩЕЙ СВЕРХСЛАБОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НИЗКОЙ ЧАСТОТЫ НА КУЛЬТУРЫ БАКТЕРИЙ | 51 |
| ДЕЙСТВИЕ СВЕРХСЛАБОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НИЗКОЙ ЧАСТОТЫ НА КУЛЬТУРЫ БАКТЕРИЙ <i>E. COLI</i> | 52 |
| ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО ОКСИДА АЗОТА НА КРИСТАЛЛОГЕННЫЕ СВОЙСТВА И СОСТОЯНИЕ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНЫХ СИСТЕМ КРОВИ IN VITRO | 53 |
| МОДУЛЯЦИЯ ПАРАМЕТРОВ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ТКАНИ ПОД ВЛИЯНИЕМ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И АЗОТА | 54 |
| РОЛЬ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КЛЕТОЧНЫХ СТенок КОРНЯ В ПОГЛОЩЕНИИ МЕДИ И НИКЕЛЯ КОРНЯМИ РАСТЕНИЙ | 55 |
| ВЫЯВЛЕНИЕ ПРОТЕОМНЫМИ МЕТОДАМИ ГЕНА ГЛУТАМИНСИНТЕТАЗЫ <i>E. COLI</i> , ЧУВСТВИТЕЛЬНОГО К ТЕРАГЕРЦОВОМУ ИЗЛУЧЕНИЮ | 56 |
| АНАЛИЗ ДИНАМИКИ НЕКОТОРЫХ СТАТИСТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ РЕАКЦИИ ГЕТЕРОГЕННОЙ СИСТЕМЫ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ НА ДЕЙСТВИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ | 56 |
| ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ТКАНЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПОСЛЕ ИШЕМИИ МИОКАРДА И ИХ МОДИФИКАЦИЯ С ПОМОЩЬЮ ШИРОКОПОЛОСНОГО СВЕТА | 58 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ УФ-ИНДУЦИРОВАННОГО АПОПТОЗА ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА | 59 |
| ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОЙ АКТИВАЦИИ НА ДЕГИДРАТАЦИЮ БЕЛКА | 60 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ТЕРАГЕРЦОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ С БИОПОЛИМЕРАМИ НА ПРИМЕРЕ БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА | 61 |

| | |
|--|----|
| МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ СЛАБЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ НА ПРОДУКЦИЮ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В КРОВИ И НЕЙТРОФИЛАХ | 61 |
| МЕХАНИЗМ РЕАЛИЗАЦИИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА (НА «СТАДИИ ТРЕВОГИ») ПРИ ДЕЙСТВИИ СУБЛЕТАЛЬНЫХ ДОЗ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ. ГИПОТЕЗА. ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ..... | 62 |
| ПОВЫШЕНИЕ УРОВНЯ АФК В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПРИ ИНТЕНСИФИКАЦИИ ВНУТРИСОСУДИСТОГО ГЕМОЛИЗА | 63 |
| ИЗМЕНЕНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО АППАРАТА КОРТИКОСТЕРОЦИТОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭНДОКРИННОГО ДИСРАПТОРА ДДТ НА РАЗВИВАЮЩИЙСЯ ОРГАНИЗМ | 64 |
| АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР LINUM AUSTRIACUM ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ «ЗЕЛЕННЫХ» НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА | 65 |
| ЧТО ЗАПУСКАЕТ ДЕЛЕНИЕ ЯДРА В ЯЙЦЕ ПРИ 37.5 ⁰ ? КОНВЕРСИЯ СПИН-ИЗОМЕРОВ H ₂ O, РАСПЛАВ ГИДРАТНОЙ ОБОЛОЧКИ И ИХ ТРАНСПОРТ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНУ БЕЛОК/ЖЕЛТОК | 66 |
| ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ В КОРНЕВОЙ МЕРИСТЕМЕ ПРИ ОБЛУЧЕНИИ БЫСТРЫМИ НЕЙТРОНАМИ В ДОЗЕ 10 ГР И ИХ МОДИФИКАЦИЯ ГИПОМАГНИТНЫМИ УСЛОВИЯМИ НА ПРИМЕРЕ СЕМЯН САЛАТА..... | 67 |
| ВЛИЯНИЕ ОЗОНО-ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ОКИСЛИТЕЛЬНУЮ ДЕСТРУКЦИЮ БЕЛКОВ В ТКАНЯХ КРЫС С КАРЦИНОМОЙ ПОЧКИ | 68 |
| ВЛИЯНИЕ ОБЛУЧЕНИЯ ПРОТОНАМИ НА ПОВЕДЕНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ ГРЫЗУНОВ И НЕЙРОГЕНЕЗ ВЗРОСЛОГО МОЗГА..... | 69 |
| ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ ПОСТОЯННЫХ МАГНИТОВ, НАЛИЧИЯ НАНОЧАСТИЦ И ФЕРРОМАГНИТНЫХ МИКРОПРОВОДОВ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА И Т-ЛИМФОБЛАСТОВ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ JURKAT | 70 |
| МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ К ДЕЙСТВИЮ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ММ-ИЗЛУЧЕНИЯ У ЖИВОТНЫХ, НАХОДЯЩИХСЯ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА РАЗНОЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ | 71 |
| ДЕЙСТВИЕ МЕТАЛЛООРГАНИЧЕСКИХ КОМПЛЕКСОВ НА ОСНОВЕ ИОНОВ МЕДИ НА ФЛУОРЕСЦЕНЦИЮ ХЛОРОФИЛЛА | 72 |
| ВОЗДЕЙСТВИЕ УЛЬТРАЗВУКА НА ЗАМЕРЗАНИЕ КРИОЗАЩИТНЫХ РАСТВОРОВ..... | 72 |
| ИЗМЕРЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЯ ПРЕЛОМЛЕНИЯ РАСТВОРА NaCl В ВОДЕ ПРИ МАЛЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ СОЛИ | 73 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ТЕРАГЕРЦОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ГЕННУЮ ЭКСПРЕССИЮ С ПОМОЩЬЮ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ГЕНОСЕНСОРОВ..... | 74 |
| ОЦЕНКА УРОВНЯ НИТРИТОВ И НИТРАТОВ В ОРГАНАХ И ТКАНЯХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭКЗОГЕННОГО ОКСИДА АЗОТА..... | 75 |
| ВЛИЯНИЕ ВНЕШНЕГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВОДЫ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ | 76 |
| МОДЕЛЬ ПОВЕДЕНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ В КРОВЯНОМ РУСЛЕ | 77 |
| ВКЛАД НЕКОТОРЫХ ФЛАВОНОИДОВ В АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ H. PERFORATUM ПОД ДЕЙСТВИЕМ МИЛЛИМЕТРОВЫХ ВОЛН..... | 78 |
| ИММОБИЛИЗАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ И СУБСТРАТОВ СВЕЯЩИХСЯ БАКТЕРИЙ: ПОИСК МЕХАНИЗМОВ УВЕЛИЧЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ И ТОЧНОСТИ..... | 79 |
| ПОВРЕЖДЕНИЕ ДНК ОГРАНИЧИВАЕТ ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ ОТВЕТ КЛЕТОК МЮЛЛЕРА НА ДЕЙСТВИЕ АЛКИЛИРУЮЩЕГО АГЕНТА В СЕТЧАТКЕ МЫШЕЙ | 80 |
| ИНДУЦИРУЕМЫЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКИМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ ИММУНОГЕННЫЕ ПУТИ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ ПРИ НЕЙРООНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ | 81 |

| | |
|--|-----|
| ФАЗОВЫЙ ПЕРЕХОД ТИПА ЖИДКОСТЬ-ЖИДКОСТЬ КАК ПРИЧИНА ГЕМОЛИЗА ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ОХЛАЖДЕНИИ | 82 |
| КОМПЬЮТЕРНАЯ ПРОГРАММА «ЛОКАЛЬНЫЙ УНИВЕРСАЛЬНЫЙ МОНИТОРИНГ» (LUM): ВОЗМОЖНОСТИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВОЗДЕЙСТВИЯ ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ НА ЦЕНТРАЛЬНУЮ НЕРВНУЮ СИСТЕМУ ЧЕЛОВЕКА | 83 |
| МАТЕМАТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ ЛОНГИТУДНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ | 84 |
| ВЛИЯНИЕ БИС (2-ПИРИДИЛ)-3-(1,2,4-ТРИАЗОЛИЛ)ПРОПАНА НА БОЛЕВУЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ САМЦОВ И САМОК КРЫС | 85 |
| ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ ЕСТЕСТВЕННОГО И ИСКУССТВЕННОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА РИТМИКУ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ | 86 |
| ДЕЙСТВИЕ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ПОКАЗАТЕЛИ ВЫЛУПЛЕНИЯ ЦИСТ АРТЕМИИ | 87 |
| ВЛИЯНИЕ ГИПОГРАВИТАЦИИ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ И ДВИГАТЕЛЬНЫХ НЕРВНЫХ ВОЛОКОН СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА МЫШЕЙ | 88 |
| ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА СЕМЕННОЕ ПОТОМСТВО РАСТЕНИЙ, ВЫРОСШИХ В УСЛОВИЯХ РАЗНЫХ МОЩНОСТЕЙ ПОВЫШЕННОГО ЕСТЕСТВЕННОГО РАДИАЦИОННОГО ФОНА | 88 |
| СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В РАЗЛИЧНЫХ СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА У ОБЛУЧЕННЫХ КРЫС И ВОЗМОЖНОСТЬ ИХ КОРРЕКЦИИ ЭКСТРАКТОМ ШАФРАНА | 89 |
| НАРУШЕНИЯ ФОРМИРОВАНИЯ МЕМБРАННЫХ КАНАЛОВ, ТРАНСПОРТИРУЮЩИХ ЙОДИДЫ, ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ НИЗКИХ ДОЗ ДДТ | 90 |
| СТРУКТУРА И ФАЗОВЫЕ ПЕРЕХОДЫ ВОДЫ ПО ДАННЫМ ОПТИЧЕСКОЙ МИКРОСКОПИИ | 91 |
| ОЦЕНКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МИНДАЛЯ В СОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ | 92 |
| Секция 12. Фотобиология. Биофотоника | 93 |
| ВЛИЯНИЕ ПОЛЯРНОСТИ РАСТВОРИТЕЛЯ НА СПЕКТРАЛЬНО-ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ СВОЙСТВА ЦЕЛЕНТЕРАМИДА – ФЛУОРОФОРА ЦЕЛЕНТЕРАМИД-СОДЕРЖАЩИХ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ БЕЛКОВ | 94 |
| ФОТОИНДУЦИРОВАННОЕ ВЫДЕЛЕНИЕ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА В МЕМБРАНАХ ПУРПУРНЫХ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ | 94 |
| КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ПРОЦЕССОВ В ТИЛАКОИДНЫХ МЕМБРАНАХ SYNECHOCYSTIS SP. PCC 6803 IN VIVO И ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ПО ДАННЫМ О НАРАСТАНИИ И СПАДЕ ИНДУКЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ | 95 |
| СВЕТСОБИРАЮЩИЕ КОМПЛЕКСЫ LH2 ИЗ СЕРНОЙ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩЕЙ БАКТЕРИИ THIORHODOSPIRA SIBIRICA K1R-3 С РАЗНЫМ УРОВНЕМ СОДЕРЖАНИЯ КАРОТИНОИДОВ И ИХ СВОЙСТВА | 96 |
| ВЛИЯНИЕ КОГЕРЕНТНОСТИ СВЕТА НА ФОТОИНДУЦИРОВАННУЮ РЕАКЦИЮ КЛЕТОК | 97 |
| РАДИОЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЛАЗЕРНЫХ ИЗЛУЧЕНИЙ С ДЛИНАМИ ВОЛН 633 И 532 НМ НА КЛЕТКИ ФИБРОБЛАСТОВ МЫШЕЙ | 98 |
| КАЛЬЦИЙ-РЕГУЛИРУЕМЫЕ ФОТОПРОТЕИНЫ МОРСКИХ СВЕЯЩИХСЯ ОРГАНИЗМОВ: КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ АМИНОКИСЛОТНЫХ ОСТАТКОВ В БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ РЕАКЦИИ | 99 |
| ЗАЩИТА КЛЕТОЧНОЙ ДНК ОТ ДЛИННОВОЛНОВОГО УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ПРИ ФОТОБИОМОДУЛЯЦИИ КРАСНЫМ И БЛИЖНИМ ИНФРАКРАСНЫМ СВЕТОМ | 100 |
| ФЕМОТОСЕКУНДНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ МОЛЕКУЛ NADH В РАСТВОРАХ РАЗЛИЧНОЙ ВЯЗКОСТИ И ПОЛЯРНОСТИ | 101 |
| МЕХАНИЗМЫ ТУШЕНИЯ ТРИПЛЕТНЫХ СОСТОЯНИЙ ХЛОРОФИЛЛОВ ПРИ ФОТОСИНТЕЗЕ | 102 |

| | |
|--|-----|
| ИССЛЕДОВАНИЕ ПЕРЕХОДНЫХ ПРОЦЕССОВ В КЛЕТКАХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ПРИ АДАПТАЦИИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА К УСЛОВИЯМ АЗОТНОГО ГОЛОДАНИЯ | 103 |
| ЧИСЛЕННОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ДИНОФЛАГЕЛЛЯТЫ NOSTILUCA SCINTILLANS MACCARTNEY | 103 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО И СВЕТОКИСЛОРОДНОГО ЭФФЕКТОВ НА КЛЕТКИ КРОВИ..... | 104 |
| РОЛЬ БЕЛКА ТЕПЛООВОГО ШОКА 90 В УСИЛЕНИИ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ЛЮЦИФЕРАЗЫ СВЕТЛЯКОВ..... | 105 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ КОНФОРМАЦИОННЫХ ПЕРЕСТРОЕК ОРАНЖЕВОГО КАРОТИНОИДНОГО БЕЛКА С ПОМОЩЬЮ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ МЕТОК..... | 106 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОГЕНЕРАЦИИ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА МЕДНЫМИ КОМПЛЕКСАМИ ПРОИЗВОДНЫХ ХЛОРОФИЛЛА А..... | 107 |
| УЧАСТИЕ ФИЛЛОХИНОНА ФОТОСИСТЕМЫ I В ФОТОВОССТАНОВЛЕНИИ КИСЛОРОДА | 108 |
| ФОТОКАТАЛИЗАТОРЫ НА ОСНОВЕ TiO ₂ , ФУНКЦИОНИРУЮЩИЕ ПРИ ОСВЕЩЕНИИ В ВИДИМОМ ДИАПАЗОНЕ СВЕТА | 109 |
| ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ МЕТОДОВ В ИЗУЧЕНИИ ВЛИЯНИЯ ПОЛИАРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ | 110 |
| ФОТОИНДУЦИРОВАННЫЕ ПРОЦЕССЫ В ГЕМОГЛОБИНЕ И МИОГЛОБИНЕ С УЧАСТИЕМ МОЛЕКУЛЯРНОГО КИСЛОРОДА..... | 111 |
| НОВЫЕ ЦИАНО-АРИЛ ПОРФИРАЗИНЫ ДЛЯ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ: ЭФФЕКТИВНЫЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРЫ И ОПТИЧЕСКИЕ СЕНСОРЫ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ВЯЗКОСТИ..... | 112 |
| pH И ТЕМПЕРАТУРНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА В МЕМБРАННЫХ ПРЕПАРАТАХ ФОТОСИСТЕМЫ 2..... | 113 |
| ВЛИЯНИЕ АССОЦИАЦИИ ПРОИЗВОДНЫХ АДЕНИНА НА ФОТОПРОДУКЦИЮ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ ПРИ 77 К | 114 |
| ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ И ТЕМПЕРАТУРЫ НА ПЕРЕНОС ЭНЕРГИИ ОТ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК К ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИМ РЕАКЦИОННЫМ ЦЕНТРАМ RB. SPHAEROIDES..... | 115 |
| УРОВЕНЬ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И ПОКАЗАТЕЛИ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КЛЕТОК АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА В УСЛОВИЯХ ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ | 116 |
| ПАРАМЕТРЫ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА У SOLANUM TUBEROSUM В УСЛОВИЯХ ДЕСТРУКЦИИ ТУБУЛИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА..... | 117 |
| ФОТОДИМЕРИЗАЦИЯ ТИМИНОВЫХ ХРОМОФОРОВ В ПОЛИ-Т | 117 |
| ИСПОЛЬЗОВАНИЕ SPAD 502 PLUS ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ХЛОРОФИЛЛА В ЛИСТЬЯХ С ПРИЗНАКАМИ МЕЖЖИЛКОВОГО ХЛОРОЗА | 118 |
| ПРЯМОЕ ОПТИЧЕСКОЕ ВОЗБУЖДЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО КИСЛОРОДА В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ..... | 119 |
| ФОТОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО И СВЕТОДИОДНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ВИДИМОЙ И БЛИЖНЕЙ ИК ОБЛАСТИ СПЕКТРА | 120 |
| ИСТОРИЧЕСКИЙ ОБЗОР РАННИХ ИССЛЕДОВАНИЙ МИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ | 121 |
| ПРЕПАРАТ ДЛЯ ФДТ НА ОСНОВЕ ПЕРФТОРУГЛЕРОДОВ: ФОТОДИНАМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ДЕЙСТВИЕ НА КЛЕТОЧНЫЕ КУЛЬТУРЫ..... | 123 |
| СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛЮЦИФЕРАЗ | 124 |
| ХИТОЗАН КАК ФОТОПРОТЕКТОР ДЛЯ МАКРОМОЛЕКУЛ БРОМЕЛИНА, ФИЦИНА И ПАПАИНА.. | 124 |

| | |
|---|-----|
| Рd-ЗАМЕЩЕННЫЙ МИОГЛОБИН – МОДЕЛЬНАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА ВНУТРИ БЕЛКОВОЙ МАТРИЦЫ | 126 |
| СТРЕССОВЫЕ СИСТЕМЫ <i>ESCHERICHIA COLI</i> И ИХ РОЛЬ В РЕАКЦИЯХ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ТЕРАГЕРЦОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ | 127 |
| ВТОРИЧНАЯ ПРОДУКЦИЯ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ В ОТВЕТ НА ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ | 127 |
| ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ И ОПТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ФОТОСИСТЕМЫ 1 ЦИАНОБАКТЕРИЙ . | 128 |
| ФОТОНИКА КУРКУМИНА В ОРГАНИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЯХ И ВОДНЫХ СРЕДАХ В КОМПЛЕКСАХ С АЛЬБУМИНАМИ | 129 |
| МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ АДАПТАЦИИ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ К СТРЕССОВЫМ УСЛОВИЯМ, ВЫЗВАННЫМ МИНЕРАЛЬНЫМ ГОЛОДАНИЕМ | 130 |
| МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ ИНАКТИВАЦИИ КИСЛОРОД-ВЫДЕЛЯЮЩЕГО КОМПЛЕКСА ФОТОСИСТЕМЫ 2 ПО КРИВЫМ ИНДУКЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА а . | 131 |
| ЧАГА КАК ИСТОЧНИК СТИМУЛЯТОРА ЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ РЕАКЦИИ БАЗИДИОМИЦЕТОВ | 131 |
| МОДЕЛИРОВАНИЕ ОПТИЧЕСКИХ И МЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СТенок КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ ДЛЯ НУЖД КОМПРЕССИОННОЙ ЭЛАСТОГРАФИИ НА ОСНОВЕ ЭНДОСКОПИЧЕСКОЙ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ | 132 |
| СПЕКТР СОЛНЕЧНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ, СЕЛЕКТИВНЫЙ СИНТЕЗ И УСТОЙЧИВОСТЬ БИОМОЛЕКУЛ | 133 |
| МЕХАНИЗМЫ ТУШЕНИЯ ТРИПЛЕТНЫХ СОСТОЯНИЙ ХЛОРОФИЛЛОВ ПРИ ФОТОСИНТЕЗЕ | 134 |
| ЭКСИТОННОЕ ПОГЛОЩЕНИЕ И ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ В i-МОТИВЕ ДНК | 135 |
| УВЕЛИЧЕНИЕ СКОРОСТИ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ В ФОТОСИСТЕМЕ 2 В ПРИСУТСТВИИ НАНОЧАСТИЦ ТРЕХВАЛЕНТНОГО ЖЕЛЕЗА | 136 |
| ДИСТАНЦИОННЫЕ ВЗАИМОВЛИЯНИЯ РАСТЕНИЙ, РЕГИСТРИРУЕМЫЕ ИЗМЕРЕНИЕМ ИМПУЛЬСНОЙ АМПЛИТУДНО-МОДУЛИРОВАННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА | 137 |
| ПЕРВИЧНЫЕ РЕАКЦИИ РОДОПСИНА <i>EXIGUOBACTERIUM SIBIRICUM</i> (ESR) | 138 |
| АДСОРБЦИЯ И ФОТОДИНАМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ НА БИСЛОЙНОЙ ЛИПИДНОЙ МЕМБРАНЕ | 139 |
| ДИСТАНЦИОННОЕ ЗОНДИРОВАНИЕ БЫСТРЫХ СТРЕССОВЫХ ОТВЕТОВ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА У РАСТЕНИЙ | 140 |
| АНАЛИЗ СВЯЗИ НЕФОТОХИМИЧЕСКОГО ТУШЕНИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА И ОПТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЛИСТА ГОРОХА | 141 |
| ЛЮМИНЕСЦИРУЮЩИЕ КЛАСТЕРЫ МЕТАЛЛОВ, СТАБИЛИЗИРОВАННЫЕ ПРОТЕИНАМИ | 141 |
| НИЗКОЧАСТОТНЫЕ КОЛЕБАНИЯ ОЛИГОМЕРОВ БАКТЕРИОХЛОРОФИЛЛА С В ХЛОРОСОМАХ ЗЕЛеной ФОТОТРОФНОЙ БАКТЕРИИ <i>CHLOROFLEXUS AURANTIACUS</i> | 142 |
| ГЕНЕРАЦИЯ ОКСИДА АЗОТА В МЕХАНОРЕЦЕПТОРНЫХ НЕЙРОНАХ И ГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ РАКА ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ: РОЛЬ Ca^{2+} , NF- κ B И sGC | 143 |
| ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ КОМПЛЕКСА БЕЛКОВ ПЛАСТОЦИАНИНА И ЦИТОХРОМА F В ВЫСШИХ РАСТЕНИЯХ, ЗЕЛеной ВОДОРОСЛИ И ЦИАНОБАКТЕРИЯХ | 144 |
| ЧИСЛЕННОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ИНТЕРФЕРЕНЦИОННОГО СИГНАЛА ПРИ ДОПЛЕРОВСКОЙ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ ТКАНЕЙ СЕТЧАТКИ ГЛАЗА И ЗРИТЕЛЬНОГО НЕРВА | 145 |
| МОДЕЛИРОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПУЛА ПОЛИФОСФАТОВ В ПРОЦЕССЕ РОСТА <i>CHLORELLA VULGARIS</i> | 146 |

| | |
|---|-----|
| ПРОБЛЕМА МАЛЫХ ДОЗ В СТРАТЕГИИ «ПОЛЕЗНОЕ СОЛНЦЕ» ДЛЯ ЖИВЫХ СИСТЕМ И ФОТОБИОМОДУЛЯЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ КАК КЛЮЧЕВОЙ МИШЕНИ | 147 |
| ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА РАСТЕНИЙ И МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ПО ПАРАМЕТРАМ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА a С ПОМОЩЬЮ НЕЙРОСЕТЕВОЙ МОДЕЛИ | 148 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДОМ ФЕМТОСЕКУНДНОГО ФЛЕШ-ФОТОЛИЗА СПЕКТРАЛЬНО-КИНЕТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК НИЗКОЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ВОЗБУЖДЕННЫХ ЭЛЕКТРОННЫХ СОСТОЯНИЙ В ОКСИГЕМОГЛОБИНЕ..... | 149 |
| ПРОЦЕССЫ ТЕПЛОВОЙ ДИССИПАЦИИ ПОГЛОЩЕННОЙ ЭНЕРГИИ СВЕТА В КЛЕТКАХ КАРОТИНОГЕННОЙ ВОДОРОСЛИ НАЕМАТОСОCCUS LACUSTRIS (CHLOROPHYCEAE)..... | 150 |
| ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ ЗАКОНЫ ФОТОБИОЛОГИИ | 151 |
| МОНИТОРИНГ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ВЯЗКОСТИ ПОСЛЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИМОДАЛЬНЫХ ПОРФИРАЗИНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ..... | 152 |
| СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОММОХРОМОВ ГЛАЗА НАСЕКОМЫХ. ФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ, СВОБОДНО РАДИКАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА, АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ | 153 |
| O ₂ -ЗАВИСИМАЯ ФОТОИНАКТИВАЦИЯ ИЗОЛИРОВАННЫХ РЕАКЦИОННЫХ ЦЕНТРОВ ФОТОСИСТЕМЫ 2 ПРИ ФОТОНАКОПЛЕНИИ ДОЛГОЖИВУЩЕГО СОСТОЯНИЯ С ВОССТАНОВЛЕННЫМ ФЕОФИТИНОМ | 153 |
| ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КООРДИНАТЫ РЕАКЦИИ ФОТОАКТИВАЦИИ БЕЛКА ОСР ... | 154 |
| Секция 13. Медицинская биофизика. | 155 |
| МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ И ИХ КОРРЕКЦИЯ СИНТЕТИЧЕСКИМ ФРАГМЕНТОМ РЕЦЕПТОРА КОНЕЧНЫХ ПРОДУКТОВ ГЛИКИРОВАНИЯ НА ЖИВОТНОЙ МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА | 156 |
| БИОМАРКЕРНЫЙ АНАЛИЗ РАКА ЛЕГКИХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ FTIR-СПЕКТРОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА | 157 |
| СЛАБЫЕ АДГЕЗИОННЫЕ СВОЙСТВА И АГРЕГАЦИЯ КАК ОСНОВНЫЕ ЛИМИТИРУЮЩИЕ ФАКТОРЫ БИОИНТЕГРАЦИИ НАНОРАЗМЕРНОГО ГИДРОКСИАПАТИТА В ОРГАНИЗМЕ | 158 |
| ПРОВΟΣПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЛИПИДЫ И ПОВРЕЖДЕННЫЕ КОМПОНЕНТЫ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА КАК ОСНОВОПОЛАГАЮЩИЕ ФАКТОРЫ ИНИЦИАЦИИ АСЕПТИЧЕСКОГО КАЛЬЦИНОЗА БИОМАТЕРИАЛОВ | 159 |
| СПЕКТРАЛЬНАЯ РАЗРЕШАЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ ГЛАЗА ЧЕЛОВЕКА, ИЗМЕРЕННАЯ RGB ЛАЗЕРНЫМ РЕТИНОМЕТРОМ..... | 160 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ АКУСТИЧЕСКОГО РЕФЛЕКСА ПРИ КОНТРАЛАТЕРАЛЬНОЙ ЗВУКОВОЙ СТИМУЛЯЦИИ | 161 |
| ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ОКСИДА АЗОТА И МЕДИ В ОБОНЯТЕЛЬНЫХ ЛУКОВИЦАХ МОЗГА КРЫС ПОСЛЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ИНТРАНАЗАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК..... | 162 |
| ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ОКСИДА АЗОТА И МЕДИ В ГИППОКАМПЕ КРЫС ПОСЛЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА | 163 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА ЭРИБУЛИН С МИКРОТРУБОЧКОЙ МЕТОДАМИ КОМПЬЮТЕРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ | 164 |
| СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ВНУТРИЭРИТРОЦИТАРНОГО ГЕМОГЛОБИНА ЧЕЛОВЕКА, МОДИФИЦИРОВАННОГО NO-СОДЕРЖАЩИМИ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ПРЕПАРАТАМИ | 165 |
| ВЛИЯНИЕ УФ-СВЕТА НА УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ CD5 РЕЦЕПТОРОВ В-ЛИМФОЦИТОВ ДОНОРСКОЙ КРОВИ..... | 166 |
| ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА VDAS ЭРАСТИНА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ МРТР ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ | 167 |

| | |
|---|-----|
| ВЛИЯНИЕ ШИРОКОПОЛОСНОГО КРАСНОГО СВЕТА НА АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗЫ | 167 |
| ОЦЕНКА РЕОЛОГИЧЕСКИХ ДЕТЕРМИНАНТ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА С ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИЕЙ В СРАВНЕНИИ С АНАЛОГИЧНЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ | 168 |
| МЕХАНИЗМЫ ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ ПАКСИЛЛИНА ПРОТИВ Cd^{2+} -ИНДУЦИРОВАННОЙ ТОКСИЧНОСТИ И КЛЕТочНОЙ СМЕРТИ..... | 169 |
| ГИПОФРАКЦИОНИРОВАННОЕ ПРОТОННОЕ ОБЛУЧЕНИЕ СОЛИДНОЙ ФОРМЫ АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА У МЫШЕЙ | 170 |
| ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОЙ И ЛОКОМОТОРНОЙ ФУНКЦИИ ОБОНЯТЕЛЬНОГО АНАЛИЗАТОРА | 171 |
| СОКРАТИТЕЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК СОСУДОВ ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ | 172 |
| СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ ВНОВЬ СИНТЕЗИРОВАННОГО СОЕДИНЕНИЯ ФС-ГИПОКАРД (НИТРОКСИМЕКСИДОЛ) И ПРЕПАРАТОВ СРАВНЕНИЯ МЕКСИДОЛ И НИКОРАНДИЛ НА ДЫХАТЕЛЬНУЮ ЦЕПЬ МИТОХОНДРИЙ СЕРДЦА, ПЕЧЕНИ И МОЗГА И ПРОДУКЦИЮ ОКСИДА АЗОТА В ЭТИХ КЛЕТКАХ..... | 173 |
| ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ПАРАМЕТРОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ КРОВИ КРЫС СО СПОНТАННОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ (SHR) | 174 |
| ПРИРОДНЫЕ И СИНТЕТИЧЕСКИЕ ВИТАМИНЫ..... | 175 |
| ВЛИЯНИЕ АДЕНИЛОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ НА ПРОЦЕСС ФИБРИЛЛООБРАЗОВАНИЯ МОЛЕКУЛ ИНСУЛИНА | 175 |
| ОЦЕНКА СРОДСТВА ОКСИДА АЗОТА(II) К ГЕМОГЛОБИНУ И МИТОХОНДРИАЛЬНЫМ КОМПЛЕКСАМ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ | 176 |
| ЗАВИСИМОСТЬ СКОРОСТИ РАСПРОСТРАНЕНИЯ УПРУГИХ ВОЛН НА ПОВЕРХНОСТИ ГРУДНОЙ КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА ОТ НАПРАВЛЕНИЯ РАСПРОСТРАНЕНИЯ | 177 |
| РЕДОКС-ФАКТОРЫ В СИНОВИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ И КРОВИ В МЕХАНИЗМАХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И АПОПТОЗА ПРИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ ГОНАРТРОЗЕ..... | 178 |
| РЕГУЛЯЦИЯ РЕДОКС-МЕТАБОЛИЗМА КЛЕТОК КАК НОВАЯ СТРАТЕГИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ | 179 |
| ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ АКТИВАЦИИ КАСПАЗЫ-3, ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО pH И ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА ПРИ АПОПТОЗЕ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ С ВРЕМЕННЫМ РАЗРЕШЕНИЕМ | 180 |
| ПРЕДЕЛЬНЫЕ ВРЕМЕННЫЕ ГРАНИЦЫ ОБРАТИМОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ СМЕРТИ КРЫС ПРИ СВЕРХГЛУБОКОЙ ГИПОТЕРМИИ TIME LIMITING | 181 |
| ^1H ЯМР ИССЛЕДОВАНИЕ ХОЛЕСТЕРИНА В МЕТАБОЛИЧЕСКОМ ПРОФИЛЕ СИНОВИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ..... | 182 |
| ОПТИЧЕСКАЯ КОГЕРЕНТНАЯ ТОМОГРАФИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ СТРУКТУРЫ, МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ И ЭЛАСТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ТКАНЕЙ ЧЕЛОВЕКА | 183 |
| ЗАЩИТНЫЙ ЭФФЕКТ ХИМЕРНОГО ФЕРМЕНТА-АНТИОКСИДАНТА PSH ПРИ ИШЕМИЧЕСКИ – РЕПЕРФУЗИОННОМ ПОРАЖЕНИИ ПОЧЕК..... | 184 |
| ПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ПЕПТИДНОГО ИНГИБИТОРА КИНАЗЫ ЛЕГКИХ ЦЕПЕЙ МИОЗИНА ПРИ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОМ ПОРАЖЕНИИ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА | 185 |
| СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ МОНОМЕРНОЙ И ДИМЕРНОЙ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ НА СИГНАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В КЛЕТКАХ КРОВИ..... | 186 |
| ОБРАЗОВАНИЕ И РАЗРУШЕНИЕ НИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА В УСЛОВИЯХ, МОДЕЛИРУЮЩИХ ГАЛОГЕНИРУЮЩИЙ СТРЕСС..... | 187 |

| | |
|--|-----|
| ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ ФОРМ NO МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ ЭПР | 188 |
| МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА ПРОТИВ НОСЛ-МОДИФИЦИРОВАННОГО АЛЬБУМИНА КАК ИНСТРУМЕНТ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВАЦИИ НЕЙТРОФИЛОВ | 189 |
| КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ СПЕКТРАЛЬНЫМИ КОМПОНЕНТАМИ КОЛЕБАНИЙ КОЖНОГО КРОВОТОКА ЧЕЛОВЕКА | 190 |
| УЛУЧШЕНИЕ КАЧЕСТВА ДНЕВНОГО СНА ПРИ ДИСТАНТНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ СЛАБЫМИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫМИ ПОЛЯМИ СВЕРХНИЗКОЙ ЧАСТОТЫ | 191 |
| периодичность в динамике газового состава выдыхаемого воздуха | 191 |
| МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БИОМЕТРИЧЕСКОГО ПОДХОДА К СРАВНЕНИЮ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЯ, ВЫПОЛНЕННЫХ ДВУМЯ МЕТОДАМИ ИССЛЕДОВАНИЯ..... | 193 |
| МОНИТОРИНГ ВЕГЕТАТИВНОЙ СОСТАВЛЯЮЩЕЙ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО НАПРЯЖЕНИЯ У ДЕТЕЙ ПРИ АДАПТАЦИИ К ШКОЛЬНОЙ СРЕДЕ | 194 |
| ИЗМЕРЕНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ПАССИВНОЙ АКУСТИЧЕСКОЙ ТЕРМОМЕТРИИ | 195 |
| О СХОДСТВЕ ИММУННЫХ «МИШЕНИЙ» ПРИ РЕАЛИЗАЦИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЭФФЕКТОВ НИЗКОИНТЕНСИВНЫХ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ И НАНОЧАСТИЦ МАГНЕТИТА . | 196 |
| ЯПОНСКИЙ ПЕРЕПЕЛ <i>Coturnix japonica</i> , КАК ЖИВОТНАЯ МОДЕЛЬ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МИОПИЗАЦИИ ГЛАЗА | 197 |
| ИСПОЛЬЗОВАНИЕ УЛЬТРАЗВУКА ДЛЯ МОНИТОРИНГА И КОРРЕКЦИИ АГРЕГАТНОГО СОСТОЯНИЯ КРОВИ В ИНТЕНСИВНЫХ ПОТОКАХ <i>in vitro</i> | 198 |
| ИЗУЧЕНИЕ АНТИАГРЕГАЦИОННОГО ДЕЙСТВИЯ НАНОЭМУЛЬСИЙ α -ЛИПОЕВОЙ КИСЛОТЫ | 199 |
| РАДИОЗАЩИТНЫЕ СВОЙСТВА НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ..... | 200 |
| ПРИМЕНЕНИЕ ПРОГРАММНОГО КОМПЛЕКСА IMAGEJ ДЛЯ АНАЛИЗА ФАЦИЙ БЕЛКОВО- СОЛЕВОГО РАСТВОРА | 201 |
| ЗНАЧЕНИЕ МЕТОДА КРОСС-ПОЛЯРИЗАЦИОННОЙ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ В ХИРУРГИИ ГЛИОМ ГОЛОВНОГО МОЗГА | 202 |
| ВОЗМОЖНОСТИ МЕТОДА КРОСС-ПОЛЯРИЗАЦИОННОЙ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ В ПРИЖИЗНЕННОЙ ОЦЕНКЕ СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ УРЕТРЫ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ НИЖНИХ МОЧЕВЫХ ПУТЕЙ | 203 |
| ОПТИЧЕСКАЯ КОГЕРЕНТНАЯ АНГИОГРАФИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ИНТРАМУРАЛЬНОЙ ДИСЦИРКУЛЯЦИИ ПРИ ОСТРОЙ ИШЕМИИ КИШКИ..... | 204 |
| МЕТОД ПЕРВИЧНОГО ФЕНОТИПИЧЕСКОГО СКРИНИНГА ДЛЯ ОЦЕНКИ КЛЕТОЧНЫХ РЕАКЦИЙ НА ХИМИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ..... | 205 |
| ОНС201, ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ПРЕПАРАТ, ПОДАВЛЯЕТ ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ И МЕТАБОЛИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ВТ474, КАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА | 205 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ ЩЕЛОЧНЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ ВОЛОС ЖИВОТНЫХ С ЦЕЛЬЮ ВЫЯВЛЕНИЯ ПОЛОВОЗРАСТНЫХ РАЗЛИЧИЙ И ВИДОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ | 206 |
| ВЛИЯНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННО-ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК РАДИАЦИОННЫХ ПОЛЕЙ ПИОНОВ, АДРОНОВ И ЛЕГКИХ ИОНОВ НА ПРОЯВЛЕНИЕ ЭФФЕКТОВ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ И ИНДУЦИРОВАННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ <i>in vitro</i> В ДИАПАЗОНЕ НИЗКИХ ДОЗ..... | 207 |
| О ВОЗМОЖНОЙ РОЛИ АТМОСФЕРНОГО ИНФРАЗВУКА В ФОРМИРОВАНИИ ФАКТОРОВ РИСКА ДТП | 208 |

| | |
|--|-----|
| ПОСТНАТАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ ВЛИЯНИЯ НЕИОНИЗИРУЮЩЕГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ (460 МГц) НА ОКИСЛИТЕЛЬНУЮ И АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ КРОВИ ... | 209 |
| ЗРИТЕЛЬНО-МОТОРНОЕ ПОВЕДЕНИЕ ОБЕЗЬЯН ПОСЛЕ КРАНИАЛЬНОГО ОБЛУЧЕНИЯ ВЫСОКОЭНЕРГЕТИЧЕСКИМИ ПРОТОНАМИ | 210 |
| ПРИМЕНЕНИЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ В ТЕРАНОСТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЕЧЕНИ И МАНИПУЛИРОВАНИИ ОДИНОЧНЫМИ КЛЕТКАМИ | 211 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ ПРИ ХИМИОТЕРАПИИ | 212 |
| КЛЕТОЧНЫЕ И СИСТЕМНЫЕ ЭФФЕКТЫ ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА АСЦИТНУЮ ОПУХОЛЬ ЭРЛИХА | 213 |
| ВОСПРОВОСПРОИЗВОДИМЫЕ ПИКИ НА КРИВЫХ СКОРОСТЕЙ ВЫМИРАНИЯ МЫШЕЙ ОТКРЫВАЮТ НОВОЕ НАПРАВЛЕНИЕ ПОИСКА СПОСОБОВ ПРОДЛЕНИЯ ЖИЗНИ | 214 |
| IN VIVO МОНИТОРИНГ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА МЕТОДОМ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ | 215 |
| МОБИЛЬНОЕ УСТРОЙСТВО ДЛЯ ИЗМЕРЕНИЯ ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ МЕТОДОМ ГЕТЕРОХРОМАТИЧЕСКОЙ ФЛИКЕР-ФОТОМЕТРИИ | 216 |
| СТРУКТУРНО - ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ БАЛАНС ИММУННЫХ КЛЕТОК И ТРОМБОЦИТОВ В НАТИВНОЙ КРОВИ, ОПРЕДЕЛЯЕМЫЙ С ПОМОЩЬЮ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ЗОНДА ДСМ, КАК АДЕКВАТНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА | 217 |
| КОВАЛЕНТНОЕ ИНГИБИРОВАНИЕ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ ХЛОРАМИНОВЫМИ ОКСИДАНТАМИ БИОГЕННОЙ ПРИРОДЫ | 218 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ РЕГИОНАЛЬНЫХ РАЗЛИЧИЙ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ КАРДИОМИОЦИТОВ ЖЕЛУДОЧКОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 1 ТИПА | 219 |
| ЛАЗЕРНАЯ ТЕРАПИЯ 30 ЛЕТ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ..... | 220 |
| О ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СОЛИТОНОВ В НАНОМЕДИЦИНЕ: ДОСТАВКА ЛЕКАРСТВА ИЛИ ЛЕЧЕБНОГО СОСТОЯНИЯ?..... | 221 |
| ПЕРВИЧНЫЙ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКОГО И ПОСТОЯННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЕЙ НА КЛЕТКИ КРОВИ ЖИВОТНЫХ..... | 222 |
| ВЕРОЯТНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВЛИЯНИЯ УЛЬТРАЗВУКА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ НА АКТИВНОСТЬ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ | 222 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ МУЛЬТИФАКТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НА ПРИМЕРЕ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К АЛКОГОЛИЗМУ: МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА И БИОФИЗИКА..... | 223 |
| АНАЛИЗ АЛЬТЕРНАТИВНОГО СПЛАЙСИНГА ГЕНОВ В КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК ГЛИОМ ПО ДАННЫМ RNA-SEQ | 224 |
| УЧАСТИЕ ФОСФОЛИПАЗЫ D В РЕГУЛЯЦИИ ПЕРОКСИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ЦИТОХРОМА C.. | 225 |
| МУЛЬТИМОДАЛЬНЫЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ ОТВЕТА РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА НЕОАДЬЮВАНТНУЮ ХИМИОТЕРАПИЮ..... | 226 |
| ВЛИЯНИЕ НА НЕЙТРОФИЛЫ СОБСТВЕННЫХ СЕКРЕТОРНЫХ БЕЛКОВ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ ХЛОРНОВАТИСТОЙ КИСЛОТОЙ..... | 227 |
| САМОИНАКТИВАЦИЯ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ В УСЛОВИЯХ ГАЛОГЕНИРУЮЩЕГО СТРЕССА ... | 228 |
| ТЕРАГЕРЦОВАЯ ТЕРАПИЯ В КАРДИОЛОГИИ | 229 |
| ОСОБЕННОСТИ ОТВЕТНОЙ РЕАКЦИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ НА ГЕОМАГНИТНУЮ ВОЗМУЩЕННОСТЬ НА РАЗЛИЧНЫХ ШИРОТАХ | 230 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ ПОВРЕЖДЕНИЙ МОЛЕКУЛЫ ДНК, ВЫЗВАННЫХ ОБЛУЧЕНИЕМ ПРОТОНАМИ И ГАММА-КВАНТАМИ | 231 |

| | |
|--|-----|
| ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ДИНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА НА ПАРАМЕТРЫ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ ПРИ ОЖОГОВОЙ ТРАВМЕ | 232 |
| СЛОИСТО-ПЕРИОДИЧЕСКИЕ БИОСТРУКТУРЫ В РЕГЕНЕРАТИВНЫХ ПРОЦЕССАХ | 233 |
| АНАЛИЗ СУТОЧНОГО ЭКГ МОНИТОРИНГА: КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ МАГНИТНОГО ПОЛЯ ЗЕМЛИ НА СЕРДЕЧНОСОСУДИСТУЮ СИСТЕМУ ЧЕЛОВЕКА | 234 |
| ФАКТОРЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ НАЛИЧИЕ ПОБОЧНЫХ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ЭФФЕКТОВ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ФОТОТЕРАПИИ ГИПЕРБИЛИРУБИНЕМИИ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ | 235 |
| СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ФЛАВОНОИДСОДЕРЖАЩИХ ЭКСТРАКТОВ <i>SEDUM MAXIMUM (L.) HOFFM.</i> И <i>SEDUM TELERHIUM L.</i> : ЭКСПЕРИМЕНТ И МОЛЕКУЛЯРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ | 236 |
| КОМПРЕССИОННАЯ ОПТИЧЕСКАЯ КОГЕРЕНТНАЯ ЭЛАСТОГРАФИЯ ДЛЯ ЗАДАЧ ОЦЕНКИ БИОМЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ОПУХОЛИ В ХОДЕ ХИМИОТЕРАПИИ | 237 |
| ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФАКТОРА XIII С СУБПОПУЛЯЦИЯМИ АКТИВИРОВАННЫХ ТРОМБОЦИТОВ: РОЛЬ ИНТЕГРИНА $A_{\text{IIb}}V_3$ И ФИБРИНОГЕНА | 238 |
| КОРРЕЛЯЦИОННАЯ ВЗАИМОСВЯЗЬ ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКИХ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭРИТРОЦИТОВ В КОРРЕКЦИИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ | 239 |
| АНАЛИЗ ВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРЫ БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ МЕТОДОМ ИК СПЕКТРОСКОПИИ | 240 |
| ОПТИМИЗАЦИЯ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ | 241 |
| РОЛЬ ИМПУЛЬСНЫХ СДВИГОВЫХ НАПРЯЖЕНИЙ В АКТИВАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ | 241 |
| ПРИМЕНЕНИЕ ЭПР-СПЕКТРОСКОПИИ В ИЗУЧЕНИИ МЕТАБОЛИЗМА ЖЕЛЕЗА ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА | 242 |
| ОЦЕНКА АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ БЕНЗИЛПЕНИЦИЛЛИНА НАТРИЕВОЙ СОЛИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИМПУЛЬСНЫМ МАГНИТНЫМ ПОЛЕМ ВЫСОКОЙ НАПРЯЖЕННОСТИ | 243 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГЕПАТОЦИТОВ В ПРОЦЕССЕ ПЕЧЕНОЧНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ | 244 |
| ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЭМИТТЕРОВ ЭЛЕКТРОНОВ ОЖЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ | 245 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ ПАТОЛОГИИ СЕТЧАТКИ ПРИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ФРАКТАЛЬНОГО АНАЛИЗА И БИНАРНОГО ПРЕОБРАЗОВАНИЯ | 246 |
| ЭЛЕКТРОМАГНИТНОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ ТЕРМИНАЛОВ МОБИЛЬНОЙ СВЯЗИ И РАСПРОСТРАНЁННОСТЬ БОЛЕЗНЕЙ СИСТЕМЫ КРОВООБРАЩЕНИЯ | 248 |
| ПОИСК МАРКЕРОВ СИНДРОМА ДЕФИЦИТА ВНИМАНИЯ С ГИПЕРАКТИВНОСТЬЮ (СДВГ) НА ОСНОВЕ ЦИФРОВОГО ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО КАРТИРОВАНИЯ | 249 |
| ДИНАМИКА ФАКТОРА ФОН ВИЛЛЕБРАНДА В СДВИГОВЫХ ТЕЧЕНИЯХ КРОВИ | 250 |
| ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ СОЛНЦА И ГЕОМАГНИТНОЙ ВОЗМУЩЕННОСТИ НА СОСТОЯНИЕ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ЧЕЛОВЕКА | 251 |
| ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОРОГОВОЙ АКТИВАЦИИ КАСКАДА PI3K-АКТ-MTOR | 251 |
| ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННОГО МУКОЗИТА | 252 |
| НОВЫЙ ПРОДУКТ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА 2-ГЕКСАДЕЦЕНАЛЬ РЕГУЛИРУЕТ ФУНКЦИИ НЕЙТРОФИЛОВ | 253 |
| СУПЕРОКСИДГЕНЕРИРУЮЩАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ АВТООКИСЛЕНИЯ АДРЕНАЛИНА –МОДЕЛЬ ХИНОЙДНОГО ОКИСЛЕНИЯ КАТЕХОЛАМИНОВ И ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ | 254 |

| | |
|--|-----|
| СОЗДАНИЕ МОДЕЛЕЙ ОПУХОЛИ ЖИВОТНЫХ СО СТАБИЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ РЕЦЕПТОРА ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВЫХ ТАРГЕТНЫХ ПРЕПАРАТОВ..... | 255 |
| НАНОЧАСТИЦЫ ВОДНОЙ ДИСПЕРСИИ Фуллерена C60: ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ И НАНОЗИМНЫХ СВОЙСТВ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫМ МЕТОДОМ | 256 |
| ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ СЛЮНЫ | 257 |
| АНАЛИЗ ФАЗОВЫХ ВЗАИМОСВЯЗЕЙ МЕЖДУ КОЛЕБАТЕЛЬНЫМИ ПРОЦЕССАМИ В СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЕ ЧЕЛОВЕКА | 258 |
| ТЕХНОЛОГИЯ НЕИНВАЗИВНОГО МОНИТОРИНГА ГЛИКЕМИИ В СМАРТ-БРАСЛЕТЕ GOBE: ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ АЛГОРИТМА | 259 |
| ТЕХНОЛОГИЯ НЕИНВАЗИВНОГО МОНИТОРИНГА ГЛИКЕМИИ В СМАРТ-БРАСЛЕТЕ GOBE: РЕАЛИЗАЦИЯ АЛГОРИТМА..... | 260 |
| ПРОДУКЦИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА ПЕРИТОНЕАЛЬНЫМИ МАКРОФАГАМИ МЫШЕЙ ПРИ СОВМЕСТНОМ ДЕЙСТВИИ ЛИГАНДОВ TLR2 | 261 |
| АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ВОДНЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЙ КАРАГАНЫ ГРИВАСТОЙ (CARAGANA JUVATA (PALL.) POIR.)..... | 262 |
| КИНЕТИКА РЕСПИРАТОРНОГО ВЗРЫВА В КРОВИ КАК НОВЫЙ МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЙ ПОДХОД К МОНИТОРИНГУ СОСТОЯНИЯ БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ..... | 264 |
| АКТИВАЦИЯ ТРОМБООБРАЗОВАНИЯ В СДВИГОВЫХ ТЕЧЕНИЯХ | 265 |
| ГОМОТИПИЧЕСКАЯ МЕЖКЛЕТОЧНАЯ КОММУНИКАЦИЯ КАК НОВЫЙ МЕХАНИЗМ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ КЛЕТОК ЛЕЙКОЗА | 265 |
| ПРЯМОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФИБРИНОГЕНА С ЛИПИДНЫМИ МИКРОЧАСТИЦАМИ МОДУЛИРУЕТ КИНЕТИКУ СВЕРТЫВАНИЯ И СТРУКТУРУ СГУСТКА..... | 266 |
| РАДИКАЛ-ПРОДУЦИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК РАКА ЯИЧНИКОВ ИНТАКТНЫХ И ДЕФИЦИТНЫХ ПО ГЕНУ КАСПАЗЫ-2 | 267 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПЛЮРОНИКА F-127 НА ФОСФОЛИПИДНЫЕ ЛИПОСОМЫ МЕТОДОМ 31Р ЯМР | 268 |
| ПРАЙМИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ КАТИОННЫХ БЕЛКОВ НЕЙТРОФИЛОВ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ | 269 |
| РАДИКАЛЫ В СТРУКТУРАХ КЛЕТКИ | 270 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ РАДИОЗАЩИТНЫХ СВОЙСТВ ХИМЕРНОГО БЕЛКА PSN, ОБЛАДАЮЩЕГО АКТИВНОСТЬЮ ПЕРОКСИДАЗЫ И СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ, НА МОДЕЛИ ТОТАЛЬНОГО ОБЛУЧЕНИЯ МЫШЕЙ РЕНТГЕНОВСКИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ | 271 |
| ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ КОМПЛЕКСА ПРОТОННОЙ ТЕРАПИИ «ПРОМЕТЕУС» ДЛЯ БИОФИЗИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА ЖИВОТНЫХ | 272 |
| О ПУТЯХ ВКЛЮЧЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ МАГНЕТИТА В СОСТАВ ЛИПОСОМ НА ОСНОВЕ СОЕВОГО ЛЕЦИТИНА | 273 |
| ИЗУЧЕНИЕ ВЯЗКОСТИ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК С ПОМОЩЬЮ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО МОЛЕКУЛЯРНОГО РОТОРА И ВРЕМЯ-РАЗРЕШЁННОЙ МИКРОСКОПИИ FLIM ПРИ ХИМИОТЕРАПИИ..... | 274 |
| ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ИМИДЖИНГ И ЛЕЧЕНИЕ ОПУХОЛЕЙ С ПОМОЩЬЮ НОВЫХ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ БЕЛКОВ | 275 |
| ТРАНЛЯЦИОННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИМПУЛЬСНОЙ МАГНИТОТЕРАПИИ В НЕЙРООНКОЛОГИИ | 276 |
| ФОТОИНАКТИВАЦИЯ ПОКОЯЩИХСЯ ФОРМ MYCOBACTERIUM SMEGMATIS ПОСРЕДСТВОМ ИХ ЭНДОГЕННЫХ ПОРФИРИНОВ | 277 |

| | |
|---|-----|
| ВЛИЯНИЕ ДИКАРБОНИЛОВ НА ТОНУС ИЗОЛИРОВАННЫХ СОСУДОВ КРЫС..... | 278 |
| РОЛЬ ДИНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА В СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОМ ОКИСЛЕНИИ БИОМОЛЕКУЛ..... | 279 |
| ГЛОБАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КРИВЫХ ЗАТУХАНИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ФЛУОРОФОРОВ ЛИПОФУСЦИНОВЫХ ГРАНУЛ ИЗ РЕТИНАЛЬНОГО ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ ГЛАЗА ЧЕЛОВЕКА | 280 |
| АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ОММОХРОМОВ ГЛАЗА МУХИ ЧЕРНАЯ ЛЬВИНКА HERMETIA ILLUCENS | 281 |
| ГИДРОГЕЛИ НА ОСНОВЕ ФИБРОИНА ШЕЛКА RAILEY СПОСОБСТВУЮТ РЕГЕНЕРАЦИИ ПОЛНОСЛОЙНЫХ КОЖНЫХ РАН | 281 |
| THEORETICAL STUDY FOR TRAPPING OF MAGNETIC MICROCAPSULES IN THE BLOOD STREAM UNDER MAGNETIC FIELD EFFECT | 282 |
| ВЛИЯНИЕ ВАКУУМНОГО УСТРОЙСТВА НА НОВОРОЖДЕННЫХ ПРИ РОДОВСПОМОЖЕНИИ..... | 283 |
| Секция 14. Биофизика сложных систем. | 284 |
| МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ КАЛЬЦИЕВОГО ОТВЕТА НА АКТИВАЦИЮ В ТРОМБОЦИТАХ | 285 |
| ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА КАЛЬЦИЕВОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ ПРИ АКТИВАЦИИ ПУРИНЕРГИЧЕСКИХ РЕЦЕПТОРОВ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК | 286 |
| ДИНАМИЧЕСКИЕ УЛЬТРАДИСПЕРСНЫЕ СТРУКТУРЫ В ДВУМЕРНОЙ ОТКРЫТОЙ СИСТЕМЕ С ФАЗОВЫМ ПЕРЕХОДОМ ПЕРВОГО РОДА | 287 |
| СТАТИСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МЕХАНИЧЕСКОЙ ДЕФОРМАЦИИ НА КЛЕТОЧНЫЕ ДВИЖЕНИЯ В РАННЕМ РАЗВИТИИ XENOPUS LAEVIS | 287 |
| БИОФИЗИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ РАЗВИТИЯ НАДОРГАНИЗМЕННЫХ СИСТЕМ | 289 |
| МЕТОДИКА АВТОСЕЛЕКЦИИ АКТИВНЫХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ, УТИЛИЗИРУЮЩИХ ТОКСИЧЕСКИЕ ПОЛЛЮТАНТЫ ДЛЯ ОЧИЩЕНИЯ И ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПРИРОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ..... | 290 |
| ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ СОПРОВОЖДАЮЩИХСЯ ДЛИТЕЛЬНОЙ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЕЙ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В АКТИВИРОВАННЫХ ПЕРЕКИСЬЮ ВОДОРОДА БИКАРБОНАТНЫХ ВОДНЫХ РАСТВОРАХ | 291 |
| СВЕРХСЛАБОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ ЦЕЛЬНОЙ НЕРАЗВЕДЕННОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ОТРАЖАЕТ УЧАСТИЕ ЭЛЕКТРОННО-ВОЗБУЖДЕННЫХ СОСТОЯНИЙ В ЕЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВАХ | 292 |
| ВЛИЯНИЕ ЯЗЫКОВОЙ ПЛОТНОСТИ НА ДВИЖЕНИЯ ГЛАЗ ПРИ ЧТЕНИИ ТЕКСТОВ НА РОДНОМ (РУССКОМ) ЯЗЫКЕ | 293 |
| ОПТИМИЗАЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ЖИЗНЕОБЕСПЕЧЕНИЯ ДЛЯ ЗДАНИЯ, СЕРТИФИЦИРОВАННОГО ПО СТАНДАРТУ LEED | 293 |
| МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ГАЗООБМЕНА МЕЖДУ СИСТЕМОЙ ДЫХАНИЯ И САМОСПАСАТЕЛЕМ | 294 |
| ГЕОМЕТРИЧЕСКИЕ ФАЗОВЫЕ ПЕРЕХОДЫ В ДИНАМИКЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ | 295 |
| СТОХАСТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ОБОЛОЧКИ АРТЕРИАЛЬНОГО ТРОМБА | 297 |
| ИНФОРМАЦИОННАЯ ТЕОРИЯ СТАРЕНИЯ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ | 298 |
| ВОЛНОВЫЕ ПРОЦЕССЫ В КРУПНЫХ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДАХ | 299 |
| МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ВНЕШНЕЙ ТЕНАЗЫ: ЗНАЧЕНИЕ ДИФфуЗИИ И ПРОСТРАНСТВЕННОЙ НЕОДНОРОДНОСТИ СИСТЕМЫ | 300 |

| | |
|---|-----|
| ОПТИМИЗАЦИЯ ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ РАДИОТЕРАПИИ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМБИНИРОВАННОЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ МЕТОДОМ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ | 301 |
| ВОЗНИКНОВЕНИЕ ПЕРВИЧНЫХ ЖИВЫХ СИСТЕМ НА ПЛАНЕТЕ ЧЕРЕЗ МЕХАНИЗМ ТЕРМОДИНАМИЧЕСКОГО ПЕРЕВОРОТА | 302 |
| КЛАССИФИКАЦИЯ ВИРУСНЫХ ОБОЛОЧЕК ПО ТИПАМ ПРОСТЕЙШИХ ИКОСАЭДРИЧЕСКИХ МНОГОГРАННИКОВ | 303 |
| ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПЕРЕХОДА ПОПУЛЯЦИИ МИКСАМЕБ ОТ ПИТАНИЯ К АГРЕГАЦИИ | 304 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОГРЕССИИ СОЛИДНОЙ ОПУХОЛИ С УЧЕТОМ ДИХОТОМИИ ПРОЛИФЕРАЦИИ И МИГРАЦИИ С ПОМОЩЬЮ ДАРВИНОВСКОЙ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ | 305 |
| МОДЕЛИРОВАНИЕ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ | 306 |
| ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЕЙ РАЗЛИЧНОЙ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССЫ | 306 |
| АНАЛИЗ ДИНАМИКИ НАЧАЛЬНЫХ ЭТАПОВ АРТЕРИАЛЬНОГО ТРОМБООБРАЗОВАНИЯ..... | 307 |
| МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИФфуЗИИ МЕТАБОЛИТОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ..... | 308 |
| КОМПАКТНАЯ МОДЕЛЬ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ С УЧЕТОМ ВРЕМЯ-ЗАВИСИМОЙ КОМПЕТЕНЦИИ. СЛУЧАЙ ЛАТЕРАЛЬНОЙ РАЗМЕТКИ МЕЗОДЕРМЫ АМФИБИЙ.... | 309 |
| ВЛИЯНИЕ МЕХАНИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ТРОМБОЦИТОВ НА СТРУКТУРУ АРТЕРИАЛЬНЫХ И ВЕНОЗНЫХ ТРОМБОВ..... | 310 |
| ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДАННЫХ ДИСТАНЦИОННОГО ЗОНДИРОВАНИЯ В ПОСТРОЕНИИ ОЦЕНОК ФИТОПЛАНКТОННОГО ОБИЛИЯ МЕТОДАМИ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ..... | 311 |
| МЕТОДЫ РЕФРАКТОМЕТРИИ И ИКС НПВО В ИССЛЕДОВАНИИ ЖИВОТНЫХ ЛИПИДОВ И ИХ КУПАЖЕЙ | 312 |
| ТРОМБИРОВАНИЕ В РАЗВЕТВЛЁННЫХ СОСУДИСТЫХ СЕТЯХ, ВЫЗЫВАЕМОЕ АКТИВИРОВАННЫМИ ТРОМБОЦИТАМИ | 313 |
| РАСПОЗНАВАНИЕ ПАТОГЕНОВ Т-ЛИМФОЦИТОМ НОСИТ НУКЛЕАЦИОННЫЙ ХАРАКТЕР | 313 |
| МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОБОЛОЧКАХ ВИРУСОВ, ВЫЗВАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЕМ pH . | 314 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ ТОПОЛОГИИ И МОДЕЛИРОВАНИЕ СФЕРИЧЕСКИХ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ МОНОСЛОЕВ | 315 |
| СКРЫТАЯ СИММЕТРИЯ ВИРУСНОЙ ОБОЛОЧКИ BLUETONGUE И НЕКОТОРЫЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЗАРАЖЕНИЯ КЛЕТОК ЭТИМ ВИРУСОМ | 316 |
| НЕЙРОТРАНСМИТТЕРЫ (БИОМЕДИАТОРЫ) В РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКЕ..... | 317 |
| ФРАКТАЛЬНАЯ СЛОЖНОСТЬ ХАОТИЧЕСКИХ РИТМОВ ЭЭГ-СИГНАЛОВ РЕАЛЬНЫХ И ВООБРАЖАЕМЫХ ДВИЖЕНИЙ РУК..... | 318 |
| АВТОВОЛНОВАЯ МОДЕЛЬ МОРФОГЕНЕЗА В ПРЕДСТАВЛЕНИИ ТЕОРИИ НЕОДНОРОДНЫХ АКТИВНЫХ СРЕД..... | 320 |
| УРАВНЕНИЕ АРРЕНИУСА В АНАЛИЗЕ МЕХАНИЗМА ГЕМОЛИЗА ЭРИТРОЦИТОВ | 320 |
| АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ЧИСЛЕННЫЕ ПОДХОДЫ В МОДЕЛИРОВАНИИ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА..... | 321 |
| ВЛИЯНИЕ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА НА ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У СТУДЕНТОК | 322 |
| МОДЕЛЬ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ С ПАРАМЕТРАМИ, ЗАВИСЯЩИМИ ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ..... | 323 |
| ВЗГЛЯД БИОФИЗИКА НА СТАРЕНИЕ КАК НА ПРЕДОТВРАТИМЫЙ И ОБРАТИМЫЙ ПРОЦЕСС..... | 324 |

| | |
|--|-----|
| РАЗВИТИЕ БИОФИЗИЧЕСКИХ МЕТОДИК ДЛЯ СТРУКТУРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СИНХРОТРОННОГО ИЗЛУЧЕНИЯ | 325 |
| О РОЛИ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В ЖИЗНИ НА ЗЕМЛЕ | 326 |
| МОДЕЛИРОВАНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ В ПРОВОДЯЩЕЙ СИСТЕМЕ РАСТЕНИЙ | 327 |
| Секция 15. Экологическая биофизика | 328 |
| ИЗМЕНЕНИЯ АРХИТЕКТУРЫ КРОНЫ ДЕРЕВЬЕВ ПИХТЫ СИБИРСКОЙ ПРИ НАРУШЕНИИ ГОМЕОСТАЗА | 329 |
| ЗАМКНУТОСТЬ И ЭВОЛЮЦИЯ ЗЕМНОЙ БИОСФЕРЫ: ПАРАДОКС ВЕРНАДСКОГО-ДАРВИНА | 330 |
| ИНТЕГРАЛЬНАЯ ОЦЕНКА АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ НА РЕКУ КАЛЬМИУС МЕТОДОМ ФЛУОРИМЕТРИИ | 331 |
| ФЛУОРИМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ШЛАМОВЫХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ НА ФИТОПЛАНКТОН | 332 |
| ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДА КАДМИЯ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ ЗЕЛеной ВОДОРОСЛИ SCENEDESMUS OBLIQUUS | 333 |
| ФИЗИКА ЭНДОТЕРМИИ НА ПРИМЕРЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ЭНЕРГЕТИКИ ПТИЦ | 333 |
| ЭФФЕКТ ИНГИБИТОРОВ БЕЛКОВОГО СИНТЕЗА НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФС II ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ | 334 |
| ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ РАЦИОНА ЗООПЛАНКТОНА НА СОСТОЯНИЕ ПЛАНКТОННОГО СООБЩЕСТВА | 335 |
| ФИЗИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ В ПРОЦЕССЕ РАЗВИТИЯ СЛУХА И АКУСТИЧЕСКИ НАПРАВЛЯЕМОГО РАННЕГО ПОВЕДЕНИЯ ПТИЦ | 336 |
| ФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ ХЛОРОФИЛЛА В ОПРЕДЕЛЕНИИ ВЛИЯНИЯ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОЗДУШНОЙ СРЕДЫ НА ЗИМНИЙ ПОКОЙ РАСТЕНИЙ | 337 |
| ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СИГНАЛЫ РАСТЕНИЙ И ИХ РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ УСТОЙЧИВОСТИ К СТРЕССОРАМ СРЕДЫ | 338 |
| АНАЛИЗ СВЯЗИ МЕЖДУ НЕФОТОХИМИЧЕСКИМ ТУШЕНИЕМ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА И ФОТОХИМИЧЕСКИМ ИНДЕКСОМ ОТРАЖЕНИЯ (PRI) У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ | 339 |
| ДИНАМИКА ПОПУЛЯЦИИ ФИТОПЛАНКТОНА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ИОНОВ Cu | 340 |
| ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ СЫВОРОТКИ КРОВИ КАК ЭКСПРЕСС МЕТОД ДЛЯ ОЦЕНКИ НИТРИТНОЙ ТОКСИЧНОСТИ | 341 |
| ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ЛИСТОВОЙ ПЛАСТИНЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ ТЕХНОГЕННОГО ФАКТОРА | 342 |
| СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЙ АКТИВНОСТИ ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗЫ И КАТАЛАЗЫ В ИЗОЛИРОВАННЫХ ЭРИТРОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА ПРИ НИТРИТНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ | 343 |
| РАСТИТЕЛЬНЫЕ ЭКСТРАКТЫ В ЗАЩИТЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ ХЛОРОПЛАСТОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ МЕДИ | 343 |
| ИНДИВИДУАЛЬНАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЦИКЛА СОН- БОДРСТВОВАНИЕ У МЫШЕЙ К МЕТЕОРОЛОГИЧЕСКИМ И ГЕОМАГНИТНЫМ ФАКТОРАМ | 344 |
| ОСОБЕННОСТИ ГАЗОВЫДЕЛЕНИЯ ТОМАТОВ В ПРОЦЕССЕ ХРАНЕНИЯ | 345 |
| ФОРМИРОВАНИЕ ТОНКОЙ СТРУКТУРЫ ПОЛЯ БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ В ЧЕРНОМ МОРЕ ПОД ВЛИЯНИЕМ ГИДРОЛОГИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ВОД | 346 |
| РОЛЬ ФИТОПЛАНКТОНА ПРИ ЛЕТОВАНИИ ПРОТОЧНОГО ВОДОЕМА НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА МОДЕЛИ ФОТОСИСТЕМЫ 2 ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ИЗМЕРЕНИЙ ИНДУКЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ | 347 |
| МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОЧИСТНЫХ СООРУЖЕНИЙ | 348 |

| | |
|---|-----|
| МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ОТБОРА ПО ПРИЗНАКУ ОГРАНИЧЕННОМУ ПОЛОМ: ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ РЕПРОДУКТИВНЫХ СТРАТЕГИЙ В ЕСТЕСТВЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ ПЕСЦОВ, ALOPEX LAGOPUS..... | 349 |
| МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИНАМИКИ ПЛАНКТОННОГО СООБЩЕСТВА: ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЗООПЛАНКТОНА НА ДИНАМИКУ ФИТОПЛАНКТОНА | 350 |
| АКУСТИЧЕСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ ДЕЛЬФИНОВ ПРИ НАБЛЮДЕНИИ СОБСТВЕННОГО ИЗОБРАЖЕНИЯ УМЕНЬШЕННОГО МАССШТАБА | 351 |
| ДИАГНОСТИКА ДЕФИЦИТА МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ ПЛАНКТОННЫХ ВОДОРОСЛЕЙ ПО ПАРАМЕТРАМ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА | 352 |
| МЕХАНИЧЕСКАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ В ГОРОДСКОЙ СРЕДЕ | 353 |
| БИОФИЗИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ В ФЕРМЕНТАТИВНЫХ БИОТЕСТАХ | 354 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ФИТОПЛАНКТОННОГО СООБЩЕСТВА ПОЛЯРНЫХ МОРЕЙ РОССИИ МИКРОФЛУОРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ | 355 |
| ВОЗДЕЙСТВИЕ СЛАБЫХ МАГНИТНЫХ ВОЗМУЩЕНИЙ НА СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТУЮ СИСТЕМУ В УСЛОВИЯХ ЕСТЕСТВЕННОГО И ОСЛАБЛЕННОГО ГЕОМАГНИТНОГО ПОЛЯ | 355 |
| ВЛИЯНИЕ ВОСЬМИЧАСОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ НА ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС | 356 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ НА МОТОРНУЮ КООРДИНАЦИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС | 357 |
| ГЕМОЛИЗНАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА К ДЕЙСТВИЮ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ПОЛЯ ВЫСОКОЙ НАПРЯЖЕННОСТИ (50ГЦ)..... | 357 |
| ОЦЕНКА АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ НА СОСТОЯНИЕ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЛУОРИМЕТРА M-PEA..... | 358 |
| ЭВОЛЮЦИЯ РЕЖИМОВ ДИНАМИКИ ЧИСЛЕННОСТИ СТРУКТУРИРОВАННОЙ ЛИМИТИРОВАННОЙ ПОПУЛЯЦИИ | 359 |
| АНАЛИЗ МОНИТОРИНГА ЭКОСИСТЕМЫ НАРОЧАНСКИХ ОЗЁР: ЗАВИСИМОСТЬ МЕЖДУ ДИНАМИКОЙ БАКТЕРИОПЛАНКТОНА И ТРОФИЧЕСКИМ СТАТУСОМ ВОДОЁМА..... | 360 |
| ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОГОРЬЯ НА ВОЛНОВУЮ МОДУЛЯЦИЮ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У ЛЮДЕЙ С РАЗЛИЧНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ГИПОКСИИ | 360 |
| ФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ ХЛОРОФИЛЛА И УЛЬТРАСТРУКТУРА ХЛОРОПЛАСТОВ ОКОЛОПЛОДНИКА ЯБЛОНИ В УСЛОВИЯХ ВЫСОТНОЙ ПОЯСНОСТИ | 361 |
| ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФОТОСИНТЕЗА CERASUS VUL. ПО ВЫСОТНОЙ ЗОНАЛЬНОСТИ..... | 362 |
| ОСОБЕННОСТИ СИНХРОНИЗАЦИИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВАРИАбельНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА И ЛОКАЛЬНЫХ ВАРИАЦИЙ КОМПОНЕНТ ГЕОМАГНИТНОГО ПОЛЯ У ЛИЦ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ..... | 364 |
| АДАПТАЦИЯ АССИМИЛЯЦИОННОГО АППАРАТА ХВОЙНЫХ И ЛИСТВЕННЫХ ВИДОВ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ К УСЛОВИЯМ ГЕТЕРОГЕННОЙ СРЕДЫ | 365 |
| ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ МЕТИЛРТУТИ НА КЛЕТКИ ЗЕЛЕННОЙ ВОДОРОСЛИ SCENEDESMUS QUADRICAUDA С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЛУОРИМЕТРА M-PEA-2 | 366 |
| МОЛОДОЕ СОЛНЦЕ, ФИЗИЧЕСКИЕ УСЛОВИЯ НА РАННЕЙ ЗЕМЛЕ И БИОФИЗИКА ЖИВЫХ СИСТЕМ..... | 367 |
| СЛОЖНЫЕ РЕЖИМЫ ДИНАМИКИ В МОДИФИЦИРОВАННОЙ МОДЕЛИ НИКОЛСОНА-БЕЙЛИ ПРИ УЧЕТЕ ВОЗРАСТНОЙ СТРУКТУРЫ ЖЕРТВЫ | 367 |
| ЧИСЛЕННЫЙ РЕКУРРЕНТНЫЙ АНАЛИЗ ДИНАМИКИ ПОПУЛЯЦИЙ | 368 |
| ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ВОДНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ПОБЕГОВ ХВОЙНОГО И ЛИСТВЕННОГО ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ..... | 369 |

| | |
|---|-----|
| ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ГИПОТЕТИЧЕСКОЙ ЖИЗНИ НА ВЕНЕРЕ..... | 370 |
| МОДЕЛИ ПОПУЛЯЦИОННОЙ ДИНАМИКИ НА ОСНОВЕ РЕКУРРЕНТНЫХ УРАВНЕНИЙ..... | 371 |
| ВЛИЯНИЕ ДИСТАНЦИОННЫХ СТРЕССОВЫХ СИГНАЛОВ НА ТРАНСПИРАЦИЮ В УСЛОВИЯХ НАГРЕВАНИЯ И ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХИ | 372 |
| Оглавление | 373 |
| Авторский указатель | 391 |

Авторский указатель

- Agalarov. R.I., 334
Akbarzadeh A., 92
Aliyev J.A., 157
Atakishiyeva S.A., 334
Aydemirova A.H., 157
Azzag K., 315
Baghdiguian S., 315
Bayramova S.A., 334, 343
Bit A., 281
Dadashova S.B., 343
Eivazi A., 92
Ganiyeva R.A., 334
Gasanov R.A., 334
Gasymov O.K., 157
Gatina Z.B., 281
Gupta S., 281
Kavetskiy T., 92
Khalilov R., 92
Kurbanova I.M., 343
Le Goff E., 315
Lošdorfer Božič A., 314, 316
Mammadova L., 92
Masgutova G.A., 281
Melikova L.A., 157
Podgornik R., 314, 316
Quang Tong, 120
Quoc Tien Cong, 120
Rahimova M., 92
Saghfi S., 92
Salafutdinov I.I., 281
Salem S.F., 282
Sardagi M.R., 283
Sardagi V.R., 283
Siromyatnikova V.Y., 281
Tuchin V.V., 282
Zakirova E.Y., 281
Zhuravleva M.N., 281
Абакумов А.И., 311, 350
Абакумов М.А., 211
Абдрассилова Ж.Т., 270
Абдулаева И.А., 139
Абдуллаев С.А., 4, 5, 6, 47
Абрамов А.А., 188
Авакян С.В., 6
Аверин А.С., 181
Аветисян А.В., 156
Адамович Б.В., 360
Акатов В.С., 158, 159, 265
Акрамова Р.Б., 221
Акчурин Га.Г., 160
Акчурин Ге.Г., 160
Алексеев А.А., 358
Алексеев К.С., 9
Алексеев Ю.В., 104
Алёхин М.Д., 161
Алиев А.Д., 29
Алиева Р.Р., 42, 94
Аллахвердиев С.И., 72
Амаэгбери Н.В., 253
Ананич Т.С., 119, 120, 129, 235
Ананьева Ю.Е., 9
Ананян А.А., 178
Андреев А.А., 72
Андреева Л.Е., 31
Андрианов В.В., 162, 163
Андрюхина А.С., 216
Аникина А.А., 58
Анисимов М.Н., 164
Аносов А.А., 195
Аношин А.А., 217
Антонова О.Ю., 100
Антонян А.П., 7
Апашева Л.М., 10, 11
Арапова Ю.Ю., 276
Арбуханова П.М., 280
Арсеньев Г.Н., 344
Артюхов В.Г., 59, 116, 124, 165,
166, 213, 273
Арутюнян А.А., 65
Асташев М.Е., 22
Атауллаханов Ф.И., 238, 297, 307,
310
Атмачиди Д.П., 276
Афанасьева Т.Н., 229, 230
Ахметзянова Л.Р., 46
Аширметов А.Б., 221
Ашихмин А.А., 94, 96
Бабаев Х.Ф., 89
Бабанов Н.Д., 23
Бабенко В.Н., 224
Бабенко Р.О., 223
Бабенкова И.В., 261, 262
Бабурина Ю.Л., 167
Баврина А.П., 167
Бадекин М.Ю., 201
Бажина Е.В., 329
Байдер Л.М., 173
Байжуманов А.А., 174
Баймлер И.В., 22
Балабин Ф.А., 285
Балакин В.Е., 170, 272
Балалаева И.В., 81, 112, 127, 152
Балеев М.С., 204
Банникова С.В., 8, 56, 74
Баранова Л.А., 6
Баранова О.А., 38, 199
Барбин Н.М., 9
Баркин В.В., 9
Бармина Е.В., 22
Барцев С.И., 330
Барышев М.Г., 41
Басов А.А., 25
Бастраков А.И., 153
Башарина О.В., 166
Башмакова Т.Н., 165
Безверхний Н.О., 101
Белкин А.В., 168
Белкина Е.Г., 45
Белов С.В., 10
Белоусов В.В., 275
Бельх Д.В., 107
Бельтюков Я.М., 101
Белявская К.А., 175
Беляева Е.А., 169
Беляева И.А., 243
Беляева К.Л., 75
Беляева Н.Е., 95, 293, 347
Белякова Т.А., 170, 272
Бендиткис А.С., 107
Берг В.Ю., 219
Бережная Е.В., 143
Беспалова С.В., 49, 331, 332
Бигдай Е.В., 171
Бинги В.Н., 234
Бирин К.П., 139
Бирулина Ю.Г., 172
Бирюкова Е.А., 23
Бирюкова М.И., 238
Блохин И.С., 191, 344
Бобкова Н.В., 156
Бобров Н.В., 244
Богатина Н.И., 11, 12
Богатыренко В.Р., 173
Богатыренко Т.Н., 173
Богданенко Е.В., 298
Богданова Н.В., 175
Богодвид Т.Х., 162, 163
Богомолов А.В., 161
Бокарев А.Н., 236
Болдова А.Е., 286
Большаков М.А., 94, 96
Бондарь И.В., 210
Борзенко С.А., 280
Борзиков В.В., 58
Борисенко Г.Г., 36
Бородина И.В., 227
Ботин А.С., 287
Бочкова Ж.В., 174
Бояринов Г.А., 232
Брагин А.О., 224
Браже Н.А., 174
Бредов Д.В., 287
Бреус Т.К., 32
Бржевская О.Н., 12, 114
Брилкина А.А., 127
Брильков А.В., 289, 290
Брилькова Е.В., 289, 290
Брожик Д.С., 231
Брусков В.И., 271
Брянская А.В., 8
Бубнова И.В., 175
Буганов О.В., 149
Буглак А.А., 141
Будаговская О.Н., 97
Будаговский А.В., 97
Будаговский И.А., 97
Буланова К.Я., 175
Буланова Т.Е., 4
Бульчев А.А., 95
Бункин Н.Ф., 22
Буравков С.В., 104
Буравлев Е.А., 176
Буравлева Е.В., 291, 292
Буравцев В.Н., 287
Буракова Л.П., 99
Бутова К.А., 219
Буянов Л.С., 356
Быкадорова О.В., 196
Вазина А.А., 13, 325
Валиуллина Ю.А., 266
Ванин А.Ф., 279
Вардеванян П.О., 7, 78
Васильев А.Н., 34
Васильев В.Б., 186
Васильева А.А., 13
Васильева А.Р., 88
Васильева В.В., 103
Васильева Л.А., 210
Васильева Л.Г., 102, 134
Васильева Т.И., 243
Васин А.А., 14, 15

- Васин А.Л., 234
 Васютинский О.С., 101
 Вахрушева Т.В., 228
 Вдовина Н.В., 244
 Ведунова М.В., 81
 Везо О.С., 312
 Веремьева М.В., 177
 Верес Ю.К., 360
 Виткин А., 215
 Вихлянцев И.М., 16
 Владимиров Ю.А., 176, 225
 Власова И.И., 37
 Внуков В.В., 178
 Воденеев В.А., 140, 338, 339
 Воденеев В.С., 372
 Воейков В.Л., 291, 292
 Волков А.А., 14, 15
 Володин В.В., 43
 Володина С.О., 43
 Володькин А.А., 28
 Володяев И.В., 121, 287
 Волошин С.В., 240
 Волченко Н.Н., 17
 Вольперт В.А., 297
 Вольпина О.М., 156
 Воробьев Н.И., 18
 Воробьева Н.Н., 252
 Воронова Е.Н., 131, 333
 Воронцов Д.А., 183
 Восканян К.Ш., 98
 Вчерашняя А.В., 179
 Высоцкий Е.С., 99
 Гаврилов В.М., 333
 Гаврина А.И., 180
 Гагаринский Е.Л., 181
 Гаевский В.Н., 98
 Гаевский Н.А., 337
 Газатова Н.Д., 70
 Газиев А.И., 4, 6
 Гайнутдинов Х.Л., 162, 163
 Гайсин И.А., 88
 Гайсина А.И., 182
 Галиева Э.Р., 223
 Галль Л.Н., 46, 51
 Галль Н.Р., 46
 Гапеев А.Б., 100
 Гарифуллин А.Д., 240
 Гафар-заде М.Ф., 19
 Гвоздев Д.А., 106
 Геликонов Г.В., 183, 202, 203, 204, 215
 Генералов Е.А., 20
 Герасимова М.А., 94
 Гетте И.Ф., 219
 Гиматдинов Р.С., 182
 Гиричева Е.Е., 335
 Гладкова Н.Д., 183, 202, 204, 215, 237
 Глушечков В.А., 243
 Гоганов Д.А., 325
 Голубев А.В., 9
 Голубева Т.Б., 336
 Гольгина Е.С., 53, 54
 Гончаров Р.Г., 184
 Горбунов Н.П., 189
 Горбунова И.А., 101
 Горбунова Ю.Г., 139
 Гордеева А.Е., 185
 Горохова А.А., 127
 Горудко И.В., 186, 189, 228, 269
 Горячев Н.С., 21
 Горячев С.Н., 358
 Горячкова Т.Н., 56, 74, 127
 Гостев Ф.Е., 138
 Готин Б.А., 331, 332, 340
 Грачёв Д.И., 187, 188
 Григорьев П.Е., 83, 84
 Григорьев Ю.С., 337
 Григорьева Д.В., 186, 189, 228, 269
 Гринберг М.А., 338, 372
 Гриневич А.А., 190, 258, 264
 Грицына Ю.В., 16
 Громова Е.Н., 140, 338, 339
 Грошева Е.В., 97
 Груздева С.С., 191
 Грэйвс Л.М., 205
 Грязнов А.А., 102, 134
 Губарев А.А., 340
 Губарькова Е.В., 183, 237
 Губина Н.Е., 6
 Гудимчук Н.Б., 164
 Гудков С.В., 22, 73, 271, 338
 Гудцова Т.Н., 196
 Гулевич Е.П., 231
 Гулиева Р.Т., 341
 Гульнов Д.В., 124
 Гурия Г.Т., 198, 241, 250, 251, 265, 313
 Гурия К.Г., 198
 Гурова Н.Н., 342
 Гурфинкель Ю.И., 234
 Гурьева Т.С., 197
 Гусакова С.С., 253
 Гусарева М.А., 276
 Гусейнов Т.М., 341, 343
 Гусейнова И.М., 72
 Гусейнова С.Я., 341, 343
 Давлетшина Л.Н., 136
 Давыдов Е.В., 104
 Дадашева О.А., 197
 Дадашов М.З., 343, 357
 Данилейко Ю.К., 10
 Данилов Н.А., 351
 Данилов Н.Е., 116
 Данилова М.А., 48
 Дарнотук Е.С., 199
 Девяткова Н.С., 357
 Дегерменджи Н.Н., 330
 Дегтерева Н.С., 103, 131
 Дегтярев Е.Н., 12
 Деева А.А., 124
 Дейнека А., 211
 Демарева В.А., 293
 Демидов Е.А., 56
 Демидова Е.В., 56, 127
 Дёмин Д.Б., 364
 Демчук А.Е., 197
 Демьянова А.С., 238
 Денисов А.А., 162, 163
 Дерюгина А.В., 23, 232, 239
 Джагаров Б.М., 111, 126, 149
 Желдубаева Э.Р., 23, 24
 Джимаков С.С., 25
 Дзантиев Б.Б., 321
 Дигурова И.И., 342
 Добрецов Г.Е., 217
 Долгих Д.А., 138
 Донцов А.Е., 153, 281
 Дорохов В.Б., 191, 344
 Дорошук А.Д., 278
 Досина М.О., 162, 163
 Драган С.П., 161
 Дроздов А.В., 191, 345
 Дружкова И.Н., 212, 275
 Дубровский В.Н., 168
 Дуванский В.А., 104
 Дударь А.И., 232
 Дуденкова В.В., 180, 212
 Дудинова О.Н., 120, 235
 Дурнова Н.А., 236
 Дымолазова К.К., 160
 Дьяченко А.И., 177, 294
Дюкина А.Р., 26, 272
 Евдокимовский Э.В., 6
 Евстигнеев В.П., 103, 346
 Евстратова Я.В., 205, 265
 Егоров А.Б., 10
 Елизарова А.Ю., 189
 Елифанов А.В., 168
 Еремеева Е.В., 99
 Еркудов В.О., 193, 194
 Ермаков А.М., 200
 Ермаков Ю.А., 139
 Ермаченко П.А., 293, 347, 348
 Ермолаев Е.С., 294
 Ерофеев А.В., 195
 Ерохин В.Н., 28
 Есимбекова Е.Н., 27, 79, 105
 Ефимова С.С., 30
 Ефимова Ю.В., 81
 Ефремкина Е.П., 172
 Ефремова М., 211
 Жабрун И.В., 289
 Жармухамедов С.К., 72
 Жданова О.Л., 349, 350, 359
 Железная Л.А., 13
 Жемакин С.В., 18
 Жердев А.В., 321
 Жигалова К.С., 199
 Жигачева И.В., 28
 Жижайкина И.Е., 285
 Жукова Г.В., 196, 276
 Жукова Т.В., 360
 Журавлева З.А., 94, 96
 Журавская А.Н., 88
 Забелин А.В., 13
 Забродин М.А., 178
 Загайнов В.Е., 244
 Загайнова Е.В., 180, 183, 202, 212, 215, 244, 274, 275
Заичкина С.И., 26, 170, 272
 Зайцев В.Ю., 183, 215, 237
Зак П.П., 197, 216
 Замаро А.С., 162, 163
 Зарайский А.Г., 309
 Захаров Н.А., 29
 Захарова А.А., 30
 Захарова Н.М., 16
 Захарова О.А., 9
 Захарова Т.В., 29
 Захидов С.Т., 31
 Звягина А.И., 159
 Зеленова Е.Е., 180
 Зеленый Л.М., 370
 Земченкова О.В., 166
 Зенков Н.К., 179
 Зенченко Т.А., 32, 44, 344, 364
 Зиновкин Р.А., 156
 Злобина К.Е., 250, 265, 313
 Золотарев К.И., 325

- Зуев Ю.Ф., 266
 Ибрагимова Ж.М., 33
 Иванов А.В., 104
 Иванов Б.Н., 108
 Иванов М.П., 351
 Иванова А.А., 34
 Иванова И.В., 241
 Ивахнюк Г.К., 18
 Иващенко М.Н., 23
 Ивлев Д.А., 198
 Игнатова Н.В., 212
 Игнатова Н.И., 274
 Игнатьев П.С., 23
 Ильинская О.Е., 226
 Именес-Мунгуя И., 139
 Исаев Д.А., 121
 Искандарова Ф.А., 221
 Иудин Д.И., 295
 Июдин В.С., 162, 163
 Казаринов К.Д., 35, 36, 37, 38, 199
 Казачкина Н.И., 277
 Какорин П.А., 262
 Калаева Е.А., 165
 Калачева Н.В., 40, 137
 Каменских К.А., 200
 Канева В.Н., 297
 Капитонова М.А., 135
 Капланова Т.И., 229
 Капрельянц А.С., 277
 Капшуков Р.А., 201
 Карлин Д.Л., 231
 Карнауков А.В., 298
 Карнауков В.Н., 298
 Карнаухова Н.А., 298
 Касумов Х.М., 39
 Катаркевич В.М., 235
 Кашулин П.А., 40, 137
 Квасюк Е.И., 175
 Кертлинг Р.С., 345
 Киреев И.И., 123
 Кириллова М.А., 105
 Кирпичников М.П., 138
 Кирсанова П.О., 158
 Киселева Е.Б., 183, 202, 203, 204, 215
 Кистол Д.В., 322
 Кладько Д.В., 49
 Клапшина Л.Г., 112, 152
 Клементьев К.Е., 95, 106
 Кленина И.Б., 102, 134
 Климова К.В., 79
 Клочков Б.Н., 299
 Ключова Л.С., 205
 Кнюкшто В.Н., 129
 Кобякова М.И., 205, 265
 Кобякова С.Е., 251
 Ковалев И.И., 62
 Ковалев С.С., 223, 224
 Ковалева В.Д., 143
 Ковалева Л.К., 53
 Ковалева Т.Ф., 180
 Ковалевская Р., 360
 Коваленко И.Б., 144
 Коваленко Т.А., 300
 Коваль Е.М., 29
 Ковель Е.С., 41, 42
 Ковина М.В., 298
 Кодочигова А.И., 230
 Козин С.В., 41
 Козлов А.С., 107
 Козлов В.А., 22
 Козловский В.С., 128
 Козулева М.А., 108
 Колбина Е.А., 350
 Колесникова В.Г., 70, 211
 Колобов А.В., 301, 305
 Колосова Е.А., 76
 Колтаков И.А., 273
 Кольчугина И.Б., 138
 Комарова С.А., 206
 Комзин К.В., 230
 Компанец В.О., 128
 Компаниченко В.Н., 302
 Кондратьева Е.А., 161
 Коневцова О.В., 303, 314, 316
 Кононов А.И., 135, 141
 Константинова Е.А., 109
 Коныхов И.В., 103, 333, 352
 Копеина Г.С., 267
 Копылова Г.К., 219
 Корнеев В.Н., 325
 Корниенко В.О., 353
 Коробкина И.А., 166
 Коробко В.М., 75
 Короев Д.О., 156
 Корякин С.Н., 207
 Корякина Е.В., 207
 Космачевская О.В., 279
 Костанова Е.А., 238
 Костевич В.А., 189, 228
 Костоглодов Ю.К., 208
 Костюк А.Б., 127, 152
 Костоков А.А., 280
 Косякова Н.И., 264
 Котб О.М., 231
 Котляр-Шапиров А.Д., 161
 Котова Я.Н., 238
 Кохан А.Ю., 186
 Кочеткова О.Ю., 100
 Кошлань И.В., 69
 Кравец Л.Я., 202
 Кравцов А.А., 41
 Красильников П.М., 115
 Краснов К.С., 158, 159, 265
 Краснова С.Ю., 54
 Красновский А.А., 107
 Кратасюк В.А., 27, 79, 105, 124, 354
 Крашенинников М.Е., 298
 Креславский В.Д., 147
 Крестинин Р.Р., 167
 Крестинина О.В., 167
 Кривоногова Е.В., 364
 Кролевец И.В., 178
 Круглов А.Г., 167
 Крученюк Ю.В., 235
 Кручинин И.В., 304
 Ксанфомалити Л.В., 370
 Ксенофонов С.Ю., 215
 Кубасов В.А., 233
 Кубряк О.В., 23
 Кудряшева Н.С., 41, 42, 94
 Кудяшева А.Г., 43
 Кузнецов А.Г., 355
 Кузнецов М.Б., 301, 305
 Кузнецов С.С., 183, 237
 Кузнецова Д.С., 244
 Кузнецова Е.А., 44
 Кузьменко Н.В., 355
 Кузьмин А.Г., 191, 345
 Кузьмин В.А., 280
 Кузьмичев В.Е., 45
 Куимова М.К., 274
 Кулаков М.П., 367, 371
 Кулешов Д.О., 46
 Кулиева А.Т., 209
 Кулипанов Г.Н., 13, 325
 Кульчицкий В.А., 162, 163
 Кумахова Т.Х., 361
 Кумскова М.А., 238
 Куроптева З.В., 173
 Курочкин В.Е., 323
 Куцый М.П., 47
 Кушина Н.В., 293
 Кушунина М.А., 55
 Кытин В.Г., 109
 Лабынцева О.М., 9
 Лазукин А.А., 17
 Лакомкин В.Л., 188
 Ландер А.В., 114
 Ланкин А.В., 110
 Ларичев А.В., 216
 Латанов А.В., 210
 Лебедев В.М., 67
 Леберфарб Е.Ю., 224
 Левада Е.В., 70, 211
 Левашова Н.Т., 320
 Левин В.М., 197
 Легенький Ю.А., 49
 Легкодымов А.А., 13
 Лепешкевич С.А., 111, 126, 149
 Лермонтова С.А., 112, 152
 Летуга У.Г., 50
 Леусенко И.А., 119, 120, 129, 235
Лехтлаан Н.П., 51, 52
 Лильп И.Г., 69
 Линник А.С., 11, 12
 Лисица А.Е., 124
 Лисовская А.Г., 253
 Литвинов Н.В., 116
 Литвинова Л.С., 70
 Личман Д.В., 223
 Лобанов А.В., 10, 114
 Лобанок Л.М., 175
 Лобкаева Е.П., 356, 357
 Ловягина Е.Р., 113, 131
 Логинов Ю.Ю., 289, 290
 Лозинова Т.А., 114
 Ломовский А.И., 205
 Лоншакова-Мукина В.И., 27
 Лопаткина Н.В., 356, 357
 Лукашев Е.П., 115
 Лукина М.М., 212, 274, 275
 Лукьянов К.А., 180, 275
 Лунов О.Г., 211
 Лысенко Ю.А., 116, 213
 Люндуп А.В., 298
 Магеррамова С.М., 341, 357
 Маевский Е.И., 47
 Мажуга А.Г., 211
 Макарова И.В., 31
 Макеева И.Ю., 117
 Маклецова М.Г., 242
 Максимов В.Ю., 160
 Малащенко В.В., 70
 Маликова Н.П., 99
 Малинин В.С., 35
 Малиновская С.Л., 58, 167
 Малкин В.М., 117
 Малыгин А.Г., 214

- Мамаев А.В., 118
 Мансфельд А.Д., 195
 Марикуца А.В., 109
 Маркова С.В., 99
 Мартинович Г.Г., 179
 Мартинович И.В., 179
 Мартусевич А.А., 54
 Мартусевич А.К., 53, 54
 Масальцева А.А., 306
 Масимов Э.А., 306
 Маслакова К.Ю., 168
 Масленникова А.В., 215, 226, 252
 Маслова М.В., 97
 Матвеев А.И., 256
 Матвеев А.Л., 237
 Матвеев В.В., 29
 Матвеев Л.А., 183, 215, 237
 Матвеева Н.К., 217
 Матвеева Т.А., 234
 Маторин Д.Н., 358, 366
 Махнева З.К., 94, 96
 Мегалинский А.Д., 307
 Медведева С.Е., 131
 Медвинский А.Б., 360, 368
 Медяник И.А., 202
 Мейчик Н.Р., 55
 Мельникова М.И., 312
 Мельникова Н.Б., 75
 Меньщикова Е.Б., 179
 Мехдиев Т.Н., 45
 Мешков И.Н., 139
 Мещерякова И.А., 8, 56, 74
 Микаелян М.С., 7
 Микулич А.В., 119, 120, 129, 235
 Милютин Н.П., 178
 Минайчев В.В., 158
 Минкабиров Г.М., 5
 Миронова А.Г., 34
 Миронова А.П., 56
 Миславский О.В., 104
 Мисяков А.Н., 197, 216
 Михайлова Г.З., 16
 Михальчик Е.В., 37, 227
 Михеев И.В., 256
 Михеева Т.М., 360
 Мицын Г.В., 98
 Мищенко Д.В., 173
 Мищенко Т.А., 81
 Моисеев А.А., 183, 202, 204, 215
 Молви М.А., 203
 Монич В.А., 58
 Моренков О.С., 16
 Морозова Г.И., 217
 Москаленко А.А., 94, 96
 Мох В.П., 278, 279
 Муджири Н.М., 31
 Мукимов К.М., 221
 Мурина М.А., 218
 Муртазина Л.И., 46
 Мячина Т.А., 219
 Нагаева О.А., 256
 Нагорнова П.В., 168
 Надточенко В.А., 138
 Назимова С.В., 64, 90
 Наквасина М.А., 59
 Нарбут А.М., 191
 Нарциссов Я.Р., 308
 Наташин П.В., 99
Наумов А.А., 26
 Наумова А.Е., 121
 Наумова Е.В., 121
 Неверов К.В., 123
 Неверова Г.П., 350, 359, 371
 Невзорова Ю.А., 211
 Негинская М.А., 143
 Некрасова Е.И., 80
 Некрасова Л.П., 60
 Некрасова О.В., 138
 Немова Е.Ф., 61
 Немцева Е.В., 124
 Неруш В.Н., 339
 Нестеренко А.М., 309
 Нестеров Н.Д., 45
 Нечипоренко А.П., 312
 Нечипуренко Д.Ю., 297, 306, 307, 310
 Нешев Н.И., 320
 Нижник А.Н., 197
 Никельшпарт Э.И., 174
 Никитин А., 211
 Никитина Л.В., 360
 Никитушкин В.Д., 277
 Никитюк И.Е., 233
 Никифров-Никишин А.Л., 241
 Николаев Г.М., 69
 Николаева Ю.И., 55
 Новиков В.В., 61
 Новиков В.Э., 48, 62, 63
 Новиков К.Н., 292
 Новикова А.В., 62, 63, 222
 Новиченок Е.В., 365
 Новоселов В.И., 184, 185, 271
 Ноговицына Е.И., 42
 Нокс П.П., 115
 Носарев А.В., 172
 Нуриева Н.И., 360, 368
 Обернихин С.С., 64, 90
 Обридко В.Н., 367
 Обыденный С.И., 238
 Овсянников В.А., 220
 Овчаренко Е.Н., 10
 Оганесян А.А., 65, 78
 Огиенко Н.А., 69
 Огородникова Е.А., 194
 Оджагвердиева С.Я., 306
 Одиноква И.В., 167, 205
 Одинцова О.А., 159
 Оксенгендлер Б.Л., 221
 Олешкевич А.А., 48, 206, 222
 Ольчев А.В., 365
 Омелянчик А.С., 70
 Орлов Е.Е., 309
 Орлов М.А., 29
 Орлов Ю.Л., 223, 224
 Орлова А.Г., 226
 Орлова Н.Г., 224
 Осипов А.Н., 225
 Осипов Ю.А., 176
 Осипова Л.П., 223
 Островский М.А., 138, 153, 216, 280
Остроумова О.С., 30
 Ощепков Д.Ю., 74
 Павлов М.В., 226
 Павлова Г.В., 69
 Пак Г.Д., 360
 Пак С.Я., 311
 Пак Ф.А., 231
 Пан Т.В., 18
 Панасенко О.М., 186, 189, 227, 228
 Панкова С.М., 124
 Пантелеев М.А., 238, 285, 297, 300, 306, 307, 310
 Парин С.Б., 249
 Пармон В.Н., 370
 Пархоц М.В., 126
 Паршин К.С., 294
 Паршина Е.А., 309
 Паршина С.С., 229, 230, 251
 Пастон С.В., 231
 Пахарькова Н.В., 337
 Пашкевич С.Г., 162, 163
 Пашенко В.З., 95, 106
 Пашенко И.А., 285
 Пельтек С.Е., 8, 56, 74, 127
 Перебейнос В.В., 331, 332, 340
 Переваров В.В., 277
 Перепелкина О.В., 69
 Перетягин П.В., 232
 Першин С.М., 66
 Пескова Н.Н., 127
 Петраш В.В., 233
 Петрова А., 108
 Петрова В.Д., 229, 230
 Петрова П.Г., 230, 251
 Петровская Л.Е., 138
 Петронюк Ю.С., 197
 Пикуленко М.М., 361
 Пилецкая И.А., 191
 Пимонов В.В., 303
 Пиняскина Е.В., 362
 Пищальников Р.Ю., 128, 234
 Пищик В.Н., 18
 Плавская Л.Г., 119, 120, 129, 235
 Плавский В.Ю., 119, 120, 129, 235
 Пластун В.О., 236
 Пластун И.Л., 236
 Платова Н.Г., 67
 Плеханов А.А., 183, 237
 Плеханов В.И., 112, 152, 226
 Плеханова Е.С., 68
 Плисс М.Г., 355
 Плотников А.А., 178
 Плотникова Л.В., 240, 312
 Плюснина Т.Ю., 103, 130, 131, 146, 148
 Погодина Л.С., 197
 Погосян С.И., 333, 355
 Подоплелова Н.А., 238
 Полевая С.А., 249
 Полетаева И.И., 69
 Полников И.Г., 35, 36
 Полозова А.В., 212, 239, 275
 Полякова Е.П., 13
 Поляничко А.М., 141, 240
 Пономарев В.А., 259, 260
 Пономарев И.А., 265, 313
 Попик В.М., 8, 56, 74, 127
 Попов А.Л., 200
 Попов И.А., 276
 Попов М.С., 287
 Попова С.С., 16
 Портнова Г.В., 257
 Поскотинова Л.В., 364
 Посохина Е.Д., 131
 Потапова М.В., 229
 Потемкин Д.С., 276
 Потетня В.И., 207
 Потлов А.Ю., 132, 145
 Поцелуева М.М., 26

- Празян А.А., 45
 Придача В.Б., 365, 369
 Приходько И.В., 313
 Прокопьев В.Е., 133
 Проскурнина Е.В., 256, 257, 267
 Проскуряков И.И., 102, 134
 Протасова Е.А., 131
 Протасова Т.П., 196, 276
 Протопопов Ф.Ф., 366
 Прусов А.Н., 123
 Прядун В.В., 34
 Пугаченко И.С., 279
 Пуговкин А.П., 193, 194
 Пузина Т.И., 117
 Пузырь А.П., 131
 Пурцхванидзе В.А., 241
 Путинцева О.В., 165
 Пухальский Я.В., 18
 Пушкин Д.М., 241, 250
 Пшеничников С.Е., 70, 211
 Пылина Я.И., 107
 Раваева М.Ю., 71, 85
 Рагульская М.В., 367
 Радченко А.Ш., 280
 Радченко М.С., 59
 Радчикова Н.П., 360
 Разживин А.П., 128
 Раков И.И., 22
 Ранджан Р., 105
 Рапопорт В.Л., 117
 Раскоша О.В., 43
 Ратницына Д.А., 141
 Ревагук А.А., 141
 Ревагук З.В., 135, 141
 Ревущин А.В., 69
 Ревуцкая О.Л., 367, 371
 Реунов Д.Г., 244
 Рзянина А.В., 98
 Ризниченко Г.Ю., 95, 130, 144, 148
 Рихирева Г.Т., 242
 Роденко Н.А., 243
 Родимова С.А., 244
 Родионова В.В., 70, 211
 Родионова М.В., 72
 Родькин С.В., 143
 Рожко Т.В., 42
 Розанов А.С., 8, 56, 74
Розанова О.М., 26, 170, 272
 Розенкранц А.А., 245, 255
 Розенфельд М.А., 238
 Романовский Ю.М., 326, 327
 Романчук С.М., 331, 332
 Ромашов В.Н., 203
 Росторгуев Э.Е., 276
 Рохмистрова Е.Г., 9
 Рошаль Д.С., 314, 315, 316
 Рошаль С.Б., 303, 314, 315, 316
 Рощина В.В., 317
 Рошупкин Д.И., 218
 Рубин А.Б., 95, 106, 130, 136, 144, 148
 Руднева И.И., 87
 Рузиев Ш.С., 221
 Русаков А.В., 360, 368
 Русанова И.А., 246, 318
 Рууге Э.К., 187, 188, 278, 279
 Рыбалко С.Ю., 248
 Рыжкина И.С., 46
 Рябков М.Г., 204
 Рябцева А.А., 216
 Рябых А.А., 238
 Савицкий А.П., 277
 Савранский В.В., 10
 Савчук Л.В., 249
 Садикова Д.Г., 72
 Садыкова В.С., 281
 Сазонова Т.А., 365, 369
 Сакибаев Ф.А., 124
 Сакина Н.Л., 153
 Салихов Н.М., 360
 Салихова Т.Ю., 241, 250
 Салмов Н.Н., 16
 Сальников В.В., 88, 266
 Самков А.А., 17
 Самоделкин А.Г., 23
 Самойленко Т.В., 360
 Самойлов В.О., 171
 Самородов А.В., 243
 Самсонов С.Н., 230, 251
 Сапега Т.С., 251
 Сарангова А.Б., 330
 Саримов Р.М., 22, 73, 234
 Сасин М.Э., 101
 Сасонко М.Л., 234
 Сафонов Д.В., 226
 Сафронова В.Г., 264
 Сахаров Д.С., 191
 Сахонь Е.Г., 103
 Сачкова А.С., 41, 42
 Светлякова А.В., 172
 Свешникова А.Н., 269, 285, 286, 300
 Свиридова О.В., 18
 Седова Е.С., 215, 252
 Сейфуллина Н.Х., 115
 Селиверстова К.К., 249
 Семенова Г.Н., 253
 Семенов А.Ю., 108
 Семин Б.К., 113, 131, 136
 Семина А.Е., 320
 Сенотов А.С., 265
 Сергеев И.В., 194
 Сергиевич Л.А., 298
 Сердюков Д.С., 74
 Середин Д.С., 347
 Серикова И.М., 346
 Сидоров В.А., 10
 Сидорова А.Э., 320
 Сизов М.А., 204
 Симакин А.В., 22
 Симаков Ю.Г., 241
 Симоненко Е.Ю., 34
 Симонова М.А., 100
 Симонян Р.А., 156
 Синебрюхова А.М., 199
 Сирота Н.П., 44
 Сирота Т.В., 254
 Сироткина М.А., 183, 204, 215, 237
 Скринский А.Н., 325
 Сластникова Т.А., 245, 255
 Слепцов И.В., 88
 Слиман Я.А., 116
 Смаглий Л.В., 172
Смирнова Е.Н., 26, 170, 272
 Смирнова М.В., 137
 Смитиенко О.А., 138
 Снытников В.Н., 370
 Соболев А.С., 245, 255
 Собчук А.Н., 129
 Советский А.А., 237
 Созарукова М.М., 256, 257
 Соколов А.В., 186, 189, 227, 228, 238, 269
 Соколов В.С., 139
 Соколов Е.Л., 259, 260
 Соколов П.А., 351
 Соколова Е.М., 320
 Соколова К.А., 58
 Соколова К.В., 219
 Соколова С.В., 257
 Соловченко А.Е., 146, 150
 Соловьев А.Н., 207
 Соловьев И.Д., 277
 Соловьева А.Г., 53, 54, 75, 232
 Соловьева Э.Ю., 199
 Сорокина Г.А., 337
Сорокина С.С., 26, 170, 272
 Сороко С.С., 152
 Сорокоумова Г.М., 199
 Сотников Д.В., 321
 Сотникова Л.Д., 167
 Сочивко Д.Г., 323
 Спасский А.В., 67
 Спивак И.М., 351
 Сребнищкая Л.К., 325
 Старожилова К.В., 76
 Старостин К.В., 8
 Старцев А.С., 14, 15
 Стасов В.В., 276
 Степанов А.Е., 14, 15
 Степанов Г.О., 225
 Стефанов В.Е., 351
 Стрелаловская А.А., 230, 251
 Стрельникова Н.С., 170
 Стрельцова О.С., 203
 Субочев П.В., 226
 Суворов А.В., 294
 Суковатый Л.А., 124
 Султанов Г.Г., 77
 Сурхаев Р.С., 182
 Сухов В.С., 140, 141, 339, 372
 Сухова Е.М., 140, 141, 339, 372
 Сыч Т.С., 141
 Табиханова Л.Э., 223
 Таги-заде Т.П., 39
 Таисова А.С., 142
 Такальчик Ю.П., 162
 Такальчук Ю.П., 163
 Таламанова М.Н., 23
 Танканаг А.В., 190, 258
 Таранов А.О., 191
 Тарасова А.Ю., 69
 Татур Г.А., 119, 120
 Тельная Е.А., 240
 Терентюк А.Г., 259, 260
 Терехова И.В., 128
 Терещенко Л.В., 210
 Теселкин Ю.О., 261, 262
 Тимошин А.А., 188
 Тимошкина Н.Н., 276
 Тирацян С.Г., 78
 Титов В.Н., 187
 Титов Ю.А., 191, 345
 Тиунова Е.В., 191
 Тиунова Н.В., 58
 Тихова Г.П., 369
 Тихомиров С.А., 149
 Тихонов В., 333
 Тихонова И.В., 190, 258, 264
 Ткачев С.Ю., 196

- Ткаченко О.А., 191
Ткаченко О.Н., 344
Годоренко Д.А., 366
Токмакова Е.В., 59
Толмачев С.Ю., 18
Толмачев Ю.А., 351
Топунов А.Ф., 279
Торгашина И.Г., 79
Третьякова А.И., 119, 120, 129, 235
Триандафилиди Е.И., 196
Трибрат Н.С., 24
Тронов В.А., 80
Трофимова Л.К., 174
Трофимова Н.Н., 197
Трошина М.В., 207
Трусов Г.В., 109
Труханов К.А., 67
Тулеханов С.Т., 270
Тураева Н.Н., 221
Турубанова В.Д., 81
Удут В.В., 133
Узденский А.Б., 143
Узлова С.Г., 198, 265
Уласов А.В., 255
Устинин Д.М., 144
Утешев В.К., 181
Ушакова Н.А., 153, 281
Ушканов В.А., 259, 260
Фадеев Р.С., 205, 265
Фадеева И.С., 158, 159, 265
Файзуллин Д.А., 266
Фатеев Е.Б., 241
Фатеев М.М., 322
Федин А.И., 199
Федоров А., 139
Федоров А.А., 323
Федоров В.А., 144
Федорова М.В., 267
Федотова И.Б., 69
Федотчев А.И., 249
Фейзиев Я.М., 72
Фельдман Т.Б., 138, 153, 280
Фесенко Е.Е., 61
Фесенко Е.Е. (мл.), 181
Фетисова З.Г., 142
Филиппов А.В., 268
Фомина Е.С., 177
Фрисман Е.Я., 349, 359, 367, 371
Фролов С.В., 132, 145
Фролова Т.А., 132
Фурсова П.В., 146
Фуфина Т.Ю., 102, 134
Халиков А.И., 231
Халилова Л.Ф., 72
Халиуллина А.В., 182, 268
Халявкин А.В., 324
Хантемирова М.Р., 223
Хлопков А.Д., 339
Ходарович Ю.М., 298
Ходько А.Т., 82
Холмогоров В.Е., 51, 52
Холмухамедов Э.Л., 205
Холуйская С.Н., 12
Холявка М.Г., 124
Хорева М.В., 261
Хоробрых А.А., 153
Хорсева Н.И., 83, 84
Хохлова А.Д., 219
Храмов Р.Н., 100, 147
Храмова Е.Г., 367
Храмцов Ю.В., 255
Храмцова Е.А., 197
Хрущев С.С., 103, 130, 131, 144, 146, 148
Худокормов А.А., 17
Худяева И.С., 107
Цораяв Г.В., 106
Цыганков А.И., 51, 52
Цырлин В.А., 355
Чайковский А.Ф., 149
Чакраборти А., 360
Чекалин С.В., 128
Чеканов А.В., 38, 199
Чеканов К., 150
Чемерис Н.К., 190, 258
Черенкевич С.Н., 179, 186, 228, 269
Черепанов Д.А., 138
Черетаев И.В., 85
Черкасова О.П., 61, 74
Чернуха А.Е., 207
Чиркова В.Ю., 76
Чукова Ю.П., 151
Чуфицкий С.В., 331, 332, 340
Чуян Е.Н., 23, 24, 71, 85, 86
Шагинян М.А., 7
Шадыро О.И., 253
Шайда В.Г., 87
Шаймарданова Г.Ф., 88
Шайхуллина М.М., 268
Шалабодов А.Д., 168
Шамова Е.В., 186, 269
Шаповалов Ю.А., 270
Шаракшанэ А.А., 195
Шарапов М.Г., 184, 271
Шарлаева Е.А., 76
Шастина Н.С., 199
Шатерников А.Н., 345
Шафеев Г.А., 22
Шахвердиев Я.Х., 306
Шашкина Л.Ю., 196
Шашурин М.М., 88
Швецова Е.В., 270
Шейкина Н.В., 11, 12
Шелаев И.В., 138
Шелестов В.М., 325
Шелехов Е.В., 29
Шемяков А.Е., 170, 272
Шерудило Е.Г., 118
Шестакова Л.Н., 152
Шибаева Т.Г., 118
Шибек А.М., 307
Шилова Е.В., 273
Шилягин П.А., 202, 203
Шилягина Н.Ю., 127, 152
Шимолина Л.Е., 212, 274
Шипелова А.В., 199
Ширинли Ш.Н., 198
Ширинский В.П., 185
Ширманова М.В., 180, 212, 274, 275
Сихлярова А.И., 196, 276
Шишкина Л.Н., 43
Шкирин А.В., 22
Шлеева М.О., 277
Шлюфман К.В., 371
Шогенов Ю.Х., 326, 327
Шубенок Е.А., 175
Шубин В.В., 128
Шукюрова П.А., 89
Шулагин Ю.А., 294
Шульгин В.Ф., 85
Шумаев К.Б., 53, 187, 278, 279
Шумов Д.Е., 191
Шунькин Е.О., 70
Щеглов Г.А., 40
Щеголев Б.Ф., 355
Щелконогов В.А., 38, 199
Щепкин Д.В., 219
Щербаков Д.Н., 76
Щербаков М.И., 195
Щербатюк Т.Г., 68
Щеславский В.И., 212
Эстевез О., 211
Юдина Л.М., 140, 339, 372
Южакова Д.В., 275
Юльметов А.Р., 182
Юнусова К.Э., 203
Юршенас Д.А., 16
Юсупов В.И., 26, 252
Яблокова Е.В., 61
Яглов В.В., 64, 90
Яглова Н.В., 64, 90
Якоби И., 108
Яковенко С.А., 34
Яковлев А.Г., 142
Яковлева М.А., 138, 153, 280
Яковлева О.В., 358
Яныкин Д.В., 153
Ярошевич И.А., 154
Яфарова Г.Г., 162, 163
Яхно В.Г., 91
Яхно Т.А., 91
Яхъяева Ф.Р., 341, 343
Яшин К.С., 183, 202
Ященко С.Г., 248



Первый в мире умный браслет, определяющий **приход калорий, водный баланс, стресс** и другие показатели организма 100% **автоматически***

* Не требует ручного ввода данных!



ИЗМЕРЯЕТ:



Потребление калорий



Водный баланс



Уровень стресса



Энергетический баланс



Расход калорий



Пuls



Сон



Эмоциональное состояние



Изменение веса



КАК ИЗМЕРЯЕТ:



Пьезодатчик



Биоимпеданс сенсор



Гальванический датчик



9-осевой акселерометр



Гироскоп и магнитометр



Компания-производитель HEALBE имеет более **60** международных патентов и подтверждение **90%** точности измерений двумя независимыми исследованиями



ПОБЕДИТЕЛЬ В НОМИНАЦИИ
"INNOVATION AWARDS"
CES 2019 (ЛАС-ВЕГАС, США)

Конфокальный микроскоп Nikon A1R HD25

В биомедицинских исследованиях наблюдается рост спроса на изучение крупных образцов, таких как ткани и даже целые организмы, и динамических событий, происходящих внутри них.

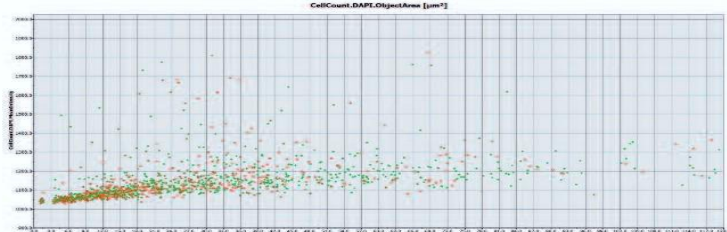
В ответ на этот запрос компания Nikon разработала конфокальный микроскоп A1 HD 25/ A1R HD 25 с самым большим полем зрения на рынке лазерных сканирующих конфокальных систем. Представляя больше данных в одном кадре, новая конфокальная система Nikon позволяет увеличить поле зрения, не принося в жертву разрешение или увеличение. В сочетании с новой моделью высокоскоростного резонансного сканера, новая конфокальная система позволяет с высокой скоростью и производительностью получать изображения цельных живых организмов, таких как дрозофила или данио.



| | | A1 HD25 | A1R HD25 |
|---|---------------------------------|--|--|
| Размер изображения | | 25 мм (квадрат, вписанный в круг диаметром 25мм) | |
| Размер изображения в пикселях | Сканер на основе гальванозеркал | Мах. 4096 x 4096 пикселей | |
| | Резонансный сканер | - | Мах. 1024 x 1024 пикселей |
| Скорость сканирования, кадров в секунду (fps) | Сканер на основе гальванозеркал | 10 fps (512 x 512 пикселей, bi-directional) 200 fps (512 x 16 пикселей, bi-directional) | |
| | Резонансный сканер | - | 30 fps (512 x 512 пикселей) 720 fps (512 x 16 пикселей) |

Удвоенная производительность

С удвоенной площадью одного сканированного изображения, A1 HD 25/ A1R HD 25 значительно снижает время на захват для высокопроизводительного скрининга и экономит на сшивке, не принося в жертву разрешение или увеличение. Более того, новый точный резонансный сканер (1К, 1024x1024 пикселей) дает возможность высококачественной съемки в большом разрешении даже на малых увеличениях, позволяя наблюдать тонкие структуры в образце.



Тепловая карта подсчёта клеток (справа) и график анализа клеточных ядер, показывающий зависимость средней интенсивности окраски от размера (слева)

Nikon Instruments – мировой лидер в разработке и производстве оптических и цифровых технологий для биомедицинских приложений. Мы поставляем оптические системы «под ключ» - отточенные до мелочей, мощные и производительные. Наши главные продукты – микроскопы и стереомикроскопы, цифровые камеры и программное обеспечение. Nikon предлагает линейку решений для конфокальной микроскопии и системы сверхвысокого разрешения, комплексные мультифотонные системы.

Сервис и поддержка от производителя на территории России

Роботизированная система LIPSI для скрининговых исследований живых клеток

Совместима с различными методами микроскопии (конфокальная, FRAP, две камеры) – сразу при установке или после апгрейда

Простая в применении

До 20 планшетов

Полная инкубация, в том числе во время съёмки

Нет стресса из-за переноса, так как транспортировка в контролируемых температурных условиях

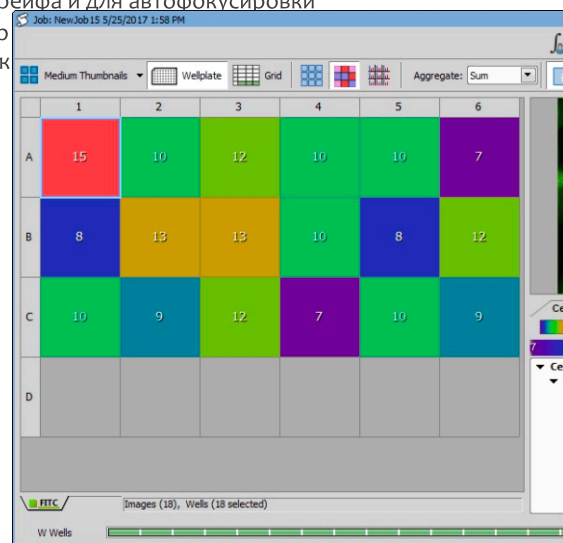
Совместима с планшетами со стеклянным или пластиковым дном, предметными стёклами и чашками Петри

Непрозрачный корпус позволяет размещать систему LIPSI в помещении с внешним освещением

Компактный дизайн (1200 x 710 x 730 мм)

Система удержания фокуса Nikon Perfect Focus System для компенсации дрейфа и для автофокусировки

Широкий выбор стеклянным, так



Система LIPSI разработана совместно с Prior Scientific и Life Imaging Services

Компания «Техноинфо» предлагает широкий спектр уникального оборудования для решения задач во многих областях науки. Будучи официальным представителем ведущих мировых производителей, «Техноинфо» также обеспечивает гарантийное и постгарантийное обслуживание установленных систем, обучение персонала и методическую поддержку пользователей.

Все сотрудники компании имеют профильное образование в своей области, поэтому мы подбираем наиболее подходящее решение в зависимости от потребностей пользователя. Большинство систем производится по индивидуальному заказу с учётом пожеланий клиента.

К нашим ключевым партнёрам относятся компании: Thermo Fisher, Rigaku Oxford Diffraction, PicoQuant, Applied Photophysics, Molecular Devices, IonTOF, Kratos, Xenocs, и другие.



AppliedPhotophysics

MOTEMPER

ThermoFisher
SCIENTIFIC

Xenocs
CRYSTAL SOLUTIONS

Rigaku
oxford diffraction

PICOQUANT

Контакты:

sales@technoinfo.ru

www.technoinfo.ru

+7 (499) 243 66 26



ОРТИКА®
I T A L Y

УНИВЕРСАЛЬНОСТЬ • КАЧЕСТВО • ЦЕНА

Итальянская компания ОРТИКА – одна из ведущих компаний по производству учебного и лабораторного оборудования с 45-летним опытом НИОКР. Пользователи всего мира полагаются на продукты и решения ОРТИКА для повседневной работы в школе, университете и ЛПУ, а так же для проведения разнообразных научно-исследовательских экспериментов.



Stormoff®

Компания Stormoff является официальным дистрибьютором компании Optika в России. Департамент Лабораторного оборудования.

143401, Московская область, г. Красногорск, б-р Строителей, д. 4, к. 1.

+7 (495) 780-07-95 • lab@stormoff.com • www.stormoff.ru

Аппараты ТРАНСАИР

Идеально подходят для применения в больницах, санаториях, нарко-диспансерах и других ЛПУ.

Доказанная эффективность при различных патологиях:

- купирование болевых симптомов
- нормализация женского здоровья
- лечение гипертонии и гипотонии
- гастроэнтерологические проблемы
- неврологические заболевания, а также депрессии и стрессы
- существенное сокращение сроков реабилитации, после травм и других серьезных нарушений



Трансаир - 03

Двухпрограммный портативный аппарат с сетевым питанием.

Свободно помещается в портфеле, сумке и легко переносится к пациенту на дом.

Габариты: 200x110x65 мм
Масса: 0,5 кг

Трансаир - 04

Трехпрограммный стационарный аппарат.

Основной для работы в больницах, поликлиниках, санаториях.

Габариты: 290x200x120 мм
Масса: 1,5 кг

Трансаир - 05

Полипрограммный аппарат, обладающий широкими клиническими и сервисными возможностями.

Габариты: 290x200x155 мм
Масса: 2 кг

Трансаир - 07

Специализированный сурдологический аппарат. Предназначен прежде всего для лечения нейросенсорной тугоухости и субъективного ушного шума методом ТЭС в сочетании с акустической нагрузкой, определяемой на этом же аппарате.

Габариты: 290x200x155 мм
Масса: 3 кг

За разработку метода ТЭС-терапии группа ученых во главе с д.м.н., проф. В.П. Лебедевым удостоена премии Правительства РФ в области науки и техники (2004 г.).



Т
Э
С

ООО «ЦЕНТР ТЭС»
Россия, 191186, Санкт-Петербург,
Невский пр., д. 30, офис 6.8
тел.: 8-800-333-30-35
+7 (812) 402-42-04
www.tes.spb.ru