

Материалы XIX международной
научной конференции

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ И ХИМИИ



БФФХ - 2024



СЕВАСТОПОЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ



СЕВАСТОПОЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СЕВАСТОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ И ХИМИИ**

БФФХ – 2024

*Материалы XIX международной научной конференции
г. Севастополь, 16-20 сентября 2024 г.*

**MODERN TRENDS IN BIOLOGICAL PHYSICS AND CHEMISTRY
BPPC – 2024**

*Proceedings of XIX International Scientific Conference
Sevastopol, 16-20 of September, 2024*

Севастополь 2024

УДК 577.113:541.49

ББК

28.07

28.07 Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2024: материалы XIX международной научной конференции, г. Севастополь, 16-20 сентября 2024 г. – Севастополь, 2024. – 108 с.

Сборник материалов составлен по итогам XIX международной научной конференции «Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2024», организованной совместно Севастопольским государственным университетом и Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова с 16 по 20 сентября 2024 г. в Севастополе.

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

Издание рассчитано на научных работников, аспирантов, студентов.

Modern Trends in Biological Physics and Chemistry. BPPC-2024: proceedings of XIX International Scientific Conference, Sevastopol, 16-20 of September, 2024. – Sevastopol, 2024. – 108 p.

The proceedings is a compilation of the reports of XIX International scientific conference "Modern Trends in Biological Physics and Chemistry. BPPC-2024", organized by Sevastopol State University and Lomonosov Moscow State University 16-20 of September, 2024 in Sevastopol.

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

The publication is intended for scientists, postgraduate, students.

ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

PROGRAM COMMITTEE:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

СОДЕРЖАНИЕ

СЕКЦИЯ 1. ОБЩАЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОФИЗИКА

С.С. Антипов, Е.В. Преображенская, И.Л. Черниговский, О.Н. Озолин Оценка сродства белка Dps к участкам ДНК различной морфологии: структурно-функциональные и термодинамические особенности.....	11
Е.А. Гребнева Механизм образования редких таутомерных форм цитозина и гуанина при облучении одноцепочечной РНК ультрафиолетовым светом.....	12
С.В. Григорян, М.А. Шагинян, М.С. Микаелян, М.А. Парсаданян, П.О. Вардеванян Исследование спектральных характеристик бычьего сывороточного альбумина под влиянием электромагнитных волн миллиметрового диапазона.....	13
В.С. Ключкова, А.С. Лелеков Кинетические параметры линейного роста накопительной культуры <i>Arthrospira platensis</i>	14
Н.К. Кочарли, С.Т. Гумматова Антиоксидантные свойства аминокислот и роль долгоживущих радикалов в составе белков при действии ультрафиолетового-В излучения.....	15
О.В. Крестинина, А.И. Ломовский, Ю.Л. Бабурина, Р.Р. Крестинин, Л.Д. Сотникова Астаксантин ослабляет цитотоксичность, вызванную H ₂ O ₂ или доксорубицином, ингибируя митохондриальную дисфункцию в клетках кардиомиоцитов человека АС16.....	16
Л.С. Миленина, З.И. Крутецкая, В.Г. Антонов, Н.И. Крутецкая, В.И. Бадюлина Комплекс AlF ₄ подавляет Ca ²⁺ -ответы в макрофагах	17
О.Ю. Орлов, С.А. Голышев Липидные капли пигментного эпителия млекопитающих.....	18
О.Ю. Орлов, С.А. Голышев Уникальное сочетание сетчатки и пигментного эпителия змеи	18
А.Г. Погорелов, Л.Г. Ипатова, А.И. Панаит, А.А. Станкевич, А.Я. Юнусова, В.Н. Погорелова Экстракции кверцетина в метастабильный водный раствор АС16.....	19
А.Д. Подгурская, В.А. Цвеляя, М.М. Слотвицкий, К.И. Агладзе Распространение волн возбуждения в монослое кардиомиоцитов крыс при влиянии различных доз ацетальдегида	19
И.И. Ращенкова, А.В. Степанов, А.О. Лантушенко Анализ цитотоксического действия комбинации противоопухолевого антибиотика митоксантрона и фуллерена C ₆₀ на клеточную линию HeLa.....	20
А.А. Солдатов, Н.Е. Шалагина, В.Н. Рычкова, Т.А. Кухарева Мембраносвязанная ферриформа гемоглобина и метгемоглобинредуктазная активность ядерных эритроцитов морского ерша (<i>Scorpaena porcus</i> , Linnaeus 1758) в норме и условиях окислительных нагрузок (эксперименты <i>in vitro</i>).....	21
Н.Н. Тимченко, Е.В. Шупова Влияние замораживания-оттаивания на взаимодействие гемоглобина с липосомами и растворов соли и сроков хранения на структуру гемоглобина.....	22
М.Г. Холявка, С.С. Гончарова, Ю.А. Редько, М.С. Лавлинская, А.В. Сорокин, М.С. Кондратьев, В.Г. Аргюхов Гибридные биокатализаторы на основе ферментов в комплексах с нано- и микроматериалами.....	23

Д.Н. Чернышев, В.С. Ключкова Разделение спектра поглощения водного экстракта микроводоросли <i>Arthrospira (Spirulina) Platensis north. geitl.</i>	24
Д.Н. Чернышев, В.С. Ключкова Декомпозиция спектра поглощения ацетонового экстракта микроводоросли <i>Phaeodactylum tricomutum</i>	25
Е.В. Шупова Изменение проводимости водных двухкомпонентных растворов в зависимости от зарядов лигандов.....	26

СЕКЦИЯ 2. МОДЕЛИРОВАНИЕ В БИОФИЗИКЕ И БИОИНФОРМАТИКА

С.В. Аксенова, А.С. Батова, А.Н. Бугай, Э.Б. Душанов Моделирование сетевой активности нейронов при изменении структуры глутаматных рецепторов	27
J.A. Arzola Flores, G.A. Gallardo, M.A. Garcia Castro, M.F. Savinon Flores, A.A. Hernandez Santiago Tuning a PID Controller in a CSTR Using Deep Neural Networks	28
А.В. Брильков, А.Г. Дегерменджи, Е.В. Брилькова Плазмидный парадокс: оценка популяционной «стоимости приспособленности» трансгенных штаммов микроорганизмов.....	28
М.А. Вологжин, Л.А. Краснобаева, А.В. Шаповалов Исследование динамики молекулы ДНК модели Тода-Леннарда-Джонса	29
Е.Л. Гордеева, С.А. Изотова Применение вейвлет-анализа для исследования распределения гидролитических ферментативных активностей в осадках.....	30
А.А. Губарев, В.Н. Павлов, Ю.А. Легенький, С.В. Беспалова Экспериментальная проверка модели перемещения магнитомаркированных клеток над поверхностью плёнки с полосовой доменной структурой	31
V. Dominguez, A. Deriabina, E. Gonzalez, V.I. Poltev Unveiling DNA 3D Structure Formation via Quantum Mechanical Methods.....	32
А.С. Ивановский, В.И. Тимофеев, М.А. Марченкова, Ю.В. Писаревский Применение методов иммуноинформатики для разработки субъединичной вакцины-кандидата против вируса африканской чумы свиней.....	32
И.В. Ивлиева (Перетокина), А.А. Мещерякова, Л.М. Бабков, В.В. Сорокин Структурно-динамические модели и Ик спектры метилзамещенных пиридо[1,2-а]пиримидиновых систем	33
Ю.Е. Ким, В.Г. Артюхов, П.О. Невзорова, И.А. Колтаков Исследование роли пространственной организации и локального микроокружения на формирование полос электронного спектра поглощения трипептида лейцин-тирозин-глутаминовая кислота	35
И.Н. Левченко, В.С. Панкратов, Г.К. Владимиров, А.А. Левченко, И.В. Володяев Изучение структуры порфиринового кольца в составе гетерогенного катализатора. хемилюминесценция, активируемая кумаринами C ₅₂₅ и C ₃₁₄ под действием цитохрома С с кардиолипином	36
Я.В. Мегер, Е.А. Пацановская, А.О. Лантушенко Генотипирование паразитического клеща, поражающего медоносных пчел рода <i>Apis</i> на крымских пасаках	36
М.В. Фадеева, М.И. Силаков, М. Шейнман, Л.Е. Карташов, А.В. Кузнецов Биолюминесценция гребневиков <i>Mnemiopsis leidyi</i> и <i>Beroe ovata</i> под действием ударных волн: эксперименты и моделирование	37

С.В. Филиппов Визуально-дифференциальный анализ (био-)макромолекул: методы исследования молекулярных структур с высокой степенью гомологии	39
Г.А. Шабанов, А.А. Рыбченко, Е.А. Луговая Модель когерентной клеточной группы.....	40
Т. Ян, Ф.С. Орехов Сравнительный анализ крупнозернистого и полноатомного моделирования для оценки транспортных свойств малых молекул и растворителей.....	41
А. Янг, М.Е. Боздаганиян Исследование проницаемости мембраны кожи методами крупнозернистой молекулярной динамики.....	42
I.V. Kruchinin, L.V. Yakovenko Influence of intracellular calcium on chemotaxis and regulation of aggregate sizes in a discrete model of <i>Dyctiostelium discoideum</i> aggregation	42
М. Шейнман Горизонтальный перенос генов – преимущественно прямой или опосредованный процесс?.....	42

СЕКЦИЯ 3. МЕДИЦИНСКАЯ БИОФИЗИКА И БИОФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

А.П. Антонян, А.Г. Карапетян, А.А. Папоян, М.А. Парсаданиян, П.О. Вардеваниян Исследование сродства некоторых лигандов к оц- poly(rA) И оц- poly(rU).....	44
Н.Е. Беликов, А.Я. Сафинова, А.Ю. Лукин, Л.Е. Петровская, О.В. Демина, А.А. Ходонов Исследование особенностей селективности взаимодействия аналогов ретиноидов с различными микробными родосинами.....	45
А.С. Ботин, М.Г.Х. Ризк, И.С. Логвиненко Ускоренное заживление ран с применением графенсодержащих перевязочных материалов.....	46
А.М. Булгакова, Д.Л. Мельникова, И.В. Ковязина, Р.С. Гиматдинов Динамика биологической деструкции тканей по данным ЯМР-диффузометрии.....	47
Е.В. Бутенко, Е.М. Бакурова Особенности метаболизма эритроцитов при развитии анемического синдрома при раке молочной железы	48
Б.Б. Гагулаева Изменения пролиферативных процессов в селезенке крыс, развивавшихся при низкодозовом воздействии ДДТ, с наступлением полового созревания	49
А.В. Гаджи, Р.А. Меджитов, А.О. Лантушенко Исследования фотосенсибилизирующих свойств водных растворов фуллеренов C ₆₀	50
Е.А. Генералов, Е.С. Ланкин, Р.Н. Овчинников, О.А. Бургасова, С.В. Долинный, Е.Ю. Симоненко, Л.В. Генералова, К.А. Крицкая, Д.П. Ларюшкин Биофизические основы и результаты применения полисахаридов при SARS-CoV-2 инфекции	51
Н.В. Грановский, А.А. Аносов, А.В. Ерофеев, А.Д. Мансфельд, Р.В. Беляев, А.С. Казанский Основные зависимости при корреляционном измерении теплового акустического излучения	52
О.К. Давыдова, А.Т. Ишемгулов, М.Е. Григорьев, С.Н. Летута Влияние ударных волн на чувствительность бактериальных биопленок <i>Pseudomonas aeruginosa</i> к антибиотикам.....	53
А.В. Ерофеев, О.В. Острейко, А.С. Шаракшанэ, Н.В. Грановский, Д.В. Спирин, А.Д. Мансфельд, А.А. Аносов Совместное применение методов пассивной акустической	

термометрии и инфракрасной термографии при моделировании локальной гипертермии головного мозга человека.....	54
Г.В. Жукова, В.А. Кратасюк, Н.В. Мазняк Способ неинвазивной диагностики и контроля физической нагрузки спортсменов.....	54
Л.А. Каминская, А.С. Ботин Бактериофаги в лечении и профилактике заболеваний туберкулезом – возможности применения.....	55
Л.Н. Катюхин, М.А. Чеботарева, Е.П. Шуколюкова, Ю.А. Полина, Е.Р. Никитина Осмотическая градиентная эктацитометрия в диагностике различных заболеваний.....	56
Н.М. Каштанова, Е.Н. Животова, А.Р. Шайхутдинова, Г.Г. Сучкова, Г.А. Дружинин, Т.И. Оранская, А.Е. Хайруллин Изменения дыхательных объемов и величины сатурации у переболевших гриппом типа А (H1N1).....	57
В.А. Коломбет, В.Н. Лесных, А.В. Елистратов «Навязанное мышление» как работа полурукотворного мозгового мультивибратора.....	58
А.Р. Куулар Мангалтепе, А.С. Ботин Применение и модернизация биофизического метода микрополяризации в комплексной реабилитации неврологических заболеваний.....	59
С.Б. Ланда, Н.А. Верлов, В.Л. Эмануэль Экстраклеточные частицы (EPs). Классификация, свойства, биогенез.....	60
Е.М. Малиновская, Е.А. Савинова, Е.С. Ершова, В.А. Сергеева, Л.В. Каменева, О.А. Краевая, П.А. Трошин, Н.Н. Вейко Влияние водорастворимых производных фуллерена C ₆₀ на антиоксидантную активность клеток эмбриональных фибробластов легких человека (ФЛЭЧ).....	60
А.В. Мельницкая, З.И. Крутецкая, В.Г. Антонов, Н.И. Крутецкая, В.И. Бадюлина Соединение SKF-10047 подавляет эффект глутоксима на транспорт Na ⁺ в эпителии кожи лягушки.....	61
О.В. Мишукова, П.В. Крикунова, Т.Н. Паллаева, М.А. Марченкова Взаимодействие кристаллов 4-метилумбеллиферона с моделью биологической мембраны – ленгмюровским монослоем.....	62
Г.Б. Мурзина Ингибирование протеинфосфатазы 2A – один из механизмов воздействия нопепта на нервную клетку.....	64
П.А. Мутовкин, А.А. Мосунов, М.В. Фадеева Исследование аллотропных форм углерода в качестве потенциальной системы адресной доставки лекарственных препаратов.....	65
Г.А. Набережных, С.И. Бахолдина, В.Н. Давыдова Хитозаны и их ацилированные производные в липосомальной форме как потенциальные терапевтические препараты при эндотоксемии.....	66
П.О. Невзорова, В.Г. Артюхов, А.А. Остроухова, И.А. Колтаков Исследование влияния наноструктурированного магнетита на структурно-функциональное состояние молекул сывороточного альбумина быка в условиях воздействия квазимонохроматического УФ-излучения в области 254 нм.....	67
Э.С. Нерсесян, И.В. Клименко, А.В. Лобанов Фотохимические свойства супрамолекулярных систем на основе β-циклодекстрина и тетрафенилпорфирина.....	68
А.А. Осипов, В.К. Крохалева, А.М. Ромшин, И.В. Глытов, И.Ю. Попова Динамика температуры в сомато-сенсорной коре и скорости локального кровотока в мозге наркотизирован-	

ных мышей различаются в условиях модуляции активности нейронов коры и активации системного кровотока	69
Н.Д. Преображенский, М.М. Фатеев, В.В. Порсева Изменение показателей спектрального анализа вариабельности сердечного ритма при норадреналиновом отеке легких у крыс	70
А.А. Прокопов ИК-спектроскопия в ранней диагностике эрозии зубов	71
Е.В. Проскурнина, М.М. Созарукова, Е.С. Ершова, Е.А. Савинова, Л.В. Каменова, Н.Н. Вейко, В.К. Иванов, С.В. Костюк Цитотоксичность и генотоксичность стабилизированного кардиолипидом наноразмерного диоксида церия.....	72
И.Ф. Русина, О.Т. Касаикина, Ю.Н. Егорова, И.В. Жигачева, Т.Л. Вепринцев Производные 3-гидроксипиридина как адаптогены окислительного стресса	73
К.Н. Семёнов, О.Н. Кукалия, В.В. Шаройко Создание материалов биомедицинского назначения на основе углеродных наноструктур: трудности и перспективы.....	74
П.В. Скворцова, А.В. Пергат, Б.И. Хайрутдинов Влияние противоионов на разделение фаз жидкость-жидкость в системе олигонуклеотид-пиллар[5]арен	75
О.В. Слатинская, Н.А. Браже, Г.В. Максимов Перераспределение гемоглобина в цитоплазме эритроцита при изменении объема клетки	76
L.I. Solano Gonzalez, A. Morales Marco, R. Agustin Serrano, B. Zenteno Mateo, A.M. Cervantes Tavera, A.A. Hernandez Santiago Study of electronic properties by DFT of Se6 and 5-fluorouracil drug delivery system	77
Л.В. Степанова, О.А. Коленчукова, А.М. Вышедко, В.А. Кратасюк Адаптация к физическим нагрузкам у студентов с разными уровнями физической активности	77
М.А. Тарасова, О.С. Завьялова, А.В. Кузнецов Поиск ортологов прионных белков человека	78
Ю.О. Теселкин, И.В. Бабенкова, С.Ю. Лебедева, Ю.В. Выхристюк, Р.И. Шалина, А.Н. Осипов Состояние оксидативного стресса при нормальной беременности и преэклампсии	80
Е.П. Тимохина, Н.В. Яглова, С.С. Обернихин, В.В. Яглов, С.В. Назимова Изменение активности тимопоэза при кратковременном и длительном снижении концентрации дейтерия в организме	81
А.С. Титов, И.Г. Полников, С.В. Титов, К.Д. Казаринов Физическая модель биологического действия микроволнового излучения КВЧ диапазона на клеточном уровне организации биообъекта.....	82
О.П. Чжу, И.И. Маринич, Д.Э. Аравиашвили Физико-химические методы определения показателей оксидативного стресса при возникновении и развитии патологического процесса на модели лабораторных приматов	83
В.Е. Шаповалова, А.Н. Дубовицкая, Ю.А. Редько, А.О. Лантушенко, М.Г. Холявка Подбор методики экстракции ферментов из водоросли рода <i>Dunaliella</i>	84
М.Н. Шипко, А.Л. Сибирев, О.М. Масленникова, М.А. Степович О возможности использования метода газоразрядной визуализации для оценки структурной организации водных растворов лекарственных средств	86

Л.Н. Шишкина, П.Д. Белецкая, А.В. Машукова, А.А. Фенин Формирование последствий воздействия рентгеновского излучения на липосомы в зависимости от физико-химических свойств и состава липидов лецитина.....86

Н.В. Яглова, С.С. Обернихин, Е.П. Тимохина, С.В. Назимова, В.В. Яглов Влияние содержания дейтерия в организме на формирование ионообменных каналов, транспортирующих йодиды.....87

СЕКЦИЯ 4. БИОФИЗИЧЕСКАЯ ЭКОЛОГИЯ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ

Е.В. Ануфриева, М.Е. Гохер, М.Н. Григорьев, Н.В. Шадрин Изменение абиотических показателей в экосистемах искусственных озер пустынной депрессии Вади-эль-Райан (Египет) в период с 1984 по 2022 г.89

К.И. Бер, А.С. Бородин, Д.А. Тужилкин Воздействие факторов внешней среды на эктопическую активность сердца человека.....89

М.И. Будник, Л.М. Апашева, Е.К. Барнашова, В.В. Ведутенко, Е.А. Вертикова, А.В. Грудзинский, О.Т. Касаикина, Д.А. Круговов, Е.Н. Овчаренко, Н.В. Пролетова, Р.А. Ростовцев, В.В. Савранский, А. Симагин, Л.А. Смурова, К.А. Тараскин, И.В. Ущановский Инновационные методы переработки отечественного льна в целлюлозу и биотехнологические приемы его предпосевной стимулирующей обработки.....91

Н.В. Бурдиян Влияние атмосферных осадков, волнового перемешивания, окислительно-восстановительных условий на численность анаэробных бактерий в прибрежных наносах акватории Севастополя (Чёрное море).....92

М.А. Гладыш, В.М. Курченко, Ю.К. Подкидышева, А.В. Кузнецов Комплексное исследование Гераклеийского полуострова: от метеорологических данных до влияния катастроф93

О.А. Гузеев, Е.А. Понамарева Биотический пирито-топливный котел самонагревающегося углепородного отвала Донбасса.....94

И.В. Дегтяр, М.В. Дегтярёв, В.П. Евстигнеев, П.Н. Кузнецов Способ определения количества сцинтиллонов у черноморской динофлагелляты *Noctiluca scintillans*95

И.В. Дегтяр, А.О. Лантушенко, В.Е. Шаповалова, А.Б. Боровков Биосинтез β-каротина у *Dunaliella salina* при различных стрессовых условиях.....96

М.В. Дегтярёв, И.В. Дегтяр, В.П. Евстигнеев, П.Н. Кузнецов Алгоритмизация и прототипирование устройства для регистрации биолюминесценции микропланктона на примере *Noctiluca scintillans*97

Ю.В. Дорошенко Роль микроорганизмов в процессе самоочищения от нефтяных углеводородов (на примере кутовой части Стрелецкой бухты, Севастополь, Чёрное море).....98

С.Ю. Иванова, В.В. Макарова, А.Д. Онникова, В.В. Губанов, Б.Е. Аннинский, А.В. Кузнецов Взаимодействие медуз *Aurelia aurita* с измельченными полимерами: пилотные опыты и симуляция.....99

А.А. Куликова, В.А. Габрин, Е.А. Саратовских, Е.В. Голосов, Р.Н. Яруллин Сравнение эффективности окисления нитрованных полимеров химическими способами и с помощью микроорганизмов.....101

П.А. Мутовкин, А.А. Мосунов Мониторинг изменений прототипов антиобрастающих покрытий в ходе экспонирования в морской среде.....	101
Е.Н. Скуратовская, Т.М. Чекмарева, Н.А. Левина Сравнительный анализ показателей про-оксидантно-антиоксидантной системы в жабрах морского ерша <i>Scorpaena porcus</i> L. из разных акваторий г. Севастополя	103
А.А. Сыровец, А.О. Лантушенко, Е.В. Зиновьева, О.М. Шевчук Хроматографический анализа крымских можжевельников секции <i>Juniperus</i>	103
Э.С. Челебиева, И.Н. Чубчикова, Н.В. Данцюк, И.В. Дробецкая, Г.С. Минюк Морфофизиологические характеристики зеленой каротиногенной микроводоросли <i>Coelastrella</i> sp. в условиях лабораторной накопительной культуры	104
Н.В. Шадрин, А.В. Празукин, Д.Д. Гассиев, Е.В. Ануфриева Перспективы использования зеленых нитчатых водорослей <i>Cladophora</i> в животноводстве.....	105
Я.В. Мегер, С.А. Пионтковский Распределение океанического зоопланктона	106

СЕКЦИЯ 1. ОБЩАЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОФИЗИКА

ОЦЕНКА СРОДСТВА БЕЛКА DPS К УЧАСТКАМ ДНК РАЗЛИЧНОЙ МОРФОЛОГИИ: СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ Assessment of the Affinity of the Dps Protein to DNA Sites of Various Morphologies: Structural, Functional and Thermodynamic Features

Антипов С.С.¹, Преображенская Е.В.², Черниговский И.Л.¹, Озолинь О.Н.²

¹ ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, г. Воронеж, РФ, antipov@bio.vsu.ru

² Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФИЦ Пущинский научный центр биологических исследований РАН, г. Пущино, РФ

Согласно одной из гипотез [1], в отсутствие ДНК N-концевые модули Dps не свободны, а закреплены на отрицательно заряженной поверхности белковой молекулы. Формально это противоречит данным рентгеноструктурного анализа [2]. Тем не менее, это противоречие, можно объяснить не фиксированным расположением N-концевых лизинов в участках потенциального взаимодействия, которые содержат много остатков аспарагиновой и глутаминовой аминокислот, разная комбинация которых может стать мишенью для взаимодействия. Для проверки такого предположения были проведены исследования возможных конформационных изменений додекамеров Dps при формировании нуклеопротеидных комплексов, оценке их стабильности, а также констант связывания при взаимодействии с различными фрагментами ДНК. В частности, исследование конформационных изменений молекул Dps отдельно и в составе нуклеопротеида в зависимости от температуры проводили с использованием методов динамического светорассеяния и флуоресцентной спектроскопии. Измерение констант связывания Dps с ДНК осуществляли с помощью метода поверхностного плазмонного резонанса.

Полученные данные свидетельствуют о том, что при формировании нуклеопротеидных комплексов Dps с различными по структуре и организации молекулами ДНК происходят не равнозначные конформационные изменения белковой глобулы. Это может быть обусловлено разным набором формирующихся ДНК-белковых контактов. Если это так, то и энергии связей, стабилизирующих нуклеопротеидный комплекс, будут отличаться. Поэтому на следующем этапе была предпринята попытка оценить константы связывания молекул Dps с линейными и искусственными разветвленными молекулами ДНК при помощи метода поверхностного плазмонного резонанса с использованием линейных фрагментов ДНК содержащих основной промотор гена *dps* и искусственной Y-подобной ДНК-структурой, также содержащей в одной из ветвей основной промотор гена *dps*. Зарегистрированные значения констант диссоциации отличаются почти на 2 порядка и составляют: $1,48 \times 10^{-10}$ для разветвлённого фрагмента ДНК и $9,70 \times 10^{-9}$ для линейного фрагмента ДНК. При этом, значение критерия согласия Пирсона χ^2 для этих экспериментов составляло 4,98 и 4,77 для разветвлённых и линейных фрагментов ДНК соответственно. То есть, аппроксимацию полученных результатов можно считать удовлетворительной для интерпретации полученных результатов. Это хорошо согласуется с результатами, полученными ранее [1], в первую очередь с данными атомно-силовой микроскопии и соответствуют представлению, что Dps формирует больше контактов с разветвленной искусственной конструкцией, чем с линейным фрагментом. Известно, что содержащие остатки лизина ДНК-связывающие модули Dps сгруппированы в триплеты [2] и на поверхности белковой глобулы имеется четыре таких триплета. Каждый N-концевой модуль в составе триплета может связаться с ДНК. В случае линейных неизогнутых ДНК стерически должны формироваться 2 контакта, а для Y-подобной и изогнутых структур возможно взаимодействие со всеми тремя модулями, что полностью объясняет большую термодинамическую стабильность Dps-Y комплекса. Двадцать одна аминокислота N-концевого участка каждой субъединицы Dps не структурирована, поэтому их расположение в белковой глобуле не удалось определить, хотя 13 аминокислотных остатков одного из мономеров были идентифицированы с помощью рентгеноструктурного анализа [2]. Это предоставляет возможность оценить, насколько протяженность и гибкость неструктурированных N-концов Dps позволяет белку формировать внутримолекулярные электростатические контакты, а конформация белка может зависеть от наличия ионов железа внутри белковой полости [3].

1. Melekhov V.V., Shvyreva U.S., Timchenko A.A. et al. Modes of *Escherichia coli* Dps Interaction with DNA as Revealed by Atomic Force Microscopy // Plos One, 2015, vol. 10, no. 5, doi: 10.1371/journal.pone.0126504.

2. Grant R.A., Filman D.J., Finkel S.E. et al. The crystal structure of Dps, a ferritin homolog that binds and protects DNA // Nature Structural Biology, 1998, vol. 5, doi: 10.1038/nsb0498-294.

3. Antipov S.S., Turishchev S.Yu., Purtov Yu. et al. The Oligomeric Form of the *Escherichia coli* Dps Protein Depends on the Availability of Iron Ions // Molecules, 2017, vol. 22, doi: 10.3390/molecules22111904.

МЕХАНИЗМ ОБРАЗОВАНИЯ РЕДКИХ ТАУТОМЕРНЫХ ФОРМ ЦИТОЗИНА И ГУАНИНА ПРИ ОБЛУЧЕНИИ ОДНОЦЕПОЧЕЧНОЙ РНК УЛЬТРАФИОЛЕТОВЫМ СВЕТОМ
Mechanism of Formation of Rare Tautomeric Forms of Cytosine and Guanine when Single-Stranded RNA is Irradiated with Ultraviolet Light

Гребнева Е.А.

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

Генетический материал вирусов может представлять собой одноцепочечные или двухцепочечные молекулы ДНК, а также одноцепочечные или двухцепочечные молекулы РНК. Коронавирус SARS-CoV-2 – это штамм коронавируса, вызывающий COVID-19, острое респираторное заболевание, ответственное за пандемию COVID-19. Геномы коронавирусов представляет собой одноцепочечные РНК. Существует много тысяч вариантов SARS-CoV-2, которые были сгруппированы в несколько штаммов. Эти варианты коронавируса SARS-CoV-2 появились в результате образования мутаций [1]. Поэтому важно понимать, как образуются мутации в одноцепочечной РНК.

Мной были разработаны полимеразно-таутомерные модели ультрафиолетового мутагенеза [2-4], опирающиеся на гипотезу Уотсона и Крика [5] о том, что в основе мутагенеза лежит способность оснований ДНК находиться в различных таутомерных формах. Полимеразно-таутомерные модели ультрафиолетового мутагенеза [2-4] разработаны для двухцепочечной ДНК. В тоже время для построения полимеразно-таутомерных моделей образования различных мутаций в коронавирусах, в первую очередь, необходимо разработать механизмы образования редких таутомерных форм оснований РНК, появляющихся при облучении одноцепочечных РНК ультрафиолетовым светом.

Мной был разработан механизм образования редких таутомеров оснований ДНК при облучении двухцепочечной молекулы ДНК ультрафиолетовым светом [6]. Одноцепочечная РНК находится в водной среде. При этом молекулы воды присоединяются к молекуле РНК с помощью водородных связей. Механизм образования редких таутомерных форм, образующихся в молекулах ДНК [6] справедлив и для молекул РНК. Молекулы ДНК и РНК различаются только тем, что у них немного различаются сахаро-фосфатные остовы. Кроме того, в молекулах ДНК используются основания гуанин, цитозин, аденин и тимин, а в молекула РНК используются основания гуанин, цитозин, аденин и урацил.

Построена модель изменения таутомерных состояний в молекулах РНК цитозина и гуанина, входящих в одноцепочечную РНК при облучении ее ультрафиолетовым светом. При облучении одноцепочечной РНК, связанной с молекулами воды водородными связями, могут образовываться 7 новых редких таутомерных форм цитозина и 7 новых редких таутомерных форм гуанина, которые могут влиять на характер спаривания оснований. Все редкие таутомерные формы цитозина и гуанина, образующиеся в одноцепочечной РНК, будут стабильными. Эти выводы хорошо сочетаются с прямыми экспериментальными данными [7,8].

1. Koyama T., Platt D., Parida L. Variant analysis of SARS-CoV-2 genomes. Bulletin of the World Health Organization // Bulletin of the world health organization, 2020, vol. 98, no. 7, pp. 495-504.

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

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

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

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

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

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

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

ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА ПОД ВЛИЯНИЕМ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ВОЛН МИЛЛИМЕТРОВОГО ДИАПАЗОНА

Study of Spectral Characteristics of Bovine Serum Albumin under the Influence of Millimeter Range Electromagnetic Waves

Григорян С.В., Шагинян М.А., Микаелян М.С., Парсаданян М.А., Вардеванян П.О.

Ереванский государственный университет, Научный институт биологии, г. Ереван, РА,

marine.parsadanyan@ysu.am

В настоящее время к физическим экологическим факторам окружающей среды прибавилось электромагнитное излучение антропогенного происхождения. Среди различных диапазонов этого фактора все больше увеличивается доля электромагнитных волн миллиметровой длины (ММ ЭМВ), в интервале изменения частот в ГГц-овой области [1]. В указанном диапазоне важное значение имеет резонансное поглощение ММ ЭМВ водой. Этот факт особенно важен с той точки зрения, что вода является средой проявления активности биологических макромолекул, в том числе – белков и нуклеиновых кислот. Среди биомолекул важная роль принадлежит белку сыворотки крови – альбумину, который выполняет транспортную роль в составе плазмы крови [2-4].

Изменения конформации альбумина на молекулярном уровне под влиянием различных физических и химических факторов являются важными ключевыми вопросами для всех процессов, в которых участвуют эти сывороточные белки.

В работе исследованы флуоресцентные и абсорбционные характеристики альбумина под влиянием ММ ЭМВ диапазона при резонансной для воды частоте 51,8 ГГц и нерезонансной частоте 41,8 ГГц. Длительность облучения составляла 1 час.

Результаты спектроскопических исследований показали, что поглощение образца, облученного частотой 41,8 ГГц, измеренного непосредственно после облучения, резко увеличивалось. Однако, через 24 часа после облучения этой частотой, поглощение альбумина так же резко уменьшалось. При облучении резонансной для воды частотой 51,8 ГГц поглощение альбумина, измеренное непосредственно после облучения, уменьшалось, но через 24 часа после облучения резко увеличивалось, через 48 часа – уменьшалось, оставаясь больше, чем поглощение необлученного альбумина.

Результаты флуоресцентных исследований указывают на то, что наблюдается уменьшение интенсивности флуоресценции в случае облучения резонансной для воды частотой 51,8 ГГц непосредственно после облучения, по сравнению с необлученным образцом. При этом, гипохромный эффект намного больше выражен, чем при нерезонансной частоте. Надо также отметить, что, через 24 и 48 ч, интенсивность флуоресценции облученных резонансной для воды частотой образцов альбумина перманентно возрастает, что указывает на то, что эффект облучения водно-солевого раствора снижается за последующие дни. Возможно это обусловлено тем, что, структура альбумина претерпевает определенные перестройки, в результате которых устанавливается более компактная пространственная структура.

Исходя из полученных абсорбционных и флуоресцентных данных БСА можно сделать вывод, что ММ ЭМВ оказывает существенное влияние на структуру белка. Примечательно, что резонансная и нерезонансная частоты оставляют разнонаправленное влияние.

На основании полученных результатов можно также предполагать, что облучение ММ ЭМВ приводит к изменениям водной среды растворов альбумина, в результате которых имеет место увеличение фолдинга белка, которое и отражается на оптических характеристиках триптофановых остатков протеина. Этот факт может иметь важное значение для практического применения ЭМВ миллиметрового диапазона в биологических и медицинских сферах.

1. Григорьев Ю.Г. Мобильная связь и электромагнитная опасность для здоровья населения. современная оценка риска – от электромагнитного смога до электромагнитного хаоса // *Journal of New Medical Technologies*, 2019, vol. 26, no. 2, pp. 88-95, doi: 10.24411/1609-2163-2019-16347.

2. Zhdanova N.G., Shirshin E.A., Maksimov E.G. et al. Tyrosine fluorescence probing of the surfactant-induced conformational changes of albumin // *Photochemical and Photobiological Sciences*, 2015, vol. 14, no. 5, pp. 897-908, doi: 10.1039/C4PP00432A.

3. Sleep D., Cameron J., Evans L.R. Albumin as a versatile platform for drug half-life extension // *Biochim. Biophys. Acta*, 2013, vol. 1830, no. 12, pp. 5526-34, doi: 10.1016/j.bbagen.2013.04.023.

4. Curry S. X-ray Crystallography of Albumin. In *Human Serum Albumin – New Insights on Its Structural Dynamics, Functional Impacts and Pharmaceutical Applications*. M. Otagiri, Ed.; Sojo University Publishing Center: Kumamoto, Japan, 2011, pp. 1-29.

КИНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ЛИНЕЙНОГО РОСТА НАКОПИТЕЛЬНОЙ КУЛЬТУРЫ *ARTHROSPIRA PLATENSIS*

Kinetic Parameters of Linear Growth *Arthrospira Platensis* Batch Culture

Клочкова В.С.^{1,2}, Лелеков А.С.²

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

² ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ, a.lelekov@ibss.su

На накопительной кривой роста культуры низших фотоавтотрофных организмов при невысокой интенсивности поверхностной облучённости обычно присутствует продолжительная линейная фаза роста. Для объяснения явления линейного роста ранее нами предложена модель [1], в основе которой лежит положение о том, что нормированная скорость синтеза биомассы пропорциональна приведённой плотности светового потока. Модель позволяет выполнить оценку кинетических параметров ключевого мультиферментного комплекса, на котором происходит сопряжение окислительных и восстановительных реакций. Многие исследователи предполагают, что при световом или газовом лимитировании роста культуры, в качестве ключевого мультиферментного комплекса F_0 необходимо рассматривать РБФК (Rubisco), который является одним из самых медленных ферментов фотосинтеза [2]. Целью данной работы являлось рассчитать кинетические параметры F_0 при линейном росте накопительной культуры *Arthrospira platensis*.

Объектом исследования являлась культура *Arthrospira (Spirulina) platensis* (Nordst.) Gomont (1932), которая выращивалась в накопительном режиме в плоскопараллельном фотобиореакторе объёмом 1 л, толщина слоя культуры 2 см. Поверхностная освещённость составляла 5 клк, что соответствует $75 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ с учётом спектра излучения люминесцентной лампы. Температура культуры стабилизировалась на уровне $26 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. Спектры поглощения культуры регистрировались в 1 см кюветках на двухлучевом спектрофотометре Lambda 365 Double Beam UV-Visible. В красной области спектра определяли концентрацию хлорофилла *a* методом аппроксимации кривыми Гаусса.

Для линейного участка накопительной кривой предложенный теоретический подход позволяет с высокой точностью ($R^2 = 0.995$) описать зависимость удельной скорости роста спирулины от концентрации хлорофилла *a*. Аппроксимация позволила определить значение обобщённого коэффициента модели, представляющего комбинацию эффективности, активности ключевого мультиферментного комплекса, размера фотосинтетической единицы и коэффициента пропорциональности F_0 количеству реакционных центров P_{700} . Используя литературные данные, оценим активность РБФК для наших условий. В работе [3] установлено, что содержание РБФК в общем белке составляет не менее 2 %, на одну молекулу P_{700} в накопительной культуре *A. platensis* приходится 122 молекулы антенного хлорофилла [4], коэффициент линейной связи концентрации хлорофилла и белка равен 0,016. Для оценки величины эффективности учтём, что калорийность АТФ около 7 ккал моль^{-1} , а её концентрация связана с хлорофиллом *a* через 0,25 [5]. Результаты расчётов показывают, что активность РБФК при линейном росте накопительной культуры *A. platensis* составляет 12 с^{-1} , что соответствует данным для других цианобактерий [2]. Таким образом, предложенная модель позволяет не только объяснить линейный рост культуры микроводорослей, предсказывать характер накопительной кривой при изменении внешней облучённости и степени адаптации клеток микроводорослей к ней, но и определить важнейшие кинетические параметры «узкого места» метаболизма.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по теме «Комплексное исследование механизмов функционирования морских биотехнологических комплексов с целью получения биологически активных веществ из гидробионтов» (№ гос. регистрации 124022400152-1).

1. Лелеков А.С., Клочкова В.С. Моделирование роста и фотоадаптации накопительной культуры *Porphyridium purpureum* // Математическая биология и биоинформатика, 2024, т. 19, № 1, с. 169-182, doi: 10.17537/2024.19.169.

2. Tcherkez G.G., Farquhar G.D., Andrews T.J. Despite slow catalysis and confused substrate specificity, all ribulose biphosphate carboxylases may be nearly perfectly optimized // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, 2006, vol. 103, no. 19, pp. 7246-7251, doi: 10.1073/pnas.0600605103.

3. Losh J.L., Young J.N., François M.M. Morel. Rubisco is a small fraction of total protein in marine phytoplankton // New Phytologist, 2013, vol. 198, no. 1, pp. 52-58, doi: 10.1111/nph.12143.

4. Заворуева Е.Н., Заворуев В.В., Крум С.П. Лабильность первой фотосистемы фототрофов в различных условиях окружающей среды. Красноярск: Сибирский федеральный университет, 2011, 152 с.

5. Hunter B.L., Laws E.A. ATP and chlorophyll *a* as estimators of phytoplankton carbon biomass // Limnology and Oceanography, 1981, vol. 26, no. 5, pp. 944-956, doi: 10.4319/lo.1981.26.5.0944.

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА АМИНОКИСЛОТ И РОЛЬ ДОЛГОЖИВУЩИХ РАДИКАЛОВ В СОСТАВЕ БЕЛКОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО-В ИЗЛУЧЕНИЯ

Antioxidant Characteristics of Amino Acids and the Role of Long-Lived Radicals in Proteins under the Influence of Ultraviolet-B Radiation

Кочарли Н.К., Гумматова С.Т.

Бакинский государственный университет, г. Баку, Азербайджанская Республика, sam_bio@mail.ru

В настоящей работе изучены антиоксидантные свойства аминокислот и роль долгоживущих радикалов в составе белков при действии ультрафиолетового-В (УФ-В) излучения. Методом хемилюминесценции и с использованием флуоресцентного зонда кумарин-3-карбоновой кислоты (7-ОН-ККК) установлено, что белки альбумин (БСА) и глицин (ГЛЦ) являются природными антиоксидантами, которые способны предотвращать образование гидроксильных радикалов при воздействии УФ-В излучения.

В последние десятилетия растущие знания выявили двойную роль АФК в физиологии клеток, показав, что они служат основным источником клеточного повреждения, а также функционируют как важные сигнальные молекулы в различных биологических процессах. Наше понимание гомеостаза АФК и клеточных сигнальных путей, опосредованных АФК, предполагает, что это древние и высококонсервативные механизмы, общие для большинства организмов.

Одним из наиболее значимых повреждающих факторов среды, действующих на биологические макромолекулы, являются АФК. АФК представляют собой группу свободных радикалов, реакционноспособных молекул и ионов, образующихся из O_2 . Такие формы кислорода индуцируются разнообразными физическими, химическими и биологическими факторами: УФ и ионизирующим излучением, присутствием химических мутагенов и канцерогенов, а также естественным и, особенно, нарушенным аэробным клеточным метаболизмом.

Активные формы кислорода во всех живых организмах производятся и быстро убираются многоуровневыми ферментными системами. Они могут переходить из одной формы в другую и существовать то в виде свободных радикалов, то в виде соединений, не обладающих электронным спином. Из первых важнейшими являются супероксидный ($O_2^{\bullet-}$) или в протонированной форме-гидроперекисный (HO_2) и гидроксильный ($OH\bullet$) радикалы. В биосистемах перекись водорода способна через поры проникать в мембрану клеток и выступать как вторичный мессенджер.

Цель работы заключалась в исследовании антиоксидантных свойств некоторых аминокислот., а также свойств долгоживущих радикалов в составе белков при действии ультрафиолетового-В (УФ-В) излучения. Исследование антиоксидантных свойств аминокислот для оценки их роли в окислительно-восстановительных процессах в клетках. Исследование образования и свойств долгоживущих радикалов белка под воздействием УФ-В излучения.

Измерение собственной хемилюминесценции (ХЛ) растворов белков альбумина и глицина проводили на квантометрической хемилюминесцентной установке. Опытные образцы с ККК облучали УФ-В при дозе и определяли флуоресценцию. Флуоресценцию 7-ОН-ККК измеряли на спектрофлуориметре «Varian Cary Eclipse 2007». Источником УФ-В излучения служила ртутная лампа ПРК-4. Растворы белков облучали в кварцевых пробирках на расстоянии 10 см от ртутной лампы ПРК-4 дозой $1,2 \cdot 10^2$ эрг/мм², $2,4 \cdot 10^2$ эрг/мм², $3,6 \cdot 10^2$ эрг/мм², $4,8 \cdot 10^2$ эрг/мм².

АФК в организме возникают как при нормальном клеточном метаболизме, так и при воздействии разных физико-химических факторов. При достижении АФК уровня, превышающего возможности их нейтрализации антиоксидантной системой клетки, они вызывают окислительный стресс и оказывают повреждающее действие на биологические молекулы. Хемилюминесцентные методы являются наиболее чувствительными для обнаружения и исследования ДАФБ.

Для альбумина и глицина существенный защитный эффект проявляется уже при 20 мкМ концентрации аминокислот. В случае альбумина при этой концентрации наблюдается незначительное уменьшение интенсивности ХЛ, а в случае с глицином на 20% по сравнению с контролем. Контролем служили необлученные растворы альбумина и глицина. Увеличение интенсивности ХЛ при концентрации 0,1 мМ для альбумина составляет около 30% , для глицина 50%. Однако эти аминокислоты проявляют заметный защитный эффект в концентрации 1мМ.

Установлено, что после воздействия УФ-В излучения происходит генерация ДАФБ БСА и ГЛЦ, зависящая от их концентрации. Период полужизни радикалов БСА и ГЛЦ составил около 4 часов и после действия УФ-В излучения увеличивается интенсивность ХЛ.

С помощью флуоресцентного зонда ККК продукт гидроксирования которого 7-ОН-ККК интенсивно флуоресцирует, измерили образование гидроксильных радикалов в растворах БСА и ГЛЦ после воздействия на них УФ-В излучения. После воздействия УФ-В излучения содержание 7-ОН-ККК составляет $5,0 \pm 0,5$ нМ для БСА и $8,0 \pm 0,6$ нМ для ГЛЦ. С использованием флуоресцентного зонда обнаружено, что при указанных концентрациях (0,1 мМ-0,5 мМ) также наблюдается уменьшение количества АФК по сравнению с высокими концентрациями этих белков, что повидимому связана с образованием долгоживущих радикалов белка (ДЖРБ) в большем количестве под действием УФ- В излучения, сопровождающаяся генерацией АФК.

АСТАКСАНТИН ОСЛАБЛЯЕТ ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ, ВЫЗВАННУЮ H₂O₂ ИЛИ ДОКСОРУБИЦИНОМ, ИНГИБИРУЯ МИТОХОНДРИАЛЬНУЮ ДИСФУНКЦИЮ В КЛЕТКАХ КАРДИОМИОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА AC16

Astaxanthin Attaches H₂O₂- or DOX-Induced Cytotoxicity by Inhibiting Mitochondrial Dysfunction in Human Cardiomyocyte AC16 Cells

Крестинина О.В., Ломовский А.И., Бабурина Ю.Л., Крестинин Р.Р., Сотникова Л.Д.

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пушкино, Московская обл., РФ,
ovkres@mail.ru

Митохондрии являются органеллами, которые участвуют в патогенезе различных заболеваний, включая сердечно-сосудистые заболевания [1]. Важной предпосылкой нормальной клеточной функции считается поддержание структурной и функциональной целостности митохондрий, поскольку именно митохондрии играют ключевую роль в энергетическом обмене, а также в поддержании окислительно-восстановительного состояния клеток и регуляции апоптоза. Известно, что митохондрии являются основным источником активных форм кислорода (АФК), митохондриальная дисфункция приводит к окислительному стрессу [2]. Функционирование сердечной мышцы регулируется различными механизмами антиоксидантной защиты, однако при заболеваниях сердца антиоксидантная защита нарушается, а увеличение продукции АФК приводит к её снижению [3]. Чтобы повысить защитную реакцию организма на окислительный стресс необходимо применение препаратов, направленных на снижение митохондриальной дисфункции. Среди таких препаратов следует отметить астаксантин (3,3'-dihydroxy- β,β' -carotene-4,4'-dione, АСТ) - каротиноид-ксантофилл, который считается мощным антиоксидантом, а благодаря своим противовоспалительным свойствам он может использоваться в качестве терапевтического средства при сердечно-сосудистых заболеваниях [4].

В настоящем исследовании, было изучено влияние АСТ на митохондриальную дисфункцию в клетках кардиомиоцитов человека линии AC16, вызванную индукторами окислительного стресса пероксидом водорода (H₂O₂) и доксорубицином (Докс). В этих условиях было проанализировано изменение жизнеспособности клеток кардиомиоцитов, продукции АФК, митохондриального мембранного потенциала ($\Delta\Psi_m$) и содержание цитозольного Ca²⁺. Жизнеспособность клеток после инкубации с различными концентрациями, пероксидом водорода (H₂O₂) и доксорубицином определяли по отношению количества живых клеток в опытных и контрольных (без добавления АСТ, H₂O₂ или Докс) культурах через 24 ч после добавления АСТ, H₂O₂ или Докс. Количество живых клеток после инкубации с АСТ, H₂O₂ или Докс оценивали по интенсивности восстановления резазурина до резозурина. Жизнеспособность клеток существенно снижалась при добавлении H₂O₂ (100 мкМ) или Докс (5 мкМ) к клеткам. При инкубации с АСТ (5 и 10 мкМ) в течении 4 часов с последующим добавлением индукторов цитотоксичности жизнеспособность клеток повышалась почти до контрольного уровня. В этих условиях, было проанализировано изменение продукции АФК, $\Delta\Psi_m$ и содержание цитозольного Ca²⁺. H₂O₂ (100 мкМ) или Докс (5 мкМ) значительно повышали продукцию АФК и содержание цитозольного Ca²⁺ по сравнению с контролем (необработанные клетки). В этих условиях, при добавлении к клеткам АСТ (5 и 10 мкМ), продукция АФК и содержание цитозольного Ca²⁺ снижались по сравнению с действием индукторов цитотоксичности (H₂O₂ или Докс). АСТ снижал продукцию АФК и содержание цитозольного Ca²⁺, тем самым защищая клетки от вредного воздействия АФК и избытка Ca²⁺. Добавление H₂O₂ (100 мкМ) или Докс (5 мкМ) приводило к падению $\Delta\Psi_m$ в клетках кардиомиоцитов человека линии AC16. Однако, инкубация клеток с АСТ (5 и 10 мкМ) в течении 4 часов, несмотря на добавление к клеткам H₂O₂ (100 мкМ) или Докс (5 мкМ) восстанавливало $\Delta\Psi_m$ почти до контрольного уровня.

Таким образом, добавление индукторов цитотоксичности H₂O₂ (100 мкМ) или Докс (5 мкМ) к клеткам кардиомиоцитов человека линии AC16, приводило к митохондриальной дисфункции, тогда как астаксантин проявлял защитное действие.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда № 24-25-00129

1. van der Blik A.M., Shen Q., Kawajiri S. Mechanisms of mitochondrial fission and fusion // Cold Spring Harb. Perspect. Biol., 2013, vol. 5, p. a011072, doi:10.1101/cshperspect.a011072.
2. Kim S.H., Kim H. Inhibitory Effect of Astaxanthin on Oxidative Stress-Induced Mitochondrial Dysfunction – A Mini-Review // Nutrients, 2018, vol. 10 (9), p. 1137, doi: 10.3390/nu10091137.
3. Griffiths E.J. Mitochondria and heart disease // Adv. Exp. Med. Biol., 2012, vol. 942, pp. 249-267, doi: 10.1007/978-94-007-2869-1_11.
4. Fassett R.G., Coombes J.S. Astaxanthin: a potential therapeutic agent in cardiovascular disease // Mar. Drugs, 2011, vol. 9 (3), pp. 447-465, doi: 10.3390/md9030447

КОМПЛЕКС AlF_4^- ПОДАВЛЯЕТ Ca^{2+} -ОТВЕТЫ В МАКРОФАГАХ Complex AlF_4^- Attenuates Ca^{2+} Responses in Macrophages

Миленина Л.С.¹, Крутецкая З.И.¹, Антонов В.Г.², Крутецкая Н.И.¹, Бадюлина В.И.¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, РФ, l.milenina@spbu.ru,
z.krutetskaya@spbu.ru

² Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, г. Санкт-Петербург, РФ,

Важную роль в процессах внутриклеточной сигнализации играют гетеротримерные G-белки (состоящие из α , β и γ субъединиц), работающие как молекулярные переключатели (molecular switches), трансдукторы сигналов (signal transducers) в цепях передачи сигналов в клетках, и передающие сигнал от мембранных рецепторов, связанных с G-белками (G protein-coupled receptors), на определенные эффекторные молекулы в клетке [1]. G-белки участвуют во многих внутриклеточных процессах, в первую очередь в процессах Ca^{2+} -сигнализации [2]. Установлено, что G-белки модулируют активность различных типов ионных каналов [3]. На некоторых типах клеток обнаружено участие одного или более G-белков в регуляции депозависимого или “емкостного” входа Ca^{2+} , активируемого при опустошении внутриклеточных Ca^{2+} -депо [4,5].

Важным свойством G-белков, позволяющим эффективно изучать их участие в тех или иных внутриклеточных процессах, является возможность их необратимой активации (или инактивации), минуя стадию стимуляции рецептора агонистом. Удобным инструментом для изучения роли G-белков в активации клеток является комплекс AlF_4^- . Показано, что AlF_4^- эффективно и обратимо активирует гетеротримерные G-белки типов G_s , G_i , G_q и G_t [6]. Считается, что комплекс AlF_4^- имеет структуру, сходную с фосфатной группой, и может взаимодействовать с ГДФ, связанным с α -субъединицей G-белков. Таким образом, AlF_4^- активирует α -субъединицу G-белка, связываясь с ГДФ и имитируя присоединение третьего (γ) фосфата [6]. Способность комплекса AlF_4^- проникать через мембрану делает его удобным для исследования функциональной роли G-белков в интактных клетках.

Для выявления возможной роли G-белков в активации и регуляции Ca^{2+} -сигналов в макрофагах, исследовали влияние комплекса AlF_4^- на Ca^{2+} -ответы, индуцируемые ингибиторами эндоплазматических Ca^{2+} -АТФаз тапсигаргином и циклопязониковой кислотой в перитонеальных макрофагах крысы.

Эксперименты проводили на культивируемых резидентных перитонеальных макрофагах крыс линии Wistar на автоматизированной установке для измерения $[Ca^{2+}]_i$ на базе флуоресцентного микроскопа Leica DM 4000B (Leica Microsystems, Германия). Для измерения $[Ca^{2+}]_i$ использовали флуоресцентный зонд Fura-2AM (Sigma-Aldrich, США). Значения $[Ca^{2+}]_i$ рассчитывали по уравнению Гринкевича [7]. Статистический анализ проводили с применением критерия *t* Стьюдента. Достоверными считали различия при $P \leq 0,05$. AlF_4^- применяли как смесь NaF и $AlCl_3$ в области концентраций от 10 мМ NaF + 50 мкМ $AlCl_3$ до 20 мМ NaF + 100 мкМ $AlCl_3$. Постановка опытов заключалась в следующем. К окрашенным Fura-2AM макрофагам вначале добавляли $AlCl_3$, через 2-3 мин вводили в среду NaF и затем через 7-10 мин добавляли ингибиторы эндоплазматических Ca^{2+} -АТФаз.

Впервые обнаружено, что активатор гетеротримерных G-белков, комплекс AlF_4^- , значительно подавляет обе фазы Ca^{2+} -ответов, вызываемых тапсигаргином и циклопязониковой кислотой, в перитонеальных макрофагах. Так, подавление фазы мобилизации Ca^{2+} из депо составило $58,2 \pm 11,4\%$ ($n = 7$; $P < 0,05$), а депозависимого входа Ca^{2+} - $63,7 \pm 12,6\%$ ($n = 7$; $P < 0,05$) для опытов с применением 0,5 мкМ тапсигаргина. Сходные результаты были получены в экспериментах с применением 10 мкМ циклопязониковой кислоты. Подавление комплексом AlF_4^- мобилизации Ca^{2+} из депо составило $65,8 \pm 12,5\%$ ($n = 7$; $P < 0,05$), а подавление депозависимого входа Ca^{2+} - $67,1 \pm 13,3\%$ ($n = 7$; $P < 0,05$). Обнаружено также, что введение 50 мкМ $AlCl_3$ и 10 мМ NaF во время индуцированного тапсигаргином или циклопязониковой кислотой развившегося входа Ca^{2+} приводит к полному подавлению депозависимого входа Ca^{2+} и возвращению $[Ca^{2+}]_i$ к базальному уровню. Полученные нами данные свидетельствуют об участии гетеротримерных G-белков в регуляции Ca^{2+} сигналов и, в первую очередь, в активации и регуляции депозависимого входа Ca^{2+} в макрофагах.

1. Neer E.J. Heterotrimeric G proteins: organizers of transmembrane signals // Cell, 1995, vol. 80, pp. 249-257.
2. Dhyania V., Gareia S., Gupta R.K. et al. GPCR mediated control of calcium dynamics: a systems perspective // Cell. Signall., 2020, vol. 74, 109717, doi: 10.1016/j.cellsig.2020.109717.
3. Dolphin A.C. Mechanisms of modulation of voltage-dependent calcium channels by G proteins // J. Physiol., 1998, vol. 506.1, pp. 3-11.
4. Fasolato C., Hoth M., Penner R. A GTP-dependent step in the activation mechanism of capacitative calcium influx // J. Biol. Chem., 1993, vol. 268, no. 28, pp. 20737-20740.
5. Jaconi M.E.E., Lew D.P., Monod A., Krause K.-H. The regulation of store-dependent Ca^{2+} influx in HL-60 granulocytes involves GTP-sensitive elements // J. Biol Chem., 1993, vol. 268, no. 35, pp. 26075-26078.
6. Bigay J., Deterre P., Pfister D., Chabre M. Fluoride complexes of aluminium or beryllium act on G-proteins as reversibly bound analogues of the γ -phosphate of GTP // EMBO J., 1987, vol. 6, pp. 2907-2913.
7. Grynkiewicz G., Poenie M., Tsien R.Y. A new generation of Ca^{2+} indicators with greatly improved fluorescence properties // J. Biol. Chem., 1985, vol. 260, pp. 3440-3450.

ЛИПИДНЫЕ КАПЛИ ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ МЛЕКОПИТАЮЩИХ Lipid Droplets of Mammalian Retinal Pigment Epithelium

Орлов О.Ю., Гольшев С.А.

¹ ИППИ РАН им. А.А. Харкевича, г. Москва, РФ

² ИФХБ им. А.Н. Белозерского Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, РФ,
graf@iitp.ru

Несовершенство световоспринимающего аппарата фоторецепторов позвоночных ведёт к его деградации под действием света. Это ведёт к необходимости постоянной замены испорченных дисков их наружных сегментов (НС) и их замене вновь формируемыми дисками. Устранение дисков происходит при активном участии пигментного эпителия (ПЭ) сетчатки, апикальные отростки которого весьма подвижны и способны отделять блоки из десятков дисков, которые затем захватываются самими клетками ПЭ, где подвергаются фагоцитозу. Этот процесс, называемый шеддингом, протекает не равномерно, а с ритмичкой смены суточных фаз света и темноты: у многих животных большинство фагосом, подвергаемых далее лизису, наблюдается в начале световой фазы суток.

Судя по всему, фагоцитоз большого количества мембран НС, содержащих массу липопротеидов и липидов, влечёт перенасыщение цитоплазмы клеток ПЭ липидами, что требует их блокирования в форме мультиламеллярных структур, называемых миелоидными телами (МТ). Они образуются из многих уплощённых стенок каналов гладкого эндоплазматического ретикулума (ГЭР), видимо служа временным хранилищем липидов, для последующего транспорта в кровяное русло. Структура МТ несколько различна у разных животных, и достигает совершенства у птиц; но они отсутствуют у млекопитающих (единственный противоречащий этому пример не меняет дела). Возникает вопрос: как обходится ПЭ млекопитающих без МТ как буферного хранилища избыточных липидов, если они, как и все другие позвоночные, подвержены шеддингу? Следует заметить, что почему-то этот вопрос не ставится и не обсуждается в литературе о ПЭ.

Ответом на этот вопрос могут служить сделанные нами ультраструктурные наблюдения двух видов грызунов (полёвки Брандта и жёлтой пеструшки) - о наличии скоплений липидных капель в клетках их ПЭ. Надо признать, что подобные наблюдения делались и раньше (на крысах, средствами электронной микроскопии [ЭМ], и даже световой микроскопии – в 1925 году - на кроликах), а в ряде ранних ЭМ работ на ПЭ эти капли узнаваемы на рисунках, но не опознаны так, как это стало доступно позже.

1. Baker B.N., Megumi M., Maureen B.M. et al. Oil Droplets of the Retinal Epithelium of the Rat // Exp. Eye Res., 1986, vol. 42, pp. 547-557.

УНИКАЛЬНОЕ СОЧЕТАНИЕ СЕТЧАТКИ И ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ ЗМЕИ Unique Combination of Retina and Pigment Epithelium of the Snake

Орлов О.Ю.^{1,2}, Гольшев С.А.^{1,2}

¹ ИППИ РАН им. А.А. Харкевича, г. Москва, РФ

² ИФХБ им. А.Н. Белозерского Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, РФ,
graf@iitp.ru

Глаз змеи представляет экстраординарный интерес так как кардинально отличается по своему устройству от глаз всех своих ближайших родственников (причём не в лучшую сторону, т. е. никак не «в силу прогрессивной эволюции»). Эту общую картину впервые описал Гордон Линн Уоллс (Gordon Lynn Walls, 1940), связав её с гипотезой о фундаментальной деградации глаз первичных змей – роющих рептилий (ящериц), обитателей обильных кормом тропических подстилок. Деградация их глаз была столь глубокой, что при вторичном освоении освещённой поверхности Земли змеям пришлось «изобретать» наново почти все компоненты глаза – самой сложной из многокомпонентных систем организма.

Глаза змей были предметом многостороннего изучения современными средствами со многих сторон, но по странному стечению обстоятельств их пигментный эпителий сетчатки (ПЭ) ни разу не был предметом электронной микроскопии. В итоге, ПЭ (едва ли не самый сложный компонент глаза как сложной системы) оставался неизвестным до сего времени. Многое обнаруживается впервые, но особенно впечатляет такой теснейший контакт ПЭ с сетчаткой, при котором нет места для его апикальных отростков, а соответственно и шеддинга, и крупных фагосом, а похоже и миелоидных тел (МТ), которые есть у всех позвоночных, за исключением млекопитающих.

ЭКСТРАКЦИИ КВЕРЦЕТИНА В МЕТАСТАБИЛЬНЫЙ ВОДНЫЙ РАСТВОР Extraction of Quercetin into Metastable Aqueous Solution

Погорелов А.Г., Ипатов Л.Г., Панаит А.И., Станкевич А.А., Юнусова А.Я., Погорелова В.Н.
ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино, РФ,
agpogorelov@rambler.ru

Предложен метод экстракции кверцетина из растительной клетки, основанный на сочетанном действии ультразвука и метастабильной фракции водного раствора, которую получали посредством электрохимической активации раствора в диафрагменном электролизере. Такая обработка исходного сырья вызывает более эффективное выделение цитоплазматической компоненты за счет травления и/или механического разрушения оболочки растительной клетки. Окисленная фракция раствора обладает наиболее выраженными экстрагирующими свойствами, но модифицирует кверцетин, окисляя хромофорную часть молекулы. По критерию сохранности пигмента лучшим экстрагирующей средой является восстановленная фракция воды. Для сравнительного анализа образцов экстракта использовали аналитические методы: UV-vis спектрометрию, гель электрофорез белков, ^1H -ЯМР спектрометрию и QCM взвешивание, а также сканирующую электронную микроскопию.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ВОЛН ВОЗБУЖДЕНИЯ В МОНОСЛОЕ КАРДИОМИОЦИТОВ КРЫС ПРИ ВЛИЯНИИ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ АЦЕТАЛЬДЕГИДА Propagation of Excitation Waves in the Monolayer of Rat Cardiomyocytes under the Influence of Various Doses of Acetaldehyde

Подгурская А.Д.^{1,2}, Цвеляя В.А.^{1,3}, Слотвицкий М.М.^{1,3}, Агладзе К.И.^{1,3}

¹ ГБУЗ МО МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского, г. Москва, РФ

² ФГБУН Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии РАН, г. Черноголовка, РФ

³ Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), г. Москва, РФ

В настоящее время болезни сердца являются лидирующей причиной смертности, в том числе вызванные приемом лекарственных средств и химических веществ. Одной из перспективных клеточных моделей для исследования токсичности веществ и волн возбуждения является монослой кардиомиоцитов. Активный метаболит этанола, ацетальдегид, в 10-30 раз токсичнее этанола, оказывает разрушающее воздействие на мембраны и клеточные структуры вплоть до апоптоза. В данной работе были получены монослои неонатальных крысиных кардиомиоцитов и методом оптического картирования изучены скорости проводимости и характер распространения волны возбуждения при влиянии ацетальдегида в концентрациях 30-200 μM .

Скорость волны возбуждения (рис.1) падала на ~20-80% при влиянии ацетальдегида в концентрациях 30-200 μM . Значения скорости частично восстанавливались при отмывке вещества от клеток (рис.2). Это может быть связано с блокировкой быстрого натриевого тока и/или щелевых контактов между кардиомиоцитами. По литературным данным ацетальдегид не оказывает влияния на быстрый натриевый ток, таким образом полученные данные могут свидетельствовать об обратимом ингибировании щелевых контактов кардиомиоцитов.

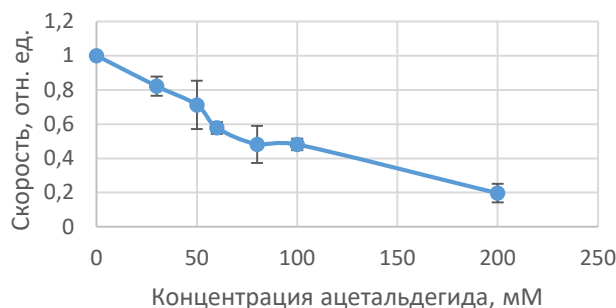


Рисунок 1. Эффект ацетальдегида на скорость проведения возбуждения в монослое крысиных КМ (n=3). Скорость была измерена при частоте стимуляции 1 Гц. Скорость в контроле: 68 ± 8 мм/с

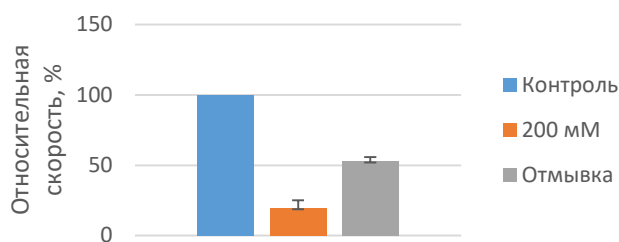


Рисунок 2. Скорость распространения ВВ в контроле, при 200 мМ АСА и после отмывки (n=3). Скорость частично ($53\pm 3\%$, $p < 0,05$) восстанавливалась после отмывки АСА

Спиральных волн при воздействии вещества не образовывалось, уменьшалась площадь проводимости при концентрациях 100 мМ и 200 мМ на $18\pm 4\%$ и $29\pm 12\%$ соответственно.

Полученные зависимости согласуются с результатами, полученными на целом сердце [1] и позволяют сделать вывод о проаритмическом воздействии ацетальдегида посредством влияния на щелевые контакты кардиомиоцитов.

1. Lai Y.J., Hung C.L., Hong R.C. et al. Slow conduction and gap junction remodeling in murine ventricle after chronic alcohol ingestion // J. Biomed. Sci., 2011, vol. 18, 72, doi: 10.1186/1423-0127-18-72.

АНАЛИЗ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ КОМБИНАЦИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО АНТИБИОТИКА МИТОКСАНТРОНА И ФУЛЛЕРЕНА C₆₀ НА КЛЕТОЧНУЮ ЛИНИЮ HELA

Analysis of the Cytotoxic Effect of the Combination of the Antineoplastic Antibiotic Mitoxantrone and C₆₀ Fullerene on the Hela Cell Line

Ращенко И.И., Степанов А.В., Лантушенко А.О.

ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», г. Севастополь, РФ, lantushenko@mail.ru

Национальный институт рака в 2017 году выделил комбинированную терапию в качестве главного приоритета исследований в онкологии [1]. Метод комбинированной терапии эффективнее и дешевле в долгосрочной перспективе благодаря меньшим рискам и меньшей летальности у пациентов.

Также исследования показывают, что комбинации антибиотиков с наночастицами приводят к уменьшению токсических эффектов препаратов при сохранении противоопухолевого эффекта [2].

При разработке любых новых лекарственных препаратов и их комбинаций они обязательно проходят несколько стадий испытаний, включая доклинические исследования, в которых используются клеточные линии.

В данной работе исследовалось влияние комбинации противоопухолевого антибиотика митоксантрона и фуллерена C₆₀ био на клетки карциномы шейки матки HeLa.

Клеточная линия культивировалась в смеси питательной среды DMEM, состоящей преимущественно из глюкозы и аминокислот, эмбриональной телячьей сыворотки, ПВК (пировиноградная кислота) и пенициллина-стрептомицина. Культуральные флаконы с клетками объемом 25 см³ помещались в культиватор Binder и поддерживались при температуре +37 °С и концентрации углекислого газа 5% в течение 2 дней. Далее для проведения МТТ-теста, клетки пересевались в 96-луночный планшет, инкубировались в течение суток и обрабатывались препаратами. Вначале производилась обработка клеток различными концентрациями антибиотика митоксантрона (МИТО) и определялась полулетальная концентрация LD50. Также для проверки возможной цитотоксичности фуллерена клетки инкубировались с фуллереном в различных концентрациях. Во второй части эксперимента клетки обрабатывались антибиотиком с постоянной концентрацией и различными концентрациями фуллерена. Кроме того, исследование действия комбинации МИТО с C₆₀ проводилось с помощью анализа некроза. Для окрашивания некротических клеток использовался пропидий йодид (PI), для подсчета клеток использовался флуоресцентный микроскоп Leica DM4 B с камерой DFC7000 T.

МТТ-тест показал, что добавление фуллерена C₆₀ в различных концентрациях, практически не влияет на выживаемость клеточной культуры. Полулетальная концентрация LD50 для антибиотика митоксантрона составила $0,55 \cdot 10^{-4}$ М, а постоянная концентрация МИТО в последующих тестах была $1,1 \cdot 10^{-4}$ М. Концентрация фуллерена в комбинации с МИТО варьировалась от 0,2 до 0,006 мг/мл. Выживаемость клеток при обработке комбинацией препаратов изменялась в пределах от 65% (при концентрации C₆₀ 0,2 мг/мл) до 35% (при концентрации C₆₀ 0,006 мг/мл). Аналогичные результаты были получены при анализе некроза: процент PI-положительных клеток при C₆₀ 0,2 мг/мл составил 35%, а при C₆₀ 0,006 мг/мл – 55%.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о возможности выполнения фуллереном регуляторной функции в отношении медико-биологической активности противоопухолевого антибиотика митоксантрона.

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

1. Combination Therapies for Cancer – Annual Plan. National Cancer Institute. Archived from the original on 2017-10-05. Retrieved 2017-10-03.

2. Injac R., Radic N., Govedarica B. et al. Acute doxorubicin pulmototoxicity in rats with malignant neoplasm is effectively treated with fullereneol C₆₀(OH)₂₄ through inhibition of oxidative stress, 2009.

МЕМБРАНОСВЯЗАННАЯ ФЕРРИ-ФОРМА ГЕМОГЛОБИНА И МЕТГЕМОГЛОБИНРЕДУКТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ЯДЕРНЫХ ЭРИТРОЦИТОВ МОРСКОГО ЕРША (*SCORPAENA PORCUS*, LINNAEUS 1758) В НОРМЕ И УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ НАГРУЗОК (ЭКСПЕРИМЕНТЫ *IN VITRO*)

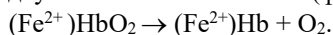
Membrane-Bound Ferriform of Hemoglobin and Methemoglobin Reductase Activity of Nuclear Erythrocytes of Sea Ruff (*Scorpaena porcus* L., 1758) under Normal and Oxidative Stress Conditions (*in vitro* Experiments)

Солдатов А.А.^{1,2}, Шалагина Н.Е.¹, Рычкова В.Н.¹, Кухарева Т.А.¹

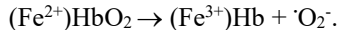
¹ ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ,
alekssoldatov@yandex.ru

² Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ,

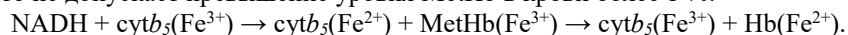
Процесс деоксигенации оксигемоглобина в норме сопровождается диссоциацией комплекса HbO₂ с отрывом кислорода и сохранением железа в геме в двухвалентном состоянии (ферро-состояние):



Однако в ряде случаев этот процесс приводит к окислению железа (ферри-состояние) и образованию супероксиданионрадикала (O₂⁻):



Образующееся соединение получило название метгемоглобина (MetHb), которое не способно связывать кислород. Эритроциты высших позвоночных содержат NADH₂-зависимую MetHb-редуктазу (цитохром b₅-редуктаза, КФ 1.6.2.2), которая препятствует переходу гемоглобина в ферри-состояние. Она сопрягает NADH с цитохромом b₅, что не допускает превышение уровня MetHb в крови более 1 %:



Ядерные эритроциты рыб также содержат данный молекулярный комплекс. Сравнительная оценка показала, что у рыб этот процесс протекает более эффективно, чем у высших позвоночных. Вместе с тем, считается, что респираторные пигменты рыб отличаются низкой устойчивостью к окислению. Уровень MetHb в крови ряда видов может достигать 27 %, без видимой окислительной нагрузки. Причины этого явления до конца не понятны.

Окисленные формы гемоглобина легко встраивают в мембранные структуры эритроцита. Считается, что в незначительных количествах они способствуют стабилизации клеточного цитоскелета. Осмотические характеристики и процессы перекисного окисления липидов мембранных структур клетки при этом сохраняются в пределах функциональной нормы. Связанный гемоглобин находится в комплексе, содержащем спектрин, анкирин и полосу 4.2, которые являются общими для одного из узлов цитоскелета. При этом он проявляет окислительно-восстановительную активность и способен связываться с лигандами. Доля мембраносвязанного гемоглобина может находиться в пределах 0,5-12%, что сопоставимо с относительным содержанием MetHb в крови большинства костистых рыб. Это позволяет предположить наличие ассоциации MetHb с мембранными структурами эритроцита у рыб. Проверке данного предположения и посвящена настоящая работа. В ней представлены результаты двух экспериментов: определения доли мембраносвязанного MetHb, оценки метгемоглобинредуктазной активности эритроцитов у морского ерша.

В условиях *in vitro* исследовали содержание мембраносвязанной фракции MetHb в ядерных эритроцитах морского ерша. Изучали спектральные характеристики цельного гемолизата, гемолизата после осаждения стромы (очищенный гемолизат) и ресуспензированной стромы. Установлено, что доля MetHb в строме эритроцитов превышала 80% (6,20±0,59 мкМ). Очищенные гемолизаты практически не содержали MetHb (0,5±0,2 мкМ). Присутствие мембраносвязанной ферри-формы не влияло на устойчивость эритроцитов к осмотическому шоку. Пределы осмотической стойкости, определенные при помощи лазерного анализатора микрочастиц LaSca-ТМ (BioMedSystems, Россия), (102-136 мОсм кг⁻¹) совпадали с отмеченными для других видов костистых рыб. Нитритная нагрузка (10 мг л⁻¹) вызывала значительный рост содержания MetHb в крови. Однако уровень мембраносвязанной ферри-формы при этом существенно не изменялся и составлял 6,34±1,09 мкМ (около 95%). Это свидетельствует о функциональной целесообразности ее присутствия в данной

структуре. Наличие MetHb в цитоплазматической мембране ядерных эритроцитов, по-видимому, позволяет клеткам нейтрализовать внешнюю окислительную нагрузку и токсическое действие сероводорода в придонных слоях воды, в которых обитает морской ерш.

На примере *Scorpaena porcus* (Linnaeus, 1758) предложена также методика оценки метгемоглобинредуктазной активности ядерных эритроцитов костистых рыб. В условиях эксперимента *in vitro* эритроцитарную взвесь данного вида взвешивали в растворах с различной концентрацией NaNO_2 , после отмывки от данного соединения изучали процесс восстановления MetHb на протяжении 150 мин. О функциональном состоянии гемоглобина судили по результатам спектрального анализа. Изучение кинетики восстановления MetHb показало, что зависимость хорошо описывалась уравнением экспоненциальной функции при коэффициенте детерминации (R^2) более 0,9. Характер зависимости сохранялся при различных уровнях окислительной нагрузки. Это позволило рассчитать константу скорости первого порядка k (25 °C). У данного вида она составила $5.75\text{-}6.45$ (10^{-3}) мин^{-1} . Установлено, что MetHb-редуктазная активность ядерных эритроцитов морского ерша повышалась при увеличении окислительной нагрузки. При концентрации NaNO_2 6,0 mM она составляла $1,73 \pm 0,21$ $\mu\text{M MetHb мин}^{-1} \text{ г}^{-1} \text{ Hb}$.

Работа выполнена при поддержке проекта РНФ № 23-24-00061.

ВЛИЯНИЕ ЗАМОРАЖИВАНИЯ-ОТТАИВАНИЯ НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГЕМОГЛОБИНА С ЛИПОСОМАМИ И РАСТВОРОВ СОЛИ И СРОКОВ ХРАНЕНИЯ НА СТРУКТУРУ ГЕМОГЛОБИНА

Effect of Freezing-thawing on the Interaction Hemoglobin with Liposomes and Salt Solutions and of Storage on the Hemoglobin Structure

Тимченко Н.Н., Шупова Е.В.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, timchenko_n@list.ru

Несмотря на хорошую изученность гемоглобина его продолжают изучать [1]. В проблемах консервирования крови важным является изучение вопроса криоповреждения гемоглобина. Концентрирование солевых растворов при вымерзании воды является одним из основных факторов криоповреждения белков. К настоящему времени накоплен значительный объем оригинальных исследований, посвященных изучению влияния этого фактора на белки. Гемоглобин может находиться в нескольких формах в зависимости от валентности гема и наличия в молекуле лиганда. Так, деокси-гемоглобин (восстановленный) имеет железо со степенью окисления +2 и, как показано с помощью метода дифракции рентгеновских лучей, 6-я валентность этого железа свободна. При присоединении к нему кислорода образуется оксигенированная форма гемоглобина (феррогемоглобин). Деокси-гемоглобин может также реагировать с CO и NO с образованием соответственно карбокси- и нитрогемоглобина. При действии на гемоглобин ряда окислителей (феррицианид калия, нитриты, хиноны и др.) происходит окисление железа со степенью окисления +2 до железа со степенью окисления +3 с образованием метгемоглобина (ферригемоглобина), не способного к переносу кислорода. В зависимости от pH среды различают кислую и щелочную формы гемоглобина, содержащие в качестве 6-го лиганда соответственно молекулу воды или гидроксид-ион; мет-гемоглобин способен реагировать с рядом лигандов, образуя соответствующие виды гемоглобинов. Присоединение кислорода к деокси-гемоглобину и превращение в другие производные сопровождаются характерными изменениями спектра поглощения в видимой области. Общим свойством спектров всех производных гемоглобина является наличие интенсивной полосы в области 400-420 нм с миллиэквивалентным коэффициентом светопоглощения от 120 до 190. Эту полосу называют полосой Soret. Возникновение её обусловлено переносом электронов в порфириновой структуре. Другие особенности спектра зависят от того, в какой валентности находится железо гема и в каком оно состоянии – низко- или высокоспиновом. Гемоглобин можно представить в виде системы, в которой составляющие его компоненты подвергаются обратимой модификации в результате специфического взаимодействия друг с другом. Свойства его изолированных частей гема, глобина, отдельных цепей глобина очень отличаются от тех, которыми они обладают в молекуле гемоглобина. Гем в отсутствие глобина не способен присоединять кислород. Лишь сочетание с глобином меняет его свойства, превращая трудно растворимый и химически инертный гем в хорошо растворимую форму, способную обратимо присоединять кислород. В свою очередь гем оказывает большое влияние на химические и физико-химические свойства глобина. При сочетании гема с альфа- и бета-цепями глобина происходит изменение их конформации и возникает специфическая для них вторичная и третичная структура. Это обуславливает объединение содержащих гем полипептидных цепей с образованием нативной четвертичной структуры молекулы гемоглобина. Определяя методом гель-хроматографии распределение белков по молекулярным массам в растворах с различной концентрацией NaCl, установили, что положение максимумов на кривых фракционирования свежих растворов HbA в 1,5M NaCl соответствует одной и той же фракции - 64 кД. При фракционировании свежих растворов HbA в 1,9M NaCl положение максимума для HbA не изменяется. Сохраняется тетрамерная структура молекулы гемоглобина. При аналогичных исследованиях растворов гемоглобина при увеличении сроков хранения от 1 до 5 дней при +4 градусах Цельсия появление фракций с молекулярным весом 36 кДа наблюдается при 2M NaCl, что соответствует результатам для свежих растворов

гемоглобина. Гемоглобин распадается на димеры. Таким образом, увеличение сроков хранения растворов гемоглобина не приводит к меньшей устойчивости гемоглобина к действию концентрированных растворов солей. По-видимому, это связано с тем, что с течением хранения растворов гемоглобина увеличивается содержание деокси- и мет-гемоглобина за счёт уменьшения содержания оксигемоглобина. Способность гемоглобина диссоциировать на димеры увеличивается при обработке гемоглобина одним молекул ПМБ (меркурия бензоата), модифицирующим SH-остаток цистеина F9(93) β , находящийся вблизи от $\alpha_1\beta_2$ -контакта [2]. Проведено исследование влияния замораживания до -196 градусов Цельсия и оттаивания на взаимодействие гемоглобина с липосомами. Определено, что замораживание-оттаивание не оказывает существенного влияния на взаимодействие гемоглобина с липосомами.

1. Kara O., Soysal P., Kiskac M. et al. Investigation of optimum hemoglobin levels in older patients with chronic kidney disease // Aging Clinical and Experimental Research, 2022, vol. 34, pp. 3055-3062.

2. Эйхгорн Г. Неорганическая химия. М.: Мир, 1978, т.2, 736 с.

ГИБРИДНЫЕ БИОКАТАЛИЗАТОРЫ НА ОСНОВЕ ФЕРМЕНТОВ В КОМПЛЕКСАХ С НАНО- И МИКРОМАТЕРИАЛАМИ

Hybrid Biocatalysts Based on Enzymes in Complexes with Nano- and Micromaterials

Холявка М.Г.^{1,2}, Гончарова С.С.¹, Редько Ю.А.¹, Лавлинская М.С.¹, Сорокин А.В.¹, Кондратьев М.С.^{1,3},
Артюхов В.Г.¹

¹ Воронежский государственный университет, г. Воронеж, РФ, holyavka@rambler.ru

² Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

³ Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», г. Пущино, РФ

Ферменты являются экологически чистыми биокатализаторами, широко используемыми в различных отраслях промышленности и медицине. Однако их масштабное внедрение сталкивается с такими проблемами, как нестабильность молекул ферментов в различных условиях, что приводит к снижению эффективности, высокой стоимости и ограничению возможности повторного использования биокатализатора. Потенциальным решением названной проблемы может стать иммобилизация ферментов с использованием нано- и микроматериалов в качестве носителей, которая повысит стабильность ферментов по отношению к действию температур, растворителей, экстремальных значений pH среды, загрязняющих веществ и примесей [1, 2]. Таким образом, работы в области иммобилизации ферментов востребованы как в научном сообществе, так и в промышленном секторе. На данный момент основная цель иммобилизации ферментов не ограничивается исключительно возможностью повторного использования и повышения их стабильности. В настоящее время иммобилизация выступает как мощный инструмент для модуляции различных свойств ферментов, улучшения характеристик биокатализаторов и повышения производительности биореакторов [3]. Материалы, используемые для разработки новых типов гибридных биокатализаторов, включают синтетические полимеры, наноматериалы на основе углерода, магнитные микро- и наночастицы, наночастицы металлов и оксидов металлов, металлоорганические каркасы, наноразмерные мезопористые органические каркасы, нано- и микроматериалы на основе белков, липидов и полисахаридов [4].

Комплексы ферментов с микро- и наночастицами биополимеров представляют собой гибридную, но при этом гомогенную форму, преимуществом которой является способность катализатора избирательно увеличивать скорость реакций. Селективность гомогенной формы значительно выше по сравнению с гетерогенной формой и достигает 70–95 %. При создании таких комплексов важно учитывать сродство между функциональными группами фермента и носителя. Кроме того, матрица носителя не должна оказывать отрицательного воздействия на структуру фермента и нарушать его работу.

Нами были получены микро- и наночастицы среднемолекулярного и высокомолекулярного хитозанов и карбоксиметилхитозанов без и с добавлением аскорбиновой кислоты. Разработаны методики получения комплексов этих микро- и наночастиц с растительными протеазами – фицином, папаином и бромелином [5]. Показано, что активность комплексов цистеиновых протеаз с микро- и наночастицами карбоксиметилхитозана оказалась выше по сравнению с комплексами ферментов с микро- и наночастицами немодифицированного хитозана.

Комплексы фицина, папаина, бромелина с микро- и наночастицами хитозана и карбоксиметилхитозана, полученными с добавлением аскорбиновой кислоты, показали более высокие значения протеолитической активности, чем комплексы с частицами полисахаридов, полученные без ее добавления.

С помощью молекулярного докинга установлено, что аминокислотные остатки фицина, папаина, бромелина взаимодействуют с хитозаном и карбоксиметилхитозаном в основном путем образования водородных связей и ван-дер-ваальсовых взаимодействий. В образовании комплексов участвуют аминокислотные остатки, входящие в активный центр ферментов, что, вероятно, способствует повышению стабильности и активности цистеиновых протеаз в составе комплексов с микро- и наночастицами хитозана и карбоксиметилхитозана.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект № 21-74-20053

1. Холявка М.Г., Артюхов В.Г. Имобилизованные биологические системы: биофизические аспекты и практическое применение (учебное пособие). Воронеж: Издательский дом ВГУ, 2017, 261 с.
2. Холявка М.Г., Наквасина М.А., Артюхов В.Г. Практикум по биотехнологии: иммобилизованные биологические объекты в системе лабораторных работ. Воронеж: Издательский дом ВГУ, 2017, 161 с.
3. Artyukhov V.G., Holyavka M.G., Kovaleva T.A. Structural and functional properties of inulinases. Ways to regulate their activity // *Biophysics*, 2013, vol. 58, no 4, pp. 493-501, doi: 10.1134/S0006350913040039.
4. Holyavka M.G., Goncharova S.S., Redko Y.A. et al. Novel biocatalysts based on enzymes in complexes with nano and micromaterials // *Biophysical Reviews*, 2023, vol. 15, pp. 1127-1158, doi: 10.1007/s12551-023-01146-6.
5. Ol'shannikova S.S., Red'ko Yu.A., Lavlinskaya M.S. et al. Preparation of papain complexes with chitosan microparticles and evaluation of their stability using the enzyme activity level // *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2022, vol. 55, no. 11, pp. 1240-1244, doi 10.1007/s11094-022-02564-8.

РАЗДЕЛЕНИЕ СПЕКТРА ПОГЛОЩЕНИЯ ВОДНОГО ЭКСТРАКТА МИКРОВОДОРОСЛИ *ARTHROSPIRA (SPIRULINA) PLATENSIS* NORTH. GEITL.

Decomposition of the Absorption Spectrum of Aqueous Extract of Microalgae *Arthrospira (Spirulina) Platensis* North. Geitl.

Чернышев Д.Н.¹, Клочкова В.С.^{1,2}

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, chernishev@gmail.com

² Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ

Решение задачи определения концентрации пигментов микроводорослей и разделение смеси пигментов представляет интерес как практическом так в и теоретическом плане. В преобладающем большинстве исследований оценка концентрации пигментов определяется с помощью спектрофотометрии. Стандартная биохимическая методика [1] предполагает экстракцию фикобилиновых пигментов микроводорослей фосфатным буфером, центрифугирование и спектрофотометрирование проб с расчётом концентрации пигментов по известным экстинкциям. Такой подход позволяет оценить только те пигменты, максимумы поглощения которых не накладываются. Для решения этой задачи используют методы тонкослойной, жидкостной хроматографии, которые требуют специализированного оборудования и длительной подготовки проб.

Одним из методов количественного определения содержания пигментов в микроводорослях является разделение спектра экстракта на математические модели отдельных пигментов. В ряде работ [2,3] предложено использовать сумму кривых нормального распределения для моделирования поглощения каждого пигмента. Каждый отдельный пик был описан выражением:

$$D(\lambda) = D_{\max} e^{-0,5 \left(\frac{\lambda_i - \lambda_{\max}}{\sigma} \right)^2},$$

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

Объектом исследования в работе являлась цианопрокариота *Arthrospira (Spirulina) platensis* North. Спектры поглощения культуры регистрировались в диапазоне от 400 до 750 нм с шагом 0,5 нм на двухлучевом спектрофотометре Lambda 365 Double Beam UV-Visible (производитель: Perkin Elmer, Индия), который оснащён интегрирующей сферой (ИС) диаметром 60 мм (внешнее покрытие – BaSO₄). Спектры поглощения экстрактов регистрировались в диапазоне от 400 до 750 нм на спектрофотометре Unicо в кварцевых 1 см кюветах в диапазоне длин волн 400-800 нм с шагом 0,5 нм.

В представленной работе было выполнено разложение и анализ перекрывающихся полос пигментов в спектре поглощения водного экстракта методом приближения с применением табличного процессора MS Excel. Была реализована надстройка «Поиск решения». Оптимизации подвергалась целевая функция, а именно сумма квадратов отклонений, (должна была стремиться к нулю), поиск решения проводился методом общего понижающего градиента (ОПГ)

Было проведено описание спектров поглощения С-ФЦ и АФЦ в фосфатном буфере по литературным данным [4] алгебраической суммой гауссиан в области от 400 до 750 нм. Полученные модели пигментов в чистом виде были использованы для разделения спектра экстракта на спектры отдельных пигментов, полученные значения концентрации пигментов хорошо согласуются со стандартными методами. Предложен метод математического разделения спектра поглощения водного экстракта в программе Microsoft Excel. Вычисления, выполняющие приближения концентраций пигментов путем минимизации суммы квадратов отклонений между истинным спектром поглощения и его математической моделью, выполнены при помощи табличного процессора с использованием инструмента «Поиска решения». Спектр поглощения экстракта приближали с помощью математической модели, в которой неизвестными параметрами являются концентрации С-ФЦ и АФЦ. Предложенный способ математической обработки спектра статистически не отличается от стандартной методики

и может быть использован как дополнительный метод определения концентрации пигментов в экстракте. Так же применение данного метода дает возможность наглядно оценить вклад отдельных пигментов в общий спектр.

1. Геворгиз Р.Г., Нехорошев М.В. Количественное определение массовой доли С-фикоцианина и аллофикоцианина в сухой биомассе *Spirulina (Arthrospira) platensis* North. Geitl. Холодная экстракция: учебно-методическое пособие / РАН, Ин-т морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского. – Севастополь, 2017, 21 с.

2. Стадничук И.Н. Фикобилипротеины. Москва: ВИНТИ, 1990, Т. 193.

3. Küpper H. et al. Reversible coupling of individual phycobiliprotein isoforms during state transitions in the cyanobacterium *Trichodesmium* analysed by single-cell fluorescence kinetic measurements // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 2009, vol. 1787, no. 3, pp. 155-167.

4. Boussiba S., Richmond A.E. Isolation and characterization of phycocyanins from the blue-green alga *Spirulina platensis* // *Archives of Microbiology*, 1979, vol. 120, pp. 155-159.

ДЕКОМПОЗИЦИЯ СПЕКТРА ПОГЛОЩЕНИЯ АЦЕТОНОВОГО ЭКСТРАКТА МИКРОВОДОРОСЛИ *PHAEODACTYLUM TRICOMUTUM*

Decomposition of the Absorption Spectrum of Acetone Extract of the Microalgae *Phaeodactylum tricornutum*

Чернышев Д.Н.¹, Клочкова В.С.^{1,2}

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, chernishev@gmail.com

² Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ

В настоящее время оценка пигментного состава микроводорослей одна из актуальных задач биотехнологии. В значительной части современных исследований для определения концентрации пигментов используются спектрофотометрические методы. Стандартная биохимическая методика [1] предполагает экстракцию пигментов микроводорослей ацетоном, центрифугирование и спектрофотометрирование проб с расчётом концентрации пигментов по известным экстинкциям и линейным уравнениям.

Одним из методов количественного определения пигментов в микроводорослях является разложение спектра экстракта на математические модели отдельных пигментов. В литературе [2] предложено использовать сумму кривых нормального распределения для описания поглощения каждого пигмента. Отдельный пик был описан выражением:

$$D(\lambda) = D_{\max} e^{-0,5 \left(\frac{\lambda_i - \lambda_{\max}}{\sigma} \right)^2},$$

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

В настоящей работе была выполнена декомпозиция спектра поглощения ацетонового экстракта методом приближения с использованием табличного процессора MS Excel и надстройки «Поиск решения». Оптимизировалась целевая функция, а именно сумма квадратов отклонений, (стремящаяся к нулю). Поиск значений проводился методом ОПП (общего понижающего градиента).

Объектом исследования в работе являлась морская диатомовая микроводоросль *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin 1898. Спектры поглощения культуры регистрировались в диапазоне от 400 до 750 нм с шагом 0,5 нм на двухлучевом спектрофотометре Lambda 365 Double Beam UV-Visible (производитель: Perkin Elmer, Индия), который оснащён интегрирующей сферой (ИС) диаметром 60 мм (внешнее покрытие – BaSO₄). Спектры поглощения экстрактов регистрировались в диапазоне от 400 до 750 нм на спектрофотометре Unicо в кварцевых 1 см кюветках в диапазоне длин волн 400-800 нм с шагом 0,5 нм.

Было проведено описание спектров поглощения ацетонового экстракта суммой моделей следующих пигментов: хлорофилл а, хлорофилл с, бета-каротин, фукоксантин, диатиноксантин [2] в области от 400 до 750 нм. Предложен метод математического разделения спектра поглощения ацетонового экстракта в программе Microsoft Excel. Вычисления проводились путем минимизации суммы квадратов отклонений между истинным спектром поглощения и его математической моделью. Спектр поглощения экстракта приближали с помощью математической модели, в которой неизвестными параметрами являются концентрации вышеприведенных пигментов. Предложенный способ математической обработки спектра статистически не отличается от стандартной методики и может быть использован как дополнительный метод определения концентрации пигментов в экстракте. Так же применение данного метода дает возможность наглядно оценить вклад отдельных пигментов в общий спектр.

1. Carreto J.I., Catoggio J.A. An indirect method for the rapid estimation of carotenoid contents in *Phaeodactylum tricornutum*: Possible application to other marine algae // *Marine Biology*, 1977, vol. 40, pp. 109-116.

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

ИЗМЕНЕНИЕ ПРОВОДИМОСТИ ВОДНЫХ ДВУХКОМПОНЕНТНЫХ РАСТВОРОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЗАРЯДОВ ЛИГАНДОВ

Change in the Conductivity of Aqueous Bicomponent Solutions Depending on the Ligands Charges

Шупова Е.В.

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

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

Посредством кондуктометра Profiline Cond 3110 WTW были получены значения удельной электропроводности с помощью кондуктометрического титрования для двухкомпонентных водных растворов лигандов с противоположными зарядами. В рамках кондуктометрического титрования была получена удельная электропроводность при различных концентрациях для водных растворов следующих пар лигандов: флавиномононуклеотид-метиленовый голубой, флавиномононуклеотид-профлавин, флавиномононуклеотид-бромистый этидий, хлорофиллин-профлавин и хлорофиллин-бромистый этидий [1].

Наблюдалось значительное и нелинейное изменение проводимости исследуемых двухкомпонентных растворов лигандов.

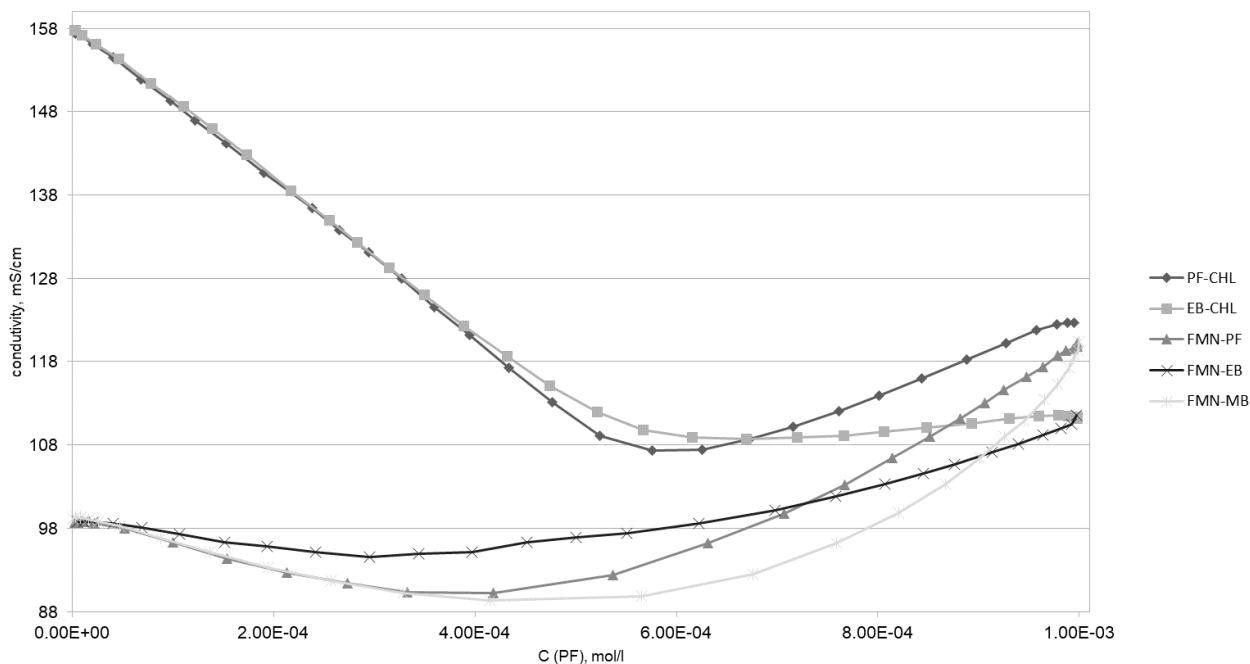


Рисунок 1. Изменение удельной электропроводности двухкомпонентных водных растворов лигандов с противоположными зарядами в зависимости от соотношения их концентраций

На малых концентрациях двухкомпонентных водных растворов лигандов исследовалось их комплексообразование с учетом зарядов разного знака посредством метода кондуктометрии [2]. Были сняты значения удельной электропроводности на различных концентрациях исследуемых лигандов водных растворов.

Исходя из полученных зависимостей можно сделать вывод, что проводимость в растворе смеси непосредственно зависит от зарядов лигандов и соотношения их концентраций. Полученные зависимости позволяют сделать вывод о наличии процессов агрегации и кулоновского взаимодействия лигандов между собой.

1. Кнорре Д. Г., Мызина С. Д. Биологическая химия, М: Высшая школа, 2000, 479 с. ISBN 5060037207.
2. Atkins P. W., de Paula J. Physical Chemistry. Oxford University Press, 2006. ISBN 0-19-870072-5.

СЕКЦИЯ 2. МОДЕЛИРОВАНИЕ В БИОФИЗИКЕ И БИОИНФОРМАТИКА

МОДЕЛИРОВАНИЕ СЕТЕВОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ СТРУКТУРЫ ГЛУТАМАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Modeling the Network Activity of Neurons in Glutamate Receptors Structure Changes

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

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

Глутаматные рецепторы гиппокампа опосредуют быструю возбуждающую синаптическую передачу в центральной нервной системе и регулируют широкий спектр процессов [1]. Индуцированные различными факторами мутации в структуре рецепторов приводят к изменению их свойств и поведения в нейронной сети.

В результате оксидативного стресса в структуре глутаматных рецепторов а.о. триптофан с наибольшей вероятностью заменяется на молекулу 5-гидрокси-L-триптофан (HRP-лиганд в базе PDB) [2]. В данной работе моделирование сетевой активности нейронов с поврежденными глутаматными рецепторами проводилось в двух этапах. Сначала было проведено молекулярно-динамическое моделирование рецепторов AMPA и NMDA, содержащих модифицированные аминокислотные остатки триптофана. На основе сравнительного анализа динамики радиусов ионных каналов поврежденного и нативного форм рецепторов было определено соотношение проводимостей рецептора $g = G/G_{base}$, где G – проводимость ионного канала поврежденного рецептора, G_{base} – проводимость ионного канала нативного рецептора. Визуализация ионного канала была произведена при помощи пакета HOLE v2.2.005. Геометрия соответствующего ионного канала построена в результате 100 нс динамики молекулярной системы. Таким образом, нами получено соотношение проводимости модифицированного глутаматного рецептора к проводимости исходного (нативного) рецептора: $g[Trp607Hrp] = 0,760$ и $g[Trp752Hrp] = 0,603$ – для рецептора NMDA; $g[Trp606Hrp] = 1,097$ – для рецептора AMPA. Полученные данные о проводимости модифицированных каналов рецепторов позволили произвести оценку влияния повреждений на динамику модели нейронной сети [3].

Во втором этапе вычислен локальный потенциал нейронной популяции и спектр мощности сигнала ЭЭГ с помощью кода NEURON из модели [3], где необходимые параметры ионного канала рецепторов были изменены в соответствии с полученными данными о проводимости ионных каналов рецепторов.

Ионные токи глутаматных рецепторов в модели нейронной сети [3] представлены в виде:

$$I_{NMDA} = \frac{G_{NMDA} P(V_{pre})(V - V_e)}{1 + \frac{[Mg^{2+}]}{K_d} \exp[-qV]}, \quad (1)$$

$$I_{AMPA} = G_{AMPA}(V - V_e), \quad (2)$$

где G_{NMDA} – максимальная проводимость рецептора NMDA для определенного типа иона, в нашем случае токи иона Na^+ , G_{AMPA} – максимальная проводимость рецептора AMPA, P – вероятность открытия канала в зависимости от пресинаптического потенциала V_{pre} и макроскопическая кинетика состояний рецептора, V – постсинаптический мембранный потенциал с равновесным напряжением V_e , q – феноменологическая константа, отражающая электрохимические свойства [4], K_d – константа диссоциации [5].

В серии работ по моделированию сетевой активности нейронов с различными формами глутаматных рецепторов с применением предложенного ранее модельного подхода [6], нами было показано влияние геометрии канала на свойства нейронной сети гиппокампа. В ходе настоящего исследования были определены значения коллективных ритмов (тета и гамма) нейронной сети гиппокампа при модификации триптофана в рецепторах и выявлены изменения локального потенциала нейронной популяции модели в зависимости от локализации повреждения.

1. Traynelis S.F., Wollmuth L.P., McBain C.J., et al. Glutamate Receptor Ion Channels: Structure, Regulation, and Function // *Pharmacol Rev.*, 2010, vol. 62 (3), pp. 405-496, doi:10.1124/pr.109.002451.
2. Sahoo N., Hoshi T., Heinemann S.H. Oxidative Modulation of Voltage-Gated Potassium Channels // *Antioxid. Redox. Signal.*, 2014, vol. 21 (6), pp. 933-952, doi: 10.1089/ars.2013.5614.
3. Neymotin S.A. et al. Ketamine disrupts theta modulation of gamma in a computer model of hippocampus // *J. Neurosci.*, 2011, vol. 31, pp. 11733-11743, doi: 10.1523/jneurosci.0501-11.2011.
4. Jahr C.E., Stevens C.F. A quantitative description of NMDA receptor-channel kinetic behavior // *J. Neurosci.*, 1990, vol. 10 (6), p. 1830-1837, doi: 10.1523/jneurosci.10-06-01830.1990.
5. Fedele L., Newcombe J., Topf M. et al. Disease-associated missense mutations in GluN2B subunit alter NMDA receptor ligand binding and ion channel properties // *Nat. Commun.*, 2018, vol. 9, p. 957.

6. Аксенова С.В., Батова А.С., Бугай А.Н., Душанов Э.Б. Влияние оксидативного стресса на функционирование глутаматных рецепторов гиппокампа // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2023, т. 8, № 2, с. 151-158.

TUNING A PID CONTROLLER IN A CSTR USING DEEP NEURAL NETWORKS

Arzola Flores J.A., Gallardo G.A., Garcia Castro M.A., Savinon Flores M.F., Hernandez Santiago A.A.
Meritorious Autonomous University of Puebla, Puebla, Mexico

Currently, process control in the chemical industry is largely dominated by Proportional Integral Derivative (PID) controllers, which have proven to be highly important due to their ease of implementation. However, PID controllers can fail under nonlinear disturbances, which can lead to inadequate control of process variables. Today, thanks to the development of artificial intelligence, it is possible to use neural network-based tools to tune PID controllers in real-time so that they can respond appropriately under different types of disturbances. In the present work, the use of deep neural networks for tuning a PID controller for concentration control in a Continuous Stirred Tank Reactor (CSTR) is demonstrated. A reactor with two input streams and one output stream was considered, and a second-order chemical reaction was used as the model. As performance metrics for the deep neural network, the coefficient of determination, root mean squared error, and mean absolute error were used.

1. Borase R.P., Maghade D.K., Sondkar S.Y., Pawar S.N. A review of PID control, tuning methods and applications // International Journal of Dynamics and Control, 2021, vol. 9, pp. 818-827.
2. Dubey V., Goud H., Sharma P.C. Role of PID control techniques in process control system: a review // Data Engineering for Smart Systems: Proceedings of SSIC, 2021, pp. 659-670.
3. Fogler H.S., Cutlip M.B. Chemical Reaction Engineering (CRE) Education: From the Era of Slide Rule to the Digital Age. In Proceedings of the 2008 AIChE Centennial Topical Conference on Education.
4. Samek W., Montavon G., Lapuschkin S. et al. Explaining deep neural networks and beyond: A review of methods and applications // Proceedings of the IEEE, 2021, vol. 109 (3), pp. 247-278.

ПЛАЗМИДНЫЙ ПАРАДОКС: ОЦЕНКА ПОПУЛЯЦИОННОЙ «СТОИМОСТИ ПРИСПОСОБЛЕННОСТИ» ТРАНСГЕННЫХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ Plasmid Paradox: Assessment of Population "Fitness Cost" of Transgene Strains of Microorganisms

Брильков А.В., Дегерменджи А.Г., Брилькова Е.В.
Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, РФ, anatoly.brilkov@yandex.ru
Институт биофизики СО РАН, г. Красноярск, РФ, ibp@ibp.ru

Для прогнозирования сохранения и распространения трансгенных микроорганизмов в различных природных экосистемах и, в целом, экологических последствий интродукции, необходимым этапом является их лабораторное культивирование. Это позволяет изучать закономерности выживания трансгенных микроорганизмов в определенных экологических условиях с учетом различных характеристик трансгенных штаммов, например, стабильности плазмид в новых клетках, «популяционной стоимости» поддержания конъюгативных и неконъюгативных плазмид, эффективности экспрессии клонированных на плазидах генов и других.

Известный «плазмидный парадокс» состоит в том, что, хотя обычно присутствие плазмид, содержащих клонированные гены, снижает удельную скорость роста популяции трансгенных бактерий, при длительном росте бактерий в неселективных условиях (так называемая «экспериментальная эволюция», 20-30 или более генераций исходной формы) стоимость приспособленности снижается на порядок-два. Это, например, хорошо показано на плазидах резистентности к антибиотикам у клинических изолятов, причем трансгенные штаммы содержали как конъюгативные, так и неконъюгативные плазмиды с необходимыми делециями обозначенных оперонов, при разных температурах, в новых штаммах бактерий, при разной копийности и экспрессии клонированных на плазидах генов и т. д.

Селективное преимущество бесплазмидных клеток по сравнению с плазмидсодержащими трансгенными бактериями («давление отбора») оценивается по разнице удельных скоростей размножения трансгенной и бесплазмидной популяций [1]. Часто используемый и близкий по смыслу параметр «стоимость приспособленности» («fitness cost»), тем не менее, отличается от классического определения селективного преимущества. Дело в том, что классическое «давление отбора» («селективный коэффициент») оценивается при экспоненциальном размножении микробных популяций r -стратегов. Популяционная же «стоимость приспособленности» («fitness cost») определяется по динамике численностей этих популяций в конкурентных экспериментах при последовательных пересевах («transfer») в смешанной периодической культуре плазмидных

и бесплазмидных клеток бактерий (эта величина после известных экспериментов Р. Ленски 1990-х годов так и определяется). Очевидно, что экспрессия клонированных генов влияет на скорость размножения бактерий и, следовательно, на их приспособленность и, таким образом, ее необходимо учитывать в процессе оценки популяционной «стоимости» и динамики приспособленности трансгенных бактерий при культивировании их в лабораторных и природных экосистемах.

1. Brockhurst M.A., Harrison E. Ecological and evolutionary solutions to the plasmid paradox // Trends Microbiol., 2022, vol. 30, no. 6, pp. 534-543.

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ МОЛЕКУЛЫ ДНК МОДЕЛИ ТОДА-ЛЕННАРДА-ДЖОНСА Research of the Dynamics of the DNA Molecule of the Toda-Lennard-Jones Model

Вологжин М.А., Краснобаева Л.А., Шаповалов А.В.

Томский государственный университет, г. Томск, РФ, *matvey.vologzhin@mail.ru*

Моделирование конформационных возбуждений в молекуле ДНК позволяет продвинуться в изучении фундаментальных закономерностей и механизмов биологического функционирования живых систем на клеточном уровне. Конформационные возбуждения в молекуле ДНК участвуют в таких важнейших процессах, как транскрипция, трансляция, денатурация и репликация.

В частности, протекание процесса репликации сопровождается разрывом водородной связи. Подобные разрывы называют открытым состоянием. У. Инглэндер в своей модели связывает понятие открытое состояние с таким математическим объектом как солитон [1].

В рамках настоящей работы будет исследована физическая модель молекулы ДНК, сформулированная В. Муто [2], которая образована потенциалом Toda и потенциалом Леннарда-Джонса. Данная модель, хотя и является двумерной, сохраняет основные особенности динамики, присущие объемным моделям конформационных возбуждений молекулы ДНК. Исследование двумерной модели существенно упрощается, что открывает возможности привлечения новых математических методов ее анализа.

Целью исследования служит нахождение открытого состояния, математический образ которого - солитон. В качестве используемого инструментария будут использованы методы вейвлет-анализа.

Авторами были поставлены следующие задачи:

1. Реализация динамики модели Toda-Леннарда-Джонса.
2. Использование дискретного вейвлет-преобразования (ДВП) для фильтрации шумов.
3. Применение непрерывного вейвлет-преобразования (НВП) для выявления солитонов.
4. Оценка скорости распространения открытого состояния.
5. Оценка алгоритмической сложности.

Нахождение/отсутствие солитонов в динамике этой модели позволит оценить границы её применимости в дальнейших исследованиях.

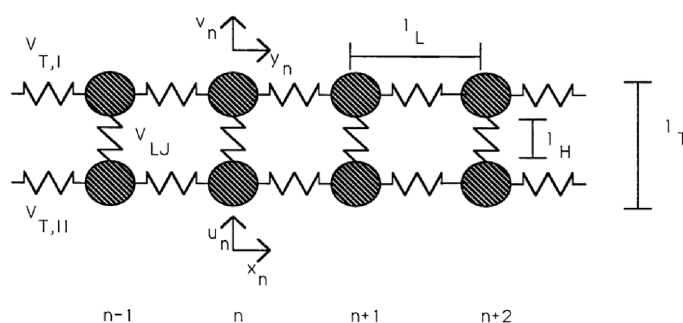


Рисунок 1. Графическое представление модели Муто

1. Englander S.W., Kallenbach N.R., Heeger A.J. et al. Nature of the Open State in Long Polynucleotide Double Helices: Possibility of Soliton Excitations // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1980, no. 12, pp. 7222-7226

2. Muto V., Lomdahl P.S., Christiansen P.L. Two-dimensional discrete model for DNA dynamics: Longitudinal wave propagation and denaturation // Physical Review A., 1990, no. 42, pp. 7452-7458.

**ПРИМЕНЕНИЕ ВЕЙВЛЕТ-АНАЛИЗА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ
ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ АКТИВНОСТЕЙ В ОСАДКАХ**
The Use of Wavelet Analysis to Study the Distribution of Hydrolytic Enzymatic Activities in Sediments

Гордеева Е.Л., Изотова С.А.

Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, г. Москва, РФ
Московский автомобильно-дорожный государственный технический университет (МАДИ), г. Москва, РФ,
Elena.Gordeeva311@yandex.ru

Продуцируемые микроорганизмами внеклеточные гидролитические ферменты активно действуют в компонентах экосистем, обеспечивая деструкцию высокомолекулярных органических соединений для последующей утилизации продуктов гидролиза. Моделирование распределения гидролитических ферментативных активностей с целью оценки связей величин активностей и параметров среды для выявления факторов, оказывающих наибольшее влияние на значения активностей, является достаточно сложной задачей, для решения которой для донных осадков Норвежского моря были использованы статистические методы [1].

Для выявления закономерностей пространственно-временного распределения ферментативных активностей в донных осадках и установления возможных связей с другими характеристиками осадков, а также с палеоклиматическими событиями в данном регионе, был использован аппарат вейвлет-анализа, широко применяющегося в настоящее время для анализа сигналов различной природы [2].

При анализе распределений амилазной и протеазной ферментативных активностей в колонках донных осадков Норвежского и Баренцева морей было использовано непрерывное вейвлет-преобразование, спектр коэффициентов которого $C(a, b)$ вычисляется по формуле:

$$C(a, b) = |a|^{-1/2} \int_{-\infty}^{+\infty} f(x) \Psi^*((x - b)/a) dx,$$

где x – пространственная координата (соответствует горизонту), a – масштабный коэффициент, определяющий величину растяжения вейвлета, b имеет размерность расстояния и определяет величину сдвига вейвлет-функции, символ * обозначает комплексное сопряжение. В качестве базисных функций были выбраны вейвлеты Морле.

На рисунке 1 показаны значения коэффициентов вейвлет-преобразования для протеазной активности, полученные на одной из станций в заливе Русская Гавань Северного острова Новой Земли в Баренцевом море. Мощность изученной колонки составила 580 см, что охватывает примерно 800 лет, с конца XII в. до наших дней. Отборы проб для анализов проводились через каждые 10 см.

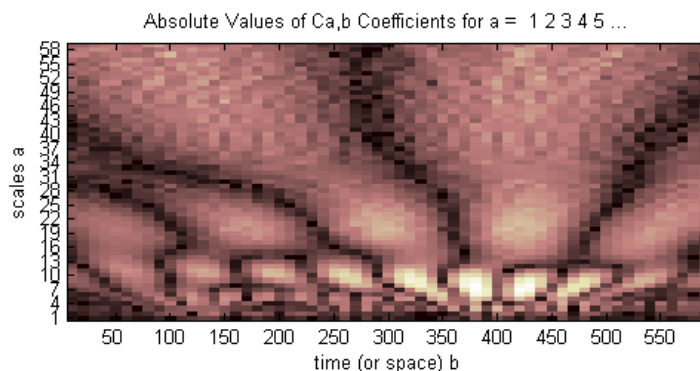


Рисунок 1. Вейвлет-спектрограмма распределения протеазной активности

На вейвлет-спектрограмме для протеазной активности наблюдается группа максимумов, соответствующих слою осадка от горизонта 330 см до 470 см. Возраст осадка в этой области изменяется от 1470 до 1350 [3]. В этот период произошло резкое увеличение скорости осадконакопления, связанное с выдвиганием ледника в акваторию Русской Гавани. Крупномасштабные минимумы соответствуют изменению типа осадка в колонке.

Таким образом, использование вейвлет-анализа позволило выявить локальные особенности распределений ферментативных активностей и обнаружить периодичности в данных.

1. Корнеева Г.А., Гордеева Е.Л. Гидролитические ферментативные активности в колонках донных осадков Норвежского моря и статистический анализ их распределения // Известия АН. Серия биологическая, 2004, № 1.
2. Астафьева Н.М. Вейвлет-анализ: основы теории и примеры применения // Успехи физических наук, 1996, т. 166, № 11.
3. Мурдмаа И.О., Иванова Е.В. и др. Малый ледниковый период в Русской Гавани (Северный Остров Новой Земли) // В сб. Актуальные проблемы океанологии. М.: Наука, 2003.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ПРОВЕРКА МОДЕЛИ ПЕРЕМЕЩЕНИЯ МАГНИТОМАРКИРОВАННЫХ КЛЕТОК НАД ПОВЕРХНОСТЬЮ ПЛЁНКИ С ПОЛОСОВОЙ ДОМЕННОЙ СТРУКТУРОЙ

Experimental Testing of the Model of Movement of Magnetic Marked Cells over the Surface of a Film with a Stripe Domain Structure

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

Донецкий государственный университет, г. Донецк, РФ, *gubarev_a_a@mail.com*

Возможность перемещения магнитомаркированных клеток привлекает большое внимание исследователей, см. например [1]. Клетка перемещается над поверхностью плёнки под действием поля создаваемого полосовой доменной структурой (ПДС) и внешнего поля, H^e . В простейшей модели [2] клетка движется на постоянной высоте $z = R + \Delta z$ над поверхностью плёнки, где R – радиус клетки, форма которой считается шаром, Δz – расстояние от плёнки до нижней, наименее удалённой от поверхности плёнки, точки клетки. (Величина Δz трактуется как величина на которую приподнята клетка над плёнкой в результате отталкивания специальным покрывающим слоем, препятствующим прилипанию клеток к плёнке. В случае полосовой доменной структуры рассматривается пространственно одномерная задача: движение вдоль оси лежащей в плоскости пленки и перпендикулярной стенкам доменов. На клетку, движущуюся над ПДС, действует сила со стороны градиентного магнитного поля ($\mu_0 \chi \nabla H^2 / 2$, где χ – восприимчивость материала клетки) и сила сопротивления среды по закону Стокса ($6\pi R \mu v$, где v – скорость клетки, μ – динамическая вязкость). Все величины, кроме Δz и χ известны с достаточно высокой точностью. Цель этой работы – проверить применимость модели, оценив по результатам эксперимента величину χ и измерив её экспериментально. В эксперименте для оценки величины χ были использованы колебания клетки под действием внешнего поля с постоянной величиной компоненты напряженности направленной перпендикулярно поверхности плёнки и с компонентой в виде знакопеременного меандра вдоль оси X .

На рисунке 1 символами приведены экспериментальные значения амплитуды и результаты моделирования для нескольких значений частоты H_x^e .

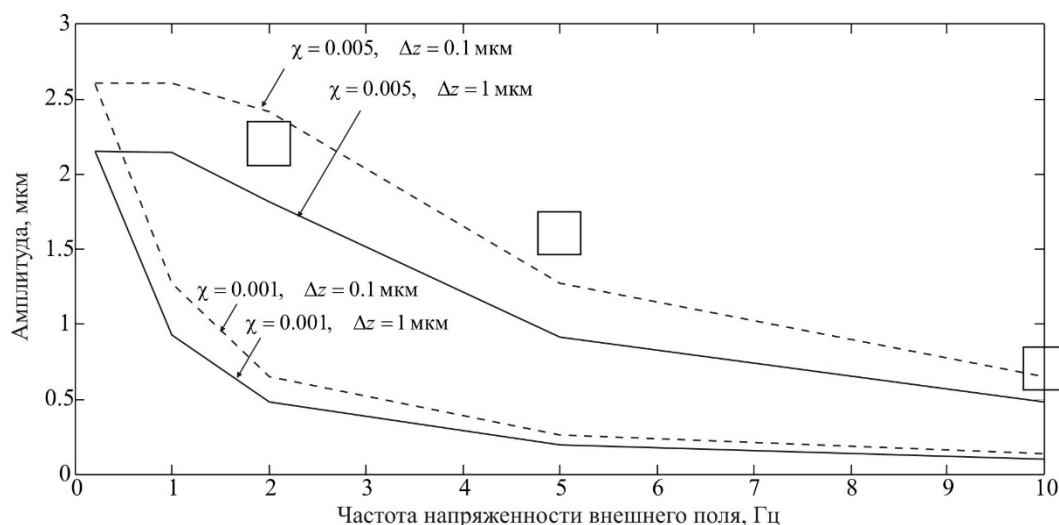


Рисунок 1. Зависимость амплитуды колебаний от частоты горизонтальной компоненты внешнего поля (H_x^e): символы – экспериментальные значения, линии — результаты моделирования для двух значений восприимчивости χ и двух значений Δz

Моделирование показало, что для параметров используемой в эксперименте плёнки амплитуды колебаний оказались более чувствительными к величине восприимчивости по сравнению с Δz . Оцененное по результатам моделирования значение восприимчивости 0.005 согласуется с экспериментально найденным значением. Это позволяет сделать вывод, что качественно модель [2] удовлетворительно описывает движение клеток над ПДС.

1. Leyva S.G., Stoop R.L., Pagonabarraga I., Tierno P. Hydrodynamic synchronization and clustering in ratcheting colloidal matter. // *Sci. Adv.*, 2022, vol. 8, eabo4546, pp. 1-8.

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

UNVEILING DNA 3D STRUCTURE FORMATION VIA QUANTUM MECHANICAL METHODS

Dominguez V., Deriabina A., Gonzalez E., Poltev V.I.

Meritorious Autonomous University of Puebla, Puebla, Mexico, verodguezbntz@gmail.com

As the core molecule of most living organisms, DNA can form an endless variety of three-dimensional (3D) structures. Previous Density Functional Theory (DFT) studies, carried out by our group, on the simplest fragments of a single DNA chain (deoxydinucleoside monophosphates, dDMPs) and double-stranded DNA (complementary dDMPs, cdDMPs) revealed that many key regularities of the 3D structure of Watson-Crick duplex (WCD) families—BI, BII, AI, and AII—are present in the local energy minima of dDMPs and cdDMPs. These findings indicate that the directionality of the sugar-phosphate backbone (SPB) and the characteristic ranges of its dihedral angles for these families, along with the differences in ring shapes between purines and pyrimidines, determine the 3D structure of WCDs based on base sequence. This conclusion is valid for the aforementioned WCDs but not for other DNA conformations crucial to genetic processes.

Recent studies have shown that the thousands of DNA fragments and DNA-protein complexes stored in the Nucleic Acid Knowledgebase (NAKB) exhibit a wide range of SPB torsion angles, different from those of the A and B families. As a continuation of our recent studies conducted, to understand the formation of these structures and their potential biological roles, we conducted DFT (PBE, PW91, M05-2X) and MP2 computations on minimal SPB fragments from selected conformational families, known as NtCs. The results indicate that these NtCs can be categorized into two groups: (a) NtCs classes with torsions of the sugar phosphate backbone close to those of the local energy minima of the separated SPB fragment and, (b) those that have SPB torsions very different from the energy minima for a separated SPB fragment. This classification of NtCs is fundamental to understanding the formation regularities observed in cdDMPs fragments, which differ from those of “canonic” WCD. In addition, it has been found that the classes considered can vary a certain set of torsion angles and thus change to a conformation of another NtC without affecting the stability of the double helix.

The authors thankfully acknowledge computer resources, technical advice and support provided by Laboratorio Nacional de Supercómputo del Sureste de México (LNS), a member of the CONACYT national laboratories.

1. Poltev V., Anisimov V. M., Dominguez V. et al. Biologically important conformational features of DNA as interpreted by quantum mechanics and molecular mechanics computations of its simple fragments // *Journal of Molecular Modeling*, 2018, vol. 24, no. 46, doi: 10.1007/s00894-018-3589-8.
2. Poltev V., Anisimov V.M., Dominguez V. et al. Understanding the origin of structural diversity of DNA double helix // *Computation*, 2021, vol. 9, no. 9, doi: 10.3390/computation9090098.
3. Poltev V., Dominguez V., Ruiz A. et al. The Amazing DNA Macromolecule: Computer Modeling of its 3D Structure and the Diversity of Watson–Crick Conformations in the Duplex // *Biophysics*, 2023, vol. 68, no. 2, doi: 10.1134/S0006350923020185.
4. Lawson C.L., Berman H.M., Chen L. et al. The Nucleic Acid Knowledgebase: a new portal for 3D structural information about nucleic acids // *Nucleic acids research*, 2024, vol. 52, issue D1, doi: 10.1093/nar/gkad957.
5. Černý J., Božíková P., Svoboda J., Schneider B. A unified dinucleotide alphabet describing both RNA and DNA structures // *Nucleic acids research*, 2020, vol. 48, no. 11, doi: 10.1093/nar/gkaa383.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ИММУНОИНФОРМАТИКИ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ СУБЪЕДИНИЧНОЙ ВАКЦИНЫ-КАНДИДАТА ПРОТИВ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ

Application of Immunoinformatics Methods for the Development of a Candidate Subunit Vaccine Against African Swine Fever Virus

Ивановский А.С., Тимофеев В.И., Марченкова М.А., Писаревский Ю.В.

НИЦ «Курчатовский институт», г. Москва, РФ, a.Iwanowskiy@gmail.com

В настоящее время в связи с активным развитием как вычислительной, так и алгоритмических частей информатики, появилась возможность предсказывать структуры, свойства и взаимодействия между собой биологических объектов на основе классических алгоритмов, анализа больших данных и глубоких нейросетей, образовав новую дисциплину - *биоинформатику*. В частности, был разработан ряд сервисов и алгоритмов для предсказания иммунологических свойств полипептидов, предсказания частей предполагаемых патогенов, распознающихся клетками иммунной системы – эпитопов, предсказания иммунного ответа модельного организма на помещение в него предполагаемого иммуногенного пептида.

Проводимое исследование направлено на интеграцию вычислительных методов на этапе лабораторных исследований вакцин-кандидатов, для более рационального синтеза и исследования предполагаемых субъединиц. В частности, коллегами был предложен объект *вируса африканской чумы свиней (ВАЧС)* –

высококонтрагиозный и смертоносный вирус, приводящий к высоким уровням смертности в домашних популяциях свиней. По данным ВОЗ, за 2019 год от вируса африканской чумы свиней погибло порядка 5 млн животных, что несет существенный экономический ущерб.

В настоящей работе представлен анализ результатов, исцелованных ранее субдоменов трансмембранного белка африканской чумы свиней CD2 [1,2], на основе разработанного ранее алгоритма [3]. Предсказанная структура белка CD2v была исследована на наличие надмембранных доменов с наибольшей концентрацией эпитопов для дальнейшего использования в виде вакцин-кандидатов. Был предсказан надмембранный домен, представляющий собой два богатых эпитопами субдомена, после чего были исследованы каждый субдомен по отдельности и весь домен целиком.

После чего на основе предсказанных ранее субдоменов, с использованием глубокой нейронной сети архитектуры трансформер – AlphaFold2 смоделированы пространственные структуры трех прототипов вакцины. Повторно предсказаны конформационные (пространственные) эпитопы, а также исследованы иммунологические свойства предсказанных ранее Т-линейных эпитопов, а именно: иммуногенность, аллергенность, токсичность и консервативность всех предсказанных антигенных детерминант к другим известным вариантам вируса АЧС. Для эпитопов, целевая метрика предсказания аллергенности или токсичности превысила допустимое значение, были произведены аминокислотные замены, после чего проведено повторное предсказание структуры и эпитопов.

На следующем этапе, для каждой из предполагаемой вакцины-кандидата были проведены расчеты структурной стабильности в водно-солевом растворе методом молекулярной динамики при помощи программного пакета Gromacs. Силовое поле AMBER99SB-ILDN использовали с моделью воды TIP3P и добавлением 0,15 М KCl к системе. Чтобы расслабить структуру была проведена минимизация энергии с шагом 1 фс до значения 1000,0 кДж/моль/нм. После чего давление и температура системы были уравновешены до 1 атм и 310 К, путем запуска моделирования при постоянстве объема и постоянстве температуры (100 пс каждый). Продуктивное 200 нс моделирование МД проводилось в изотермическо-изобарическом ансамбле с временным шагом 2 фс. Показано, что каждый из субдоменов сохраняет структурную стабильность на всем временном отрезке моделирования.

С использованием программного пакета симуляции клеточного ответа модельного организма C-ImmSim, проведена иммуносимуляция ответа на инъекцию в него вакцины-кандидата на 1 и 25 дни моделирования. Результаты симуляции показали возможность вакцин-кандидатов вызывать как яркий первичный иммунный ответ, так и стойкий вторичный иммунный ответ.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования (грант № 075–15-2024-637), а также в рамках выполнения государственного задания НИЦ “Курчатовский институт”.

1. Колесников И.А., Тимеофеев В.И., Ермаков А.В. и др. Поиск потенциальных эпитопов в оболочечном белке вируса африканской чумы свиней // Кристаллография, 2023, т. 68, № 6, doi: 10.31857/S0023476123600179.

2. Ивановский А.С., Колесников И.А., Кордонская Ю.В. и др. Применение данных белковой кристаллографии и машинного обучения для разработки пептидной вакцины против Африканской чумы свиней // Кристаллография, 2023, т. 68, № 6, doi: 10.31857/S0023476123600805.

3. Rakitina T.V., Smirnova E.V., Podshivalov D.D. et al. An Algorithm for the Development of a Recombinant Antitherpetic Subunit Vaccine Combining the Crystal Structure Analysis, AlphaFold2-Based Modeling, and Immunoinformatics // Crystals, 2023, vol. 13, 1416, doi: 10.3390/cryst13101416.

СТРУКТУРНО-ДИНАМИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ И ИК СПЕКТРЫ МЕТИЛЗАМЕЩЕННЫХ ПИРИДО[1,2-а]ПИРИМИДИНОВЫХ СИСТЕМ

Structural-Dynamic Models and IR Spectrum of Methyl Substituted Pyrido[1,2-a]pyrimidine Systems

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

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

Пиридо[1,2-а]пиримидиновые системы обладают широким спектром биологической и фармакологической активности: противогрибковой, противовоспалительной, антибактериальной, противоаллергенной, противоопухолевой, анти-ВИЧ. Нами исследована цитотоксическая активность полученной смеси в сравнении с исходным 2-аминопиридином *in vitro* на линии клеток Vero (культуре клеток почки Африканской зеленой марьяшки). Исходный 2-аминопиридин не проявил существенного влияния на изменение метаболической активности клеток, в то время как синтезированные вещества обнаруживают относительно высокую цитотоксическую активность уже спустя 24 часа инкубации (IC₅₀=50 мкг/мл) [1].

Исследуемые образцы пиридо[1,2-а]пиримидиновых систем получены нами методом синтеза путём одностадийной трехкомпонентной реакции аминокпиридина, малонитрила и ароматических альдегидов и реализованы в виде смеси 2-(2-метилфенил(пиридин-2-иламино)метилмалонитрилов (I) и их незациклизованных форм 4-амино-2-(2-метилфенил)-6Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-3-карбинитрилов (II) [2].

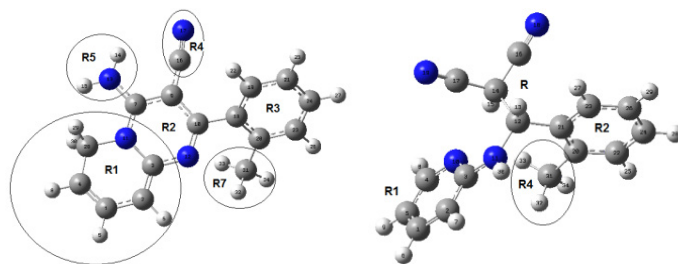


Рисунок 1. Геометрическое строение молекул I (слева) и II (справа)

Методом теории функционала плотности B3LYP/6-31g(d) [3,4], реализованным в программном пакете GAUSSIAN'03 [5] проведено моделирование геометрической структуры и ИК спектров соединений в гармоническом приближении. Рассчитаны геометрические параметры исследуемых соединений (рис. 1).

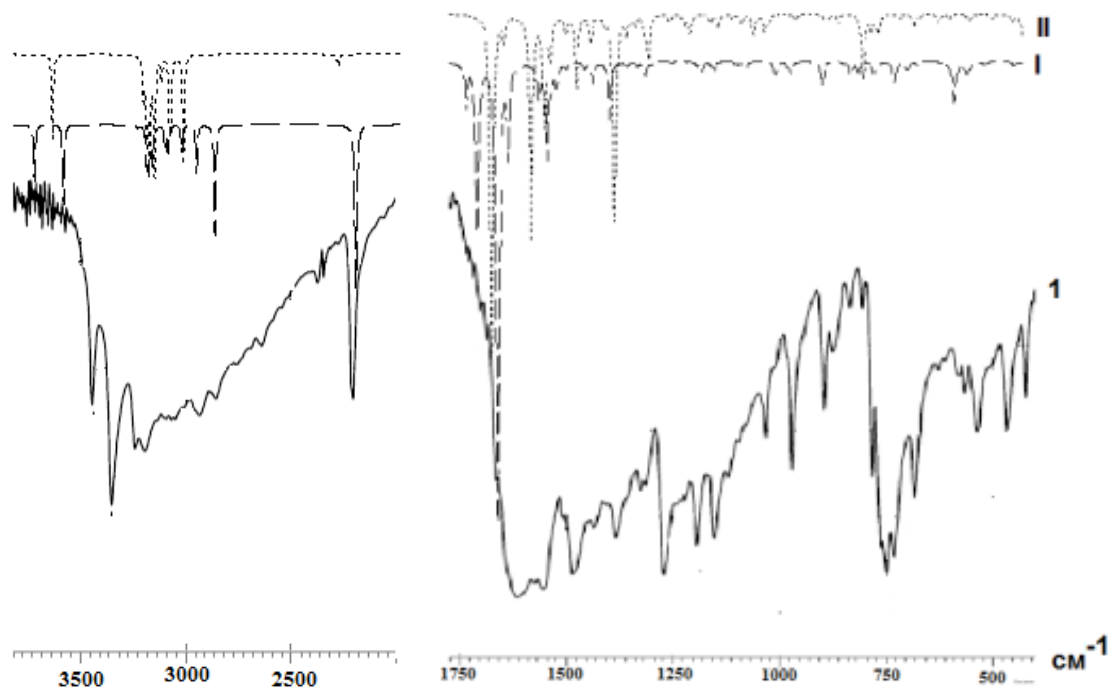


Рисунок 2. ИК спектры: экспериментальный (1) и теоретические (I, II)

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

1. Ивонин М.А., Бурыгин Г.Л., Мещерякова А.А. и др. Цитотоксическая активность некоторых представителей ряда бензимидазола[1,2- α]хиназолина, пиридо[1,2- α]пиримидина и пиразолокарбонитрилов // Межвуз. сборник науч. трудов XIII Всероссийской конференции молодых ученых с межд. участием «Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии». Саратов: Издательство «Саратовский источник», 2018. С. 37-39.

2 Ивонин М.А., Тюлькина И.Р., Мещерякова А.А. и др. Трехкомпонентный синтез новых аминицианов ряда пиридопиримидина // Химия биологически активных веществ, 2019, pp. 134-135.

3. Кон В. Электронная структура вещества – волновые функции и функционалы плотности // УФН, 2002, т. 172, № 3, с. 336-348.

4. Попл Дж. А. Квантово-химические модели // УФН, 2002, т. 172, № 3, с. 349-356.

5. Frisch J., Trucks G.W., Schlegel H.B. Gaussian03, Revision B.03; Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, 2003, 302 p.

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ И ЛОКАЛЬНОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ НА ФОРМИРОВАНИЕ ПОЛОС ЭЛЕКТРОННОГО СПЕКТРА ПОГЛОЩЕНИЯ ТРИПЕПТИДА ЛЕЙЦИН-ТИРОЗИН-ГЛУТАМИНОВАЯ КИСЛОТА

Formation of bands in the electronic absorption spectrum of leucine-tyrosine-glutamic acid tripeptide, depending on its spatial organization and local microenvironments

Ким Ю.Е., Артюхов В.Г., Невзорова П.О., Колтаков И.А.

Воронежский государственный университет, г. Воронеж, РФ, e-mail: koltakov@bio.vsu.ru

Исследование спектральных характеристик белков играет важную роль в изучении их структуры и функций. Разработанные на сегодняшний день спектральные методы анализа, позволяют не только определять количественное содержание белков в растворе, но и анализировать их конформацию, определяя наличие элементов вторичной структуры и их сочетания. Их использование позволило установить, что под действием высокоэнергетических квантов УФ-излучения в белках могут происходить различные фотохимические процессы, приводящие к существенным конформационным перестройкам внутри молекул, в следствие чего может происходить фотоиндуцированная инактивация ферментов, нарушение лиганд-рецепторных взаимодействия или множество других процессов, а главными акцепторами энергии квантов света в первую очередь являются ароматические аминокислоты. Процессы их фотохимических превращений уже давно и хорошо изучены, найдены стабильные фотопродукты и пути утилизации фотоиндуцированного электрон-возбужденного состояния, однако до сегодняшнего дня остается открытым вопрос об индивидуальном вкладе каждой из хромофорных групп в развитие повреждений в белках, вследствие влияния их локального микроокружения на способность поглощать энергию квантов света.

В качестве объекта исследования нами была использована модель пространственной структуры молекулы сывороточного альбумина быка из базы PDB с PDB id: 3v03. Анализ аминокислотной последовательности показал наличие двух идентичных аминокислотных последовательностей Leu138-Tyr139-Glu140 и Leu330-Tyr331-Glu332.

Для расчетов электронных спектров поглощения мы воспользовались модулем Jaguar VCD/ECD Workflow Программного пакета Maestro Schrodinger. Результаты анализа трипептидов представлены на рисунке 1.

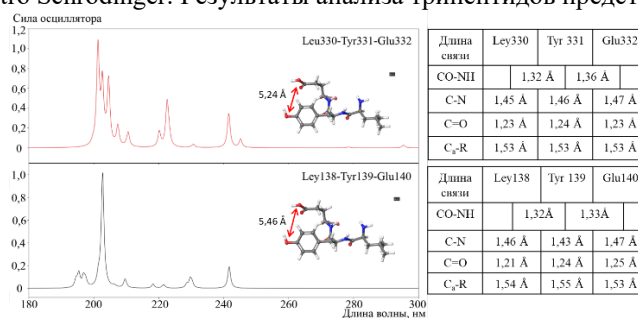


Рисунок 1. Электронные спектры поглощения трипептидов лейцин-тирозин-глутаминовая кислота в молекуле сывороточного альбумина быка

Было установлено, пептидная связь между аминокислотными остатками Tyr 139 – Glu 140 короче аналогичной связи между Tyr 331 – Glu 332 на 0,03Å. Подобные различия в длинах связей были выявлены и в отношении карбонильных групп Leu138/Leu330, Glu140/Glu332, связей C_α-N остатков Leu138/Leu330, Tyr140/Tyr332. Но отличия исследуемых аминокислотных последовательностей затрагивают не только расстояния между атомами, образующими пептидную связь, но и расстояния между отдельными аминокислотными остатками. В качестве маркерной последовательности были выбраны 2 гидроксильные группы: одна – принадлежащая тирозину, а вторая – гидроксильная группа остатка глутаминовой кислоты. Анализ модели показал, что в последовательности Leu138-Tyr139-Glu140 это расстояние равно 5,46 Å, а в другой последовательности - Leu330-Tyr331-Glu332 – 5,24 Å.

Анализ электронных спектров этих трипептидов в программе Maestro Schrodinger показал, что описанные ранее различия отражаются на формировании электронных спектров поглощения. Так в последовательности Leu330-Tyr331-Glu332 отсутствуют по 2 полосы поглощения в области 180–200 нм и 270–300 нм. В то же время максимумы поглощения 200–210 нм, 215–228 и 235–245 нм обладают существенно большей интенсивностью чем в последовательности Leu138-Tyr139-Glu140

Таким образом, в ходе проведения исследования мы показали, что в зависимости от локального микроокружения, определяемого расположением исследуемых пептидов в составе молекулы белка, аминокислотные остатки тирозина могут вносить различный вклад в процесс развития фотоиндуцированных повреждений молекул. Причиной выявленного нами эффекта может быть изменение величины энергетического барьера электронного перехода в исследуемых молекулярных системах.

ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ ПОРФИРИНОВОГО КОЛЬЦА В СОСТАВЕ ГЕТЕРОГЕННОГО КАТАЛИЗАТОРА. ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ, АКТИВИРУЕМАЯ КУМАРИНАМИ C₅₂₅ И C₃₁₄ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЦИТОХРОМА C С КАРДИОЛИПИНОМ
Studying the Structure of a Porphyrin Ring as Part a Heterogeneous Catalyst. Chemiluminescence, Activated by Coumarins C₅₂₅ and C₃₁₄ under the Action of Cytochrome C with Cardiolipin

Левченко И.Н.^{1,5}, Панкратов В.С.², Владимиров Г.К.³, Левченко А.А.⁴, Володяев И.В.⁵.

¹ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, г. Москва, РФ

² ФГАОУ ВО МГТУ им. Баумана, г. Москва, РФ.

³ ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), г. Москва, РФ

⁴ ФГАОУ ВО ПНИПУ, г. Пермь, РФ

⁵ ФГАОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, irnlevchenko@yandex.ru

Применение физических активаторов способствует усилению интенсивности свечения на 2-3 порядка, не влияя на химические процессы, проходящие в системе химических реакций. Физические активаторы природные красители кумарины C₅₂₅ и C₃₁₄ перехватывают возбуждение у триплетно-возбужденных кетонов, образующихся при рекомбинации перекисных радикалов по механизму Рассела и являются флуоресцентными зондами. Моделирование порфиринового кольца в составе цитохрома C с кардиолипином в окружении природных красителей флуоресцентных зондов кумаринов C₅₂₅ и C₃₁₄ показало, что при нейтральном pH гем в цитохроме C существует в низко-спиновой конфигурации, при этом хемилюминесценция люминола на 3-4 порядка выше, чем сами возбужденные кетоны.

Точность нашего исследования определяется наличием кардиолипина для стабилизации pH, тушением Fe²⁺ и присутствием природных красителей кумаринов C₅₂₅ и C₃₁₄. Факторы, которые искажают параметры моделирования порфиринового кольца в составе цитохрома C с кардиолипином в окружении флуоресцентных зондов кумаринов C₅₂₅ и C₃₁₄: не достаточное добавление пероксида водорода, избыточное количество азота (II), метанола, денатурация белка, изменение конформации цитохрома C в комплексе цитохрома C с кардиолипином. Проанализированы системы липопероксидазной и квазилипоксигеназной реакций.

Цитохром C в комплексе с кардиолипином отличается от нативного цитохрома по следующим свойствами:

(1). Обладает флуоресценцией тирозиновых и триптофановых остатков; (2). Теряет поглощение в полосе Soret (405–410 нм) в результате разрыва координационной связи железа гема с серой Met (80) в цитохроме C; (3). Обладает ферментативной активностью; (4). Катализирует образование липидных радикалов в мембране в окружении обоих флуоресцентных зондов природных красителей кумарина C₅₂₅ и кумарина C₃₁₄. (5). Ферментативная активность зависит не только от концентрации цитохрома C с кардиолипином, но и от соотношения, определяющего процент абсолютного количества денатурированной формы; (6). Микровязкость мембраны в окружении физических активаторов обладает разным коэффициентом поляризации; (7). При нейтральном pH гем в цитохроме C существует в низко-спиновой конфигурации, и железосодержащий центр шестиугольно координирован пирролическими азотами из порфиринового кольца и аксиальными лигандами Met (80) и His (18) апопротеина;

Природный краситель кумарин C₅₂₅ «классический» физический активатор хемилюминесценции люминола окисляется цитохромом C в комплексе с кардиолипином, лучше, чем природный краситель кумарин C₃₁₄, при этом скорость этого окисления ограничивается лишь концентрацией самого цитохрома C, который тоже разрушается в составе гетерогенного катализатора под действием пероксида водорода.

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

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ПАРАЗИТИЧЕСКОГО КЛЕЩА, ПОРАЖАЮЩЕГО МЕДОНОСНЫХ ПЧЕЛ РОДА APIS НА КРЫМСКИХ ПАСЕКАХ.

Genotyping of a Parasitic Mite Infecting Honey Bees of Genus Apis in Crimean Apiaries

Мегер Я.В., Пацановская Е.А., Лантушенко А.О.

ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», г. Севастополь, РФ, yvmeger@sevsu.ru

Клещи рода *Tropilaelaps* – паразиты расплода медоносных пчел. Питание личинками и куколками пчел вызывает недоразвитость расплода, смерть пчел и последующее сокращение колонии или слет пчел. Развитие занимает около 1 недели, клещи распространяются на пчелах. Существует как минимум четыре вида в роде

Tropilaelaps. Выявление и оценка динамики заражения медоносных пчел данным родом является важным как с точки зрения пчеловодства, так и для функционирования экосистемы в целом. Несмотря на это, данный вопрос остаётся малоизученным, в особенности на региональном уровне [1].

Для эффективной борьбы видоспецифичными препаратами, оказывающими токсическое действие только на клеща и не влияющими на пчел и продукты пчеловодства, необходимо точное определение вида паразита. Зачастую отбор проб производится непосредственно фермером в полевых условиях без специального оборудования, что может приводить к множественной контаминации и деградации образца.

В данной работе проработана методика генотипирования таких проб. Генетический анализ на основе универсальных праймеров показал несостоятельность данного подхода ввиду сильной контаминации хозяином паразите. Для исключения из анализа продуктов ПЦР с ДНК медоносной пчелы, контаминирующих с целевой пробой, наиболее эффективной методикой является постановка ПЦР с праймерами, специфичными к предполагаемому роду паразита. Разработаны праймеры для связывания с баркодирующим фрагментом COI, использованные олигонуклеотидные последовательности показаны в таблице 1. Также применена методика анализа разделения множественного сигнала от различных матриц, присутствующих в образцах, с помощью декомпозиции полиалельного сигнала по референсу [2].

Таблица 1. Последовательности праймеров, использованные в данной работе

Наименование	Последовательность
forward sp. primer <i>COI</i>	(5'-CTATCCTC AATTATGAAATAGGAAC-3')
reverse sp. primer <i>COI</i>	(5'-TAGCGGCTGTGAA ATAGGCTCG-3')

Несмотря на специфичный подбор праймера, получить ампликоны ДНК клеща без следов контаминации по всей длине сиквенса не удалось. Качество вторичного сигнала не позволяет выявить источник контаминации. Однако данных, полученных в результате декомпозиции, достаточно для определения таксономического статуса. В результате определено, что популяция пчел была поражена клещом вида *Tropilaelaps mercedesae*.

Результаты, полученные в данной работе, способствуют как решению прикладных задач по лечению клещевого заражения, так и упрощают фундаментальные исследования количественной оценки динамики распространения клещевого заражения в регионах.

1. Singh A. et al. Population dynamics of ectoparasitic bee-mite (*Tropilaelaps clareae*) in European honey bee (*Apis mellifera*) colonies in north-western India, 2019.
2. Rausch T. et al. Tracy: basecalling, alignment, assembly and deconvolution of sanger chromatogram trace files // BMC genomics, 2020, vol. 21, pp. 1-9.

БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ ГРЕБНЕВИКОВ *MNEMIOPSIS LEIDYI* И *BEROE OVATA* ПОД ДЕЙСТВИЕМ УДАРНЫХ ВОЛН: ЭКСПЕРИМЕНТЫ И МОДЕЛИРОВАНИЕ Bioluminescence of the Ctenophores *Mnemiopsis leidyi* and *Beroe ovata* under the Influence of Shock Waves: Experiments and Modeling

Фадеева М.В.¹, Силаков М.И.², Шейнман М.¹, Карташов Л.Е.², Кузнецов А.В.²

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

² Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ

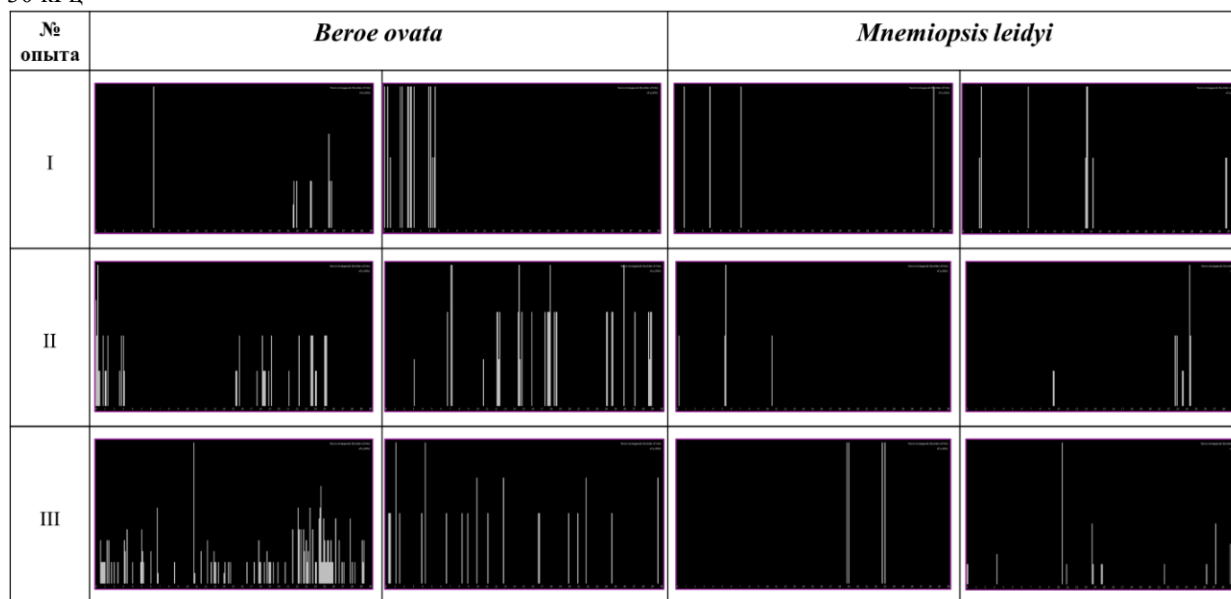
Гребневик *Mnemiopsis leidyi* заселил Чёрное, Азовское и Каспийское моря, подтверждая тем самым надёжность плана своего строения и выигрышность присущей ему стратегии выживания в меняющейся окружающей среде. Особенностью этого организма является биолюминесценция при слабом механическом возмущении. Предполагается, что так рассеивается избыточная энергия в виде света. Биолюминесценция возникает из-за сдвигового воздействия жидкости, причём при переходе тока жидкости от ламинарного к турбулентному резко возрастает интенсивность свечения [1]. Молекулярный механизм этого процесса у гребневикиков досконально не изучен. Остаётся не ясным, как передаётся сигнал от тактильных рецепторов к фотопротеинам [2]. Здесь исследовали люминесценцию гребневикиков *M. leidyi* и *B. ovata* в ответ на П-образные импульсы длительностью 10 мс на частотах в интервале 0-30 кГц, а также применяли разные подходы для моделирования ударного воздействия на механочувствительные рецепторы и биолюминесценцию.

Методика. Гребневик ловили в Артиллерийской бухте (г. Севастополь). В опыт брали животных, способных к биолюминесценции. В каждом эксперименте один из гребневикиков находился в стаканчике, к которому подводили звуковые импульсы в диапазоне 0-30 кГц, а другого (контрольного) гребневикика помещали в звукоизолирующую камеру с иллюминатором. Управление экспериментами осуществлялось в связке компьютер-микроконтроллер при участии оператора. ПО написано на языках C++ и Processing. Данные

представляли в виде гистограмм распределения вспышек в зависимости от частоты воздействия. Для статистической обработки результатов использовали среду R, для численного моделирования язык Python и среду Mathematica.

Результаты и обсуждение. В таблице 1 можно видеть различия в ответной реакции гребневику *M. leidy* и *B. ovata* на импульсные воздействия. В силу того, что между восприятием механического раздражителя и ответом в виде детектируемой биолюминесценции происходит множество неизвестных молекулярных событий, использовали тест Колмогорова-Смирнова, который предполагает накопление событий на некоем интервале и дальнейшую нормализацию. Сравнение вспышек люминесценции мнемипсиса и берое с идеальным равномерным распределением показало значимое отличие кумулятивных кривых от прямой для обоих видов животных: $D=16405$, $p=0.0126$ и $D=0.14974$, $p=5e-05$, соответственно. Это свидетельствует о реакции гребневику на звук. Тем не менее, сравнение кумулятивных кривых вспышек люминесценции для обоих организмов между собой оказалось статистически недостоверным ($D=14205$, $p=0.0764$), что указывает на сходство элементарных механизмов процессирования сигналов у *M. leidy* и *B. ovata* в наших экспериментах.

Таблица 1. Гистограммы распределения вспышек люминесценции, при подаче импульсов с частотой в диапазоне 0-30 кГц



В ходе экспериментов были выявлены характерные паттерны свечения в зависимости от подаваемой частоты импульсов, названные как «контекстная люминесценция» для *M. leidy* и «люминесценция на сопряженных частотах» для *B. ovata* (табл. 1). Выяснилось, что эти виды гребневику несколько иначе реагируют на ударные волны, вызываемые П-импульсами. Сравнение суммарных гистограмм для *M. leidy* и *B. ovata* показало, что оба гребневика имеют максимумы свечения в диапазоне низких, средних и высоких частот, однако конкретные частоты отличаются. Так, для мнемипсиса характерны редкие вспышки в небольших интервалах частот: 95-104 (10 вспышек), 3400-3404 (5 вспышек), 11003-11005 (3 вспышки), 14840-14853 (14 вспышек) и 27378-27388 (11 вспышек), тогда как для берое значения сгруппированы в широкие интервалы с большим числом вспышек: 6407-6418 (12 вспышек), 21659-21710 (52 вспышки), 23564-23632 (69 вспышек) и 25504-25790 (287 вспышек). Можно выделить группировку или сегментацию данных, например, 14840-14853 и 27380-27388 Гц у мнемипсисов и 25504-25790 Гц у берое. Следует отметить максимумы в области 10 и 14 кГц у мнемипсисов и в области 24 кГц у берое. Анализ интервальных оценок позволяет более детально охарактеризовать структуру данных для обоих видов организмов. Кроме того, имеется большое количество уникальных значений, что может указывать на индивидуальность объектов или событий.

Турбулентность течения воды моделировали в виде хаотичности движения отдельных молекул в программах `storm_in_a_teacup.py` и `stirring_in_a_glass.py`. Основная идея программы `storm_in_a_teacup.py` создать визуальный эффект "бури в чашке воды" с помощью частиц, движущихся под влиянием искусственно сгенерированных потоков. Частицы отображаются на экране, создавая динамичную визуальную картину. Основная логика программы `stirring_in_a_glass.py` заключается в моделировании движения частиц под влиянием вращающейся мешалки и визуализации этого процесса. Частицы, находящиеся в пределах радиуса мешалки, получают ускорение, пропорциональное скорости вращения мешалки, а частицы, находящиеся за пределами мешалки, получают меньшее ускорение, пропорциональное коэффициенту трения. Это создает иллюзию перемешивания в стакане.

Ударные волны симулировали с помощью программ `shockWaveSIM.py/shockWaveGIF.py` и `shockWave2Dsim.py/shockWave2Dgif.py`. Первая пара программ реализует одномерный случай следующим образом: инициализирует давление в жидкости, задает начальное условие, имитируя ударную волну, использует

метод конечных разностей для моделирования распространения ударной волны во времени и визуализирует результат моделирования в виде анимации. Вторая пара программ описывает двумерный случай распространения ударной волны, осуществляемый с помощью погружения предметного стеклышка с приклеенным к нему пьезоэлементом в воду: задаются параметры среды – плотность и скорость звука, определяются размеры области моделирования и шаг сетки, временной шаг вычисляется в соответствии с условием устойчивости, задаются начальные условия – ударный импульс в центре области. Программа моделирует распространение ударной волны в двумерном пространстве на основе уравнения Эйлера и создает анимацию этого процесса.

В аналитическом виде воздействие ударной волны на TRP-рецептор описывали в среде Wolfram Mathematica, используя функцию Хевисайда и рассматривая нагруженный гармонический осциллятор с демпфированием γ и постоянной упругостью k , который подвержен воздействию импульса $f(t)$ длительностью T и амплитудой A . Результаты показаны на рисунке 1.

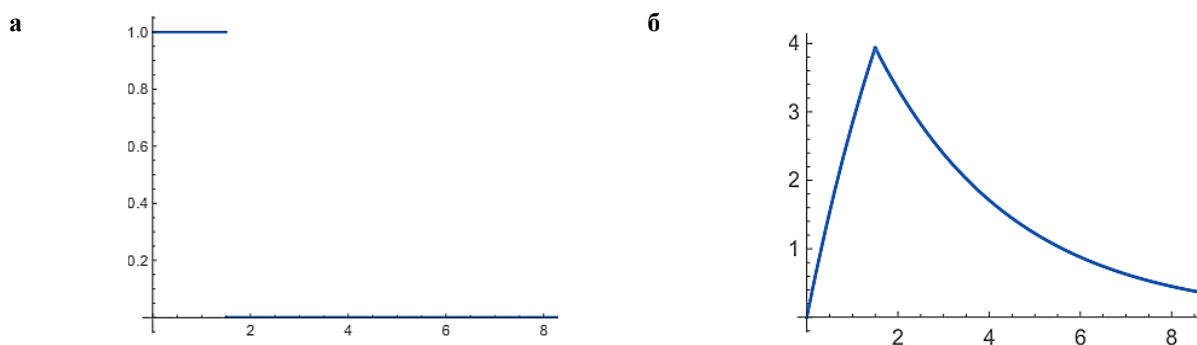


Рисунок 1. Результаты аналитического моделирования: а) один импульс длины $T=1,5$ и амплитуды $A=1$, б) ответ $a(t)$ на один импульс длины $T=1,5$ и амплитуды $A=1$

Выводы. Отсутствие значимых событийных отличий между люминесценцией двух видов гребневиков мнемнопсисом и берое указывает на подобие механизмов сигнальной трансдукции у данных животных, причиной чего является их малое эволюционное расхождение. С другой стороны, наблюдаемая разница в паттернах люминесценции, обусловлена индивидуальными отличиями и воздействием окружающей среды. Для анализа и представления уникальных свойств сложной системы разумно использовать подходящие языки и среды программирования, как C++, Python, Processing, R и Mathematica. Возможно, вместо функции Хевисайда следует имплементировать дельта-функцию Дирака в будущем.

1. Anderson D.M., Nosenchuck D.M., Reynolds G.T., Walton A.J. Stimulation of bioluminescence in the dinoflagellate *Gonyaulax polyedra* Stein // J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 1988, vol. 122 (3), pp. 277-288.

2. Кузнецов А.В., Втюрина Д.Н. Пространственная реконструкция TRPC-механорецепторов гребневика *Mnemiopsis leidyi* A. Agassiz, 1865 // Молекулярная биология, 2023, т. 57, № 4, с. 726-735.

ВИЗУАЛЬНО-ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ (БИО-)МАКРОМОЛЕКУЛ: МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ СТРУКТУР С ВЫСОКОЙ СТЕПЕНЬЮ ГОМОЛОГИИ

Visual Differential Analysis (bio-) Macromolecules: Methods for Studying Structures with a High Degree of Homology

Филиппов С.В.

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

Разработанный нами метод визуально-дифференциального анализа (VDA) [1], основанный на построении проекционных гипсометрических карт [2,3], уже применялся для сравнительных исследований молекулярных структур с цилиндрической симметрией (ДНК, пептидные нанотрубки, ионные каналы и др.) [1,4-6]. Однако для сравнительных исследований гомологичных рядов таких структур, возникла необходимость в разработке новых методов и обеспечивающих их программных средств [5], призванных обеспечить соотносимость полученных методом VDA результатов – как численных величин, так и проекционных карт поверхностей гомологичных молекулярных структур. Таким образом, для стороннего программного обеспечения были составлены необходимые управляющие команды, а также написаны программные утилиты на языке Python, предназначенные для согласования форматов входных и выходных данных, а в программы [7], реализующие метод VDA, был внедрён функционал, необходимый для корректного и согласованного размещения гомологичных структур в 3D-пространстве. А именно: предварительный расчёт минимальных и максимальных

расстояний от каждого атома молекулярной структуры до проекционного центра/поверхности и автоматическое построение согласованных для всех исследуемых структур проекционных поверхностей.

Все вышеописанные программные средства и методы были разработаны и апробированы на задачах анализа изменений межатомных расстояний в процессе релаксации к равновесному состоянию во время расчетов замещений атомов кальция на цинк, магний и марганец в структуре гидроксиапатита (ГАП) методами теории функционала плотности с применением гибридных функционалов в модели суперячейки [8]. В рамках этой работы для всех замещённых релаксаций Ca1 и Ca2, представляющих из себя молекулярные структуры с высокой степенью гомологии, размещённые в едином «аналитическом пространстве», был выбран структурно один и тот же ОН-канал, были установлены одинаковые осевые линии для расчёта кратчайших расстояний и, наконец, был определён согласованный (общий) диапазон расстояний, отображаемых на гипсометрических картах. Всё это позволило построить совмещённые графики изменений межатомных расстояний в ходе релаксаций Ca1 и Ca2 с разными вариантами качественных и количественных замещений – Mg, Mn, Zn, а также построить согласованные гипсометрические проекционные карты всех гомологичных структур.

Аналитические выводы, полученные из сравнительного анализа вышеупомянутых гомологичных структур, подтвердили и дополнили выводы, сделанные на основе экспериментальных и теоретических исследований [8].

1. Филиппов, С.В., Быстров В.С. Визуально-дифференциальный анализ структурных особенностей внутренних полостей двух хиральных форм дифенилаланиновых нанотрубок // Биофизика, 2020, т. 65, № 3, с. 445-452, doi: 10.31857/S0006302920030035.

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

3. Филиппов С.В., Полозов Р.В., Сивожелезов В.С. Визуализация пространственных структур (био)макромолекул: построение «гипсометрических» карт // Информационные технологии и математическое моделирование (ИТММ-2019): Материалы XVIII Международной конференции имени А.Ф. Терпугова (26-30 июня 2019 г.). Томск: Изд-во НТЛ, 2019, ч. 1, с. 163-168.

4. Филиппов С.В., Сивожелезов В.С. Метод построения динамических молекулярных моделей в среде открытой 3D-платформы Blender на примере β_2 -адренорецептора // Доклады Международной конференции «Математическая биология и биоинформатика». Под ред. В.Д. Лахно. Том 7. Пущино: ИМПБ РАН, 2018. Статья № e45, doi: 10.17537/icmbb18.23.

5. Филиппов С.В., Лихачёв И.В., Быстров В.С. Визуально-дифференциальный анализ структурных перестроек водных кластерных структур, находящихся во внутренней полости D-FF нанотрубок // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2020, т. 5, № 3, с. 415-423

6. Быстров В.С., Филиппов С.В. Компьютерное моделирование и численные исследования пептидных нанотрубок на основе дифенилаланина // Препринты ИПМ им. М.В.Келдыша. Препринт ИПМ № 78, Москва, 2021, 54 с., doi: 10.20948/prepr-2021-78, URL: https://keldysh.ru/papers/2021/prep2021_78.pdf.

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

8. Быстров В.С., Парамонова Е.В., Филиппов С.В. и др. Цинк-замещенные структуры гидроксиапатита: моделирование и эксперимент // Математическая биология и биоинформатика, 2023, т. 18 (2), с. 580-601, doi: 10.17537/2023.18.580.

МОДЕЛЬ КОГЕРЕНТНОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГРУППЫ Coherent Cell Group Model

Шабанов Г.А., Рыбченко А.А., Луговая Е.А.

НИЦ «Арктика» ДВО РАН, г.Магадан, РФ, neurokib@mail.ru

В работах Бехтерева В.М., Ливанова М.Н. [1] было показано, что множество клеток живого организма, где бы они не находились, если они выполняют одну задачу, то работают синхронно. Это утверждение легло в основу множества физиологических исследований и подтвердило этот принцип. Такие объединения клеток – когерентные группы, составляют основу для регуляции физиологических функций в висцеральной и соматической сферах, формировании когнитивных групп нейронов при психической деятельности, поддержании системных функций целостных органов и организма. Однако рядом авторов показано, что существование таких клеточных групп в прямую не связано с импульсной активностью нервных клеток, при этом когерентность сохраняется даже при их полном молчании. До сих пор эта проблема является «темной материей» нейрофизиологии [2]. Нами обнаружено, что механические колебания клеток, как наиболее простая и древняя форма «донервной» передачи и аккумуляции энергии [3], используется природой для формирования структурами мозга фонового адаптационного потенциала «активного мозга» – многочастотной матрицы множества функциональных состояний. Механические микровибрации – самая энерго малозатратная форма

передачи энергии, распространяется на ультранизких частотах без затухания, а частотный код придает ей функциональную специфичность. Была предложена концептуальная модель, в которой для каждой функции – от клеточных до организменных, выстраивается на основании потребностей частотный кластер (группа), состоящий из нервных, глиальных или любых других клеток, организующим фактором которых является одна частота, а функциональное состояние такой группы определяется амплитудой механических микровибраций клеток. В любой отдельной клетке экспрессия гена вызывает микровибрацию частоты, характерной только для этого гена. И наоборот, внешние механические вибрации вызывают экспрессию молчащего ранее гена [4].

Такая «донервная» модель корректно решает задачи «глобального доступа» и синхронизации работы клеток в частотной группе вне зависимости от их расположения в пространстве, наличия и траектории нервных проводников и синаптических контактов. Пьезокерамический датчик механических микровибраций, залитый в силиконовую оболочку, расположен на скальпе на левом и правом полушарии, регистрирует микровибрации со всех структур головного мозга, включая самые глубокие. Спектральный анализ акустического сигнала головного мозга носил ряд особенностей – полоса анализируемого сигнала от 0,1 до 27 Гц, количество спектральных гармоник 8400, время интегрирования - 160 сек.

Организм должен на основе прошлого опыта всегда прогнозировать свое состояние на будущее в некотором интервале времени. Это необходимо для эффективной реакции функций организма на изменения внешней среды, поведения в целом и выживания. В этом плане осциллирующий принцип строения активирующей системы мозга (активный мозг), способной длительно сохранять состояние функций (образов) без внешних воздействий, представляется важным и эволюционно оправданным. Принцип «активного мозга» дополняет и совершенствует общепризнанную рефлекторную парадигму функционирования нервной системы (реактивный мозг). Нервная импульсная активность возникает в пределах частотного клеточного кластера только при ее биологической значимости - нарастании достаточной колебательной энергии механических микровибраций. При этом, строящиеся на этой базе нейронные синаптические сети внутри и между частотными кластерами, выделяют и морфологически закрепляют наиболее значимые прицельные связи, которые обеспечивают иерархию функций и целостность организма. Нами получены частоты и амплитуды для диагностики и коррекции частотных кластеров различных висцеральных функций, множества разнообразных когнитивных образов, сложных системных функций организма, включая психические. Выявлен закон распределения частот механических микровибраций генов, структурно расположенных вдоль хромосом.

1. Ливанов М.Н. Пространственная организация процессов головного мозга. М.: Наука, 1972, 181с.
2. Жадин М.Н. Биофизические механизмы формирования электроэнцефалограммы. М.: Наука, 1984, 195 с.
3. Коштыяц Х.С. Основы сравнительной физиологии. Том 1. М.: Изд. АН СССР, 1950, 524 с.
4. San J., Chen J., Wang N. Force-induced gene upregulation does not follow the weak power law but depends on H3K9 demethylation // *Science Advances*, 2020, vol. 6, no.14, doi: 10.1126/sciadv.aay9095.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КРУПНОЗЕРНИСТОГО И ПОЛНОАТОМНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЛЯ ОЦЕНКИ ТРАНСПОРТНЫХ СВОЙСТВ МАЛЫХ МОЛЕКУЛ И РАСТВОРИТЕЛЕЙ

Benchmarking Coarse-Grained and All-Atom Simulations for Estimating Transport Properties of Small Molecules and Solvents

Ян Т., Орехов Ф.С.

Совместный университет МГУ-ППИ в Шэньчжэне, Шэньчжэнь, КНР, orekhov_p@smbu.edu.cn

Понимание кинетического поведения молекулярных систем имеет решающее значение для широкого спектра фундаментальных задач и приложений – от материаловедения до биофизики. В настоящей работе мы провели комплексный сравнительный анализ предсказательной способности популярного крупнозернистого силового поля для моделирования молекулярной динамики MARTINI [1,2] и стандартных полноатомных силовых полей [3] для оценки таких транспортных свойств как коэффициенты диффузии и вязкость, которые необходимы для аккуратного описания явлений, связанных с молекулярным транспортом.

В рамках работы, мы систематически сравнили результаты, полученные в результате моделирования в силовом поле MARTINI 3, с результатами, полученными из полноатомного моделирования, и экспериментальными данными, для ряда представляющих практический интерес систем, включая небольшие органические молекулы и распространенные растворители, обладающих широким спектром физико-химических свойств.

Наши результаты показывают, что, предсказательная способность крупнозернистого подхода для оценки коэффициентов диффузии малых органических молекул в воде сравнима с современными полноатомными силовыми полями. В тоже время, крупнозернистое силовое поле существенно уступает им в задаче предсказания вязкости растворителей.

В работе мы обсуждаем последствия этих отклонений с точки зрения компромисса между вычислительной эффективностью и точностью предсказаний при использовании крупнозернистого подхода на базе силового поля

MARTINI, выделяем сценарии, в которых силовое поле MARTINI может служить ценным инструментом для прогнозирования транспортных свойств и предлагаем ряд методологических рекомендаций, позволяющих улучшить качество таких предсказаний.

Наша работа способствует более широкому пониманию как сильных сторон, так и ограничений крупнозернистого моделирования применительно к исследованию кинетических явлений на молекулярном уровне.

1. Souza P.C., Alessandri R., Barnoud J., Martini 3: a general purpose force field for coarse-grained molecular dynamics // *Nature methods*, 2021, vol. 18 (4), pp. 382-388, doi: 10.1038/s41592-021-01098-3.

2. Alessandri, R., Barnoud, J., Gertsen, A.S. et al. Martini 3 coarse-grained force field: small molecules // *Advanced Theory and Simulations*, 2022, vol. 5 (1), p. 2100391, doi: 10.1002/adts.202100391.

3. Wang J., Hou T. Application of molecular dynamics simulations in molecular property prediction II: diffusion coefficient // *Journal of computational chemistry*, 2011, vol. 32 (16), pp. 3505-3519, doi: 10.1002/jcc.21939.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОНИЦАЕМОСТИ МЕМБРАНЫ КОЖИ МЕТОДАМИ КРУПНОЗЕРНИСТОЙ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ Coarse-Grained Molecular Dynamics Simulations of the Skin Membrane Permeability

Янг А., Боздагянян М. Е.

Совместный университет МГУ-ППИ в Шэньчжэне, Шэньчжэнь, КНР, *m.bozdaganyan@gmail.com*

Доставка активных веществ через кожу играет важную роль как в медицинской, так и в косметической промышленности. Эксперименты на коже человека являются дорогостоящими, а заменители, такие как свиная, мышьяная кожа или химические биопленки, не могут в полной мере соответствовать физическим параметрам кожи человека. Молекулярное моделирование модельных мембран позволяет рассчитать множество параметров, таких как, коэффициенты проницаемости ($\log K_p$), коэффициенты диффузии, структурные параметры мембраны: толщина мембраны, плотность упаковки липидов, степень упорядоченности углеводородных цепей липидов.

Работа посвящена исследованию взаимодействия между различными химическими соединениями и липидным бислоем модельной кожи методами молекулярной динамики. Для моделирования мембран клеток кожи использовано силовое поле MARTINI, все расчеты выполнены в программном пакете GROMACS. Мембрана собрана из керамидов, холестерина и свободных жирных кислот в соотношении 1:1:1 и уравновешена при температуре 310 К в течение 0,5 микросекунд.

Рассчитаны потенциалы средней силы (ПСС) между мембраной и 24 малыми молекулами как в [1] из базы данных CPE-DB [2], оценены значения $\log K_p$ с использованием уравнения Смолуховского. Сравнение экспериментальных данных и расчетных показывает удовлетворительную корреляцию ($R^2=0,81$).

Таким образом, метод может быть использован для предсказания проницаемости веществ через модельную мембрану кожи, разработки и скрининга новых химических веществ для доставки лекарств трансдермально. В будущем планируется увеличить количество тестируемых веществ, добавить дополнительные физико-химические параметры для улучшения предсказательной способности метода.

1. Bozdaganyan M.E., Orekhov P.S. Synergistic effect of chemical penetration enhancers on lidocaine permeability revealed by coarse-grained molecular dynamics simulations // *Membranes*, 2021, vol. 11, no. 6, doi: 10.3390/membranes11060410.

2. Vasyuchenko E.P., Orekhov P.S., Armeev G.A., Bozdaganyan M.E. CPE-DB: An open database of chemical penetration enhancers // *Pharmaceutics*, 2021, vol. 13, no. 1, doi: 10.3390/pharmaceutics13010066.

INFLUENCE OF INTRACELLULAR CALCIUM ON CHEMOTAXIS AND REGULATION OF AGGREGATE SIZES IN A DISCRETE MODEL OF *DYCTIOSTELIUM DISCOIDEUM* AGGREGATION

Kruchinin I.V., Yakovenko L.V.

Lomonosov MSU, Moscow, Russia, *iv.kruchinin@physics.msu.ru*

Dictyostelium discoideum (dictyostelium) is a cellular slime mold (type Mycetozoa), the life cycle of which contains unicellular and multicellular stages. Solitary myxamoebae live in soil and wet leaf litter in mixed and broad-leaved forests of the temperate zone, feed mainly on bacteria, and reproduce by simple division. When resources are exhausted, aggregation of single cells begins, as a result of which intermediate clusters of cells are formed first, and then a "multicellular" slug crawls to a light, warm and dry place, where it forms a fruiting body, from which spores are dispersed.

At all stages of aggregation, cyclic adenosine monophosphate (cAMP), released by cells into the environment and serving as a chemoattractant causing positive taxis, plays a key role. In addition to cAMP, cells synthesize and secrete phosphodiesterase (PDE), which breaks down cAMP, and its inhibitor (PDI). These three substances form the so-called "chemotactic field", which is necessary for orientation, chemotaxis, limitation of aggregate growth, if necessary, and for intercellular signaling [1].

In this paper, we propose a model of the initial stages of myxamoebae aggregation based on ideas and approaches developed in the theories of finite and cellular automata. The model includes four virtually linked identical two-dimensional lattices, the filling of the cells of which describes the behavior of the myxamoebae population. One of them, describing the movement of myxamoebae, consists of four parallel layers, i.e. it is actually three-dimensional. The lower layer initially contains mobile finite automata. The filling of the cells of this lattice occurs according to certain rules and corresponds to the initial stages of aggregation up to the formation of a three-dimensional four-layer hill-like structure. The other three lattices model the release and diffusion of the three main signal components that form the chemotactic field that determines the behavior of myxamoebae [2].

It has recently been established that the direction of movement of cells and intermediate aggregates is affected by the intracellular concentration of calcium ions. In addition, Ca^{2+} ions also affect intercellular adhesion. We have constructed for the first time a model of Dictyostelium aggregation taking into account the role of calcium ions based on a cellular automaton consisting of finite automata that model individual cells.

A Dictyostelium cell or cell cluster changes the direction of movement depending on the direction in which the maximum cAMP concentration is located from the cell / cell cluster. Moreover, a cell / cluster cannot change the direction to the opposite. The selected direction and intercellular adhesion are also affected by Ca^{2+} ions. How this happens is not yet completely clear, it is only clear that Dictyostelium cells absorb Ca^{2+} ions from the environment in response to cAMP stimulation, and the more Ca^{2+} in the cytosol, the more molecules responsible for adhesion appear on the outer surface of the cell membrane [3].

Further, our model was modified by taking into account the dependence of myxamoebae movement on the intracellular concentration of Ca^{2+} . The movement of amoebae can be either directed along the concentration gradient of cyclic adenosine monophosphate, or a random walk. The direction of movement of amoebae is also affected by the concentration of Ca^{2+} in the immediate environment.

The calculation results show that when the aggregate reaches a certain size, its growth stops, and the number of cells in it fluctuates around the average value. This behavior indicates that aggregation is determined by two competing mechanisms: one promotes the growth of the aggregate, the other promotes the detachment of cells or small clusters from it [4].

1. Loomis W.F. Cell signaling during development of Dictyostelium // *Developmental Biology*, 2014, vol. 391, pp. 1-16.

2. Кручинин И.В., Яковенко Л.В., Компьютерная модель начальных стадий агрегации миксаеб *Dictiostellium discoideum* // Ученые записки физического факультета московского университета, 2021, № 6, с. 1-9.

3. Malchow D., Lusche D.F., Schlatterer C. A link of Ca^{2+} to cAMP oscillations in Dictyostelium: the calmodulin antagonist W-7 potentiates cAMP relay and transiently inhibits the acidic Ca^{2+} -store // *BMC Developmental Biology*, 2004, vol. 4, p. 7.

4. Кручинин И.В., Яковенко Л.В., Два конкурирующих механизма при агрегации *Dictyostelium discoideum* // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2022, т. 7, № 3, с. 393-398.

ГОРИЗОНТАЛЬНЫЙ ПЕРЕНОС ГЕНОВ – ПРЕИМУЩЕСТВЕННО ПРЯМОЙ ИЛИ ОПОСРЕДОВАННЫЙ ПРОЦЕСС?

Horizontal gene transfer - mostly direct or indirect process?

Шейнман М.

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

Повсеместность горизонтального переноса генов (ГПГ) в прокариотической эволюции, возможно, делает сеть более реалистичной моделью, чем бинарное разветвленное дерево жизни. Однако общие статистические свойства этой сети до сих пор неизвестны. Является ли она статической или динамической? Есть ли хабы? Каков относительный вклад прямых и косвенных переносов? И так далее. В этом исследовании мы рассматриваем эти вопросы, создавая минимальную статистическую модель, которая воспроизводит эмпирические данные. Для некоторых пар таксонов доминирующий перенос является прямым, в то время как для других он опосредован другими таксонами. Анализ основан на анализе максимальных точных совпадений геномных последовательностей. Это точные совпадения между двумя последовательностями, которые не могут быть расширены в любом направлении без внесения несоответствий. Например, для двух последовательностей: ACGCGATTGCTAA и ACGAGATTTCTAA MEMs – это ACG, GATT и CТАА. В докладе будет показано, как статистические свойства максимальных точных совпадений могут быть использованы для получения информации о сети обмена генами.

СЕКЦИЯ 3. МЕДИЦИНСКАЯ БИОФИЗИКА И БИОФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

ИССЛЕДОВАНИЕ СРОДСТВА НЕКОТОРЫХ ЛИГАНДОВ К ОЦ- POLY(rA) И ОЦ- POLY(rU) Study of Affinity of Some Ligands to Ss-poly(rA) and Ss-poly(rU)

Антонян А.П., Карапетян А.Г., Папоян А.А., Парсаданян М.А., Вардевандян П.О.

Ереванский государственный университет, Научный институт биологии, г. Ереван, Республика Армения,
apant@ysu.am

Нами проведены исследования по взаимодействию некоторых ДНК-специфических лигандов - бромистого этидия (БЭ), метиленового синего (МС) и Hoechst 33258, с одноцепочечными гомополирибонуклеотидами poly(rA) и poly(rU), методами абсорбционной и флуоресцентной спектроскопии. На основании изменений спектров абсорбции и флуоресценции комплексов указанных лигандов с оц-poly(rA) и оц-poly(rU) построены изотермы адсорбции в координатах Скотчарда и определены значения параметров – констант ассоциации (K) и числа оснований (n), приходящих на одно место связывания.

Выявлено, что БЭ, который является классическим интеркалятором, связывается и' с дц-, и' с оц- структурами ДНК и РНК (см. [1]), проявляет практически одинаковое сродство к poly(rA) и poly(rU), со значениями $K \approx 2,8 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ и $K \approx 2,2 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ соответственно. Однако значения n отличаются вдвое - $n \approx 8$ и $n \approx 4$ соответственно. Качественно иная картина получена для сродства неклассического интеркалятора МС, поскольку этот лиганд проявляет ярко выраженное сродство к poly(rA), с которым взаимодействует высококооперативно – со значениями $K \approx 3,5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$, $n \approx 13$ и $\omega \approx 65$, где ω - коэффициент кооперативности, в то время как в случае poly(rU) кооперативность не проявляется ($\omega \approx 1$), а значение K почти на порядок ($K \approx 0,45 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$) меньше. Значение n также меньше (примерно в 1,5 раза ($n \approx 8$)).

Значительные различия получены и при связывании Hoechst 33258 с одноцепочечными poly(rA) и poly(rU), однако связывание этого лиганда некооперативное. В частности, значения K отличаются примерно в 5 раз - $K \approx 3,2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ и $K \approx 0,6 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ соответственно. Более значительное отличие получено для значений n - $n \approx 20$ и $n \approx 3$.

Полученные нами данные выявляют, что классический интеркалятор БЭ не проявляет выраженную специфичность к оц- гомополинуклеотидам poly(rA) и poly(rU), в то время как другой интеркалятор, МС, а также желобково связывающееся соединение Hoechst 33258 проявляют выраженную специфичность к оц-poly(rA). Мы полагаем, что предпочтительность МС (см. [2]) и Hoechst 33258 к оц-poly(rA) является следствием того, что структура этого полинуклеотида в растворе находится в упорядоченной спиральной форме, которая стабилизируется стэкинг-взаимодействиями между соседними основаниями при физиологическом рН и температуре. С этой точки зрения, структура оц-poly(rU) в растворе более разупорядочена и имеет клубкообразный характер, вследствие чего МС и Hoechst 33258 к этому полинуклеотиду проявляют меньшее сродство. Для интеркаляции же БЭ, структурные различия указанных оц-гомополинуклеотидов не играют определяющей роли, несмотря на то, что центры адсорбции на оц-poly(rA) для этого лиганда более ограничены, чем на оц-poly(rU), как и в случае МС и Hoechst.

1. Vardevanyan P.O., Antonyan A.P., Parsadanyan M.A., Shahinyan M.A. Study of the influence of the ionic strength on complex-formation of ethidium bromide with poly(rA)-poly(rU) // Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 2019, doi: 10.1080/07391102.2019.1630006.

2. Vardevanyan P.O., Antonyan A.P., Movsisyan Z.H. et al. Study of complexation of single-stranded poly(rA) and poly(rU) with methylene blue // Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 2023, vol. 41, no. 24, pp. 15320-15327, doi: 10.1080/07391102.2023.2189475.

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ СЕЛЕКТИВНОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АНАЛОГОВ РЕТИНОИДОВ С РАЗЛИЧНЫМИ МИКРОБНЫМИ РОДОПСИНАМИ

The Study of the Features of Retinoid Analogs Interaction Selectivity with Various Microbial Rhodopsins

Беликов Н.Е.¹, Сафинова А.Я.^{1,2}, Лукин А.Ю.², Петровская Л.Е.³, Демина О.В.¹,
Ходонов А.А.¹

¹ ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва, РФ, *khodonov@gmail.com*

МИРЭА – Российский технологический университет, г. Москва, РФ

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

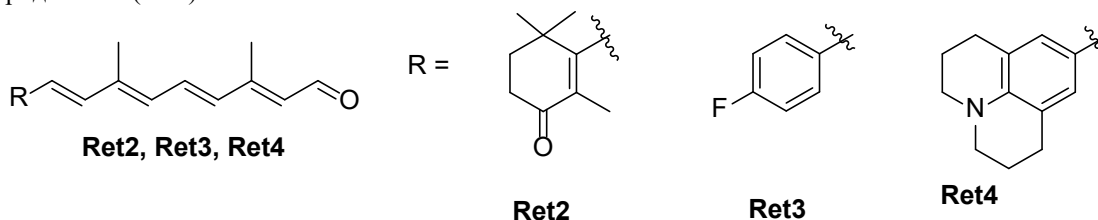
Для практической реализации задач нанобиофотоники необходимо создание технологий получения фотопереключаемых компонентов с заданными и/или прогнозируемыми спектрально-кинетическими параметрами на основе новых модифицированных представителей микробных родопсинов.

Ретиналь-содержащие белки подразделяются на несколько семейств, основными группами из которых являются зрительные пигменты палочек и колбочек высших животных и микробные родопсины. В последнее время широко развернуты исследования структуры и функций ретиналь-содержащих белков: бактериородопсина и новых представителей класса микробных родопсинов, которые участвуют в ряде таких важных фотобиологических процессов, как светозависимый транспорт ионов H^+ , Cl^- , Na^+ ; и в фототаксисе.

Направленные изменения фотохимических свойств микробных родопсинов могут быть достигнуты путем использования следующих подходов:

- 1) замещением одного или нескольких аминокислотных остатков в определенных положениях молекулы белка методами сайт-специфичного мутагенеза;
- 2) замещением остатка природного ретиналя на его различные аналоги;
- 3) сочетанием вышеперечисленных методов.

Замена природного ретиналя на его аналоги – один из наиболее перспективных подходов к изучению особенностей участка связывания хромофора у различных групп микробных родопсинов. На основе результатов собственных исследований было проанализировано влияние отдельных типов модификации хромофорной группы на структуру и функцию двух представителей микробных родопсинов: бактериородопсина (BRh) и протееородопсина (TRh).



Была протестирована способность избранной группы ретиноидов Ret2, Ret3 и Ret4 к образованию ковалентных и нековалентных комплексов с указанными представителями микробных родопсинов, а также, были определены особенности их взаимодействия с апобелками и параметры их фотохимических и функциональных свойств.

Было установлено, что, в случае бактериородопсина из *H. salinarum*, замена триметилциклогексенового кольца в природном хромофоре на 4-оксо- Ret2, 4-фторфенильный Ret3 или юлолидиновый Ret4 аналоги не блокирует возможность образования аналогов бактериородопсина (ABRh), однако, для апобелка из протееородопсина TRh было зафиксировано образование искусственных пигментов только из Ret2, Ret3 аналогов ретиналя (4-оксо-ATRh, F-Phe-ATRh).

Впервые обнаружен фотоиндуцированный обратимый гидролиз протонированной альдиминной связи для F-Phe-ATRh.

Создана модель, имитирующая спектральные свойства микробных родопсинов, на основе юлолидинового аналога Ret4.

1. Khodonov A.A., Belikov N.E., Demina O.V. Properties of artificial bacteriorhodopsin analogs. From 1975 to 2019, Eds: Chupin V.V., Varfolomeev S.D. Version 2, 2020; IBCP/MIPT, Moscow, Russia 186 pp., URL: http://biochemphysics.ru/assets/upload/documents/docs/BRDT_v2.pdf.

Ходонов А.А., Беликов Н.Е., Лукин А.Ю. и др. Исследование селективности окружения хромофор связывающего сайта молекулы бактериородопсина с помощью аналогов ретиноидов // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2020, т. 5, № 1, с. 91-100.

УСКОРЕННОЕ ЗАЖИВЛЕНИЕ РАН С ПРИМЕНЕНИЕМ ГРАФЕНСОДЕРЖАЩИХ ПЕРЕВЯЗОЧНЫХ МАТЕРИАЛОВ

Accelerated Wound Healing with the Use of Graphene-Containing Dressings.

Ботин А.С.^{1,2}, Ризк М.Г.Х.¹, Логвиненко И.С.¹

¹ Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, Институт биохимической технологии и нанотехнологии, г. Москва, РФ, botin-as@rudn.ru

² ГБУЗ «НИИ Скорой помощи им. Н. В. Склифосовского ДЗМ», г. Москва, РФ, BotinAS@sklif.mos.ru

Мировая статистика задач эффективного заживления ран различной природы исчисляется десятками миллиардов случаев в год. Это самый массовый феномен медицинской помощи - соответственно рынок оборота перевязочных материалов гигантский. Продукция, основанная на высокотехнологичных медицинских средствах заживления ран и перевязочных материалах нового качества, всегда будет востребована.

Концепция лечения ран направлена на минимизацию потенциальных осложнений, вызванных как самой раной, так и улучшением надлежащей регенерации мягких тканей организма. Травмированные пациенты в бытовых или полевых условиях, как правило, при аварийных ситуациях или во время стихийных бедствий, подвергаются риску заражения различной патогенной микрофлорой бактериальной, вирусной и иной природы, что может привести к инфекционным заражениям. Такие факторы, как плохая санитария, загрязненные источники воды и непосредственная близость к другим людям, повышают вероятность заражения вредоносными микроорганизмами.

Следовательно, длительное пребывание пострадавших с открытыми ранами на месте аварии может привести к серьезным осложнениям, таким как развитие раневых инфекций с переходом в сепсис и существенному замедлению заживления ран. Поэтому, приоритетное внимание к лечению ран и мерам инфекционного контроля имеет решающее значение для снижения физиологических рисков для здоровья, связанных с открытыми ранами при чрезвычайных ситуациях.

Учитывая предыдущие многочисленные физико-химические исследования, есть все основания считать, что графен и его производные могут играть важную роль в улучшении характеристик и повышении качества медицинских перевязочных материалов, которые в данном случае обладают потенциалом преимуществ по сравнению с традиционными аналогами.

Для снижения стоимости конечной продукции в виде графенсодержащих композитных материалов, в настоящее время, получена новая форма расслоённого графита, которая после многократной химической модификации с применением ультразвука и термо-активации приводится к получению материала, структура которого состоит из раздвинутых стопок углеродных слоев с кратностью от нескольких единиц до десятков, в том числе содержащая и одиночные листы графена. Установлено, что данный материал относится к виду графенсодержащих и графеноподобных форм углерода. Учитывая, что общее число полученных углеродных моно- и поли-слоёв при расширении каждого домена кристаллического графита варьируется от сотен до десятков тысяч, введена новая классификация данного типа материалов, которые могут рассматриваться в качестве ПолиГрафенов (ПГ). Результаты форвардных исследований и испытаний ПолиГрафенов дают все основания для их массового (широкомасштабного) применения в разных сферах медицины и биотехнологии, в частности, в качестве действующей основы для создания композитных перевязочных материалов нового поколения для ускоренного заживления механических, термических и гнойных ран.

В работе приводится анализ стратегий и разработок зарубежных и отечественных исследователей, направленных на создание интеллектуальных и функциональных тканевых конструкций с высокой пролиферацией фибробластов и многообещающими терапевтическими возможностями для доставки лекарств через кожу и антисептических повязок на раны с применением графенсодержащих компонентов.

Дальнейшее развитие биомедицинских приложений предполагает использование графеноподобных форм углерода и композитов на их основе, включающих возможности для создания и испытаний широкого ассортимента готовых форм перевязочных материалов нового поколения с использованием ПолиГрафена в том числе и для неотложной медицины катастроф, служб Министерства по чрезвычайным ситуациям, а также для эффективного лечения раневых повреждений различной природы.

ДИНАМИКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ДЕСТРУКЦИИ ТКАНЕЙ ПО ДАННЫМ ЯМР-ДИФФУЗОМЕТРИИ

NMR Diffusometry Data of the Dynamics of Biological Destruction of Tissue

Булгакова А.М.¹, Мельникова Д.Л.¹, Ковязина И.В.², Гиматдинов Р.С.^{1,2}

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, РФ, rsgimatdinov@kpfu.ru

² Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, РФ, rgimatdinov@kazangmu.ru

Оценка жизнеспособности тканей играет важную роль в хирургии, трансплантологии, радиологии, криобиологии поскольку позволяет улучшить качество медицинской помощи, например, при выяснении границ повреждённых тканей и органов. Существующие неинвазивные методы оценки жизнеспособности клеток имеют ряд недостатков. Поэтому поиск новых более точных методов является актуальной задачей. Целью данной работы является исследование возможностей ЯМР-диффузометрии основанной на методе ядерного магнитного резонанса с импульсным градиентом магнитного поля (ЯМР ИГМП) с Фурье-спектроскопией для оценки деструктивных процессов в ткани, что имеет практическую значимость для диффузионно взвешенной клинической ЯМР-томографии.

Измерения проводились на ядрах ¹H на частоте 400.22 МГц на спектрометре “AVANCE 400 III TM” (Bruker), оснащённом блоком импульсного градиента магнитного поля. Для измерения коэффициентов самодиффузии (КСД) использовалась импульсная последовательность «стимулированное эхо». Регистрировались диффузионные затухания интенсивностей отдельных линий ЯМР в Фурье-спектрах спинного эха диффундирующих молекул при разных временах хранения *t* и разных временах диффузии (*td*). В качестве объекта исследования была выбрана диафрагмальная ткань лабораторной мыши.

Полученные ¹H спектры для биобразца были сопоставлены с литературными данными для аналогичных образцов ткани, что позволило выделить водную и липидную составляющие спектра. Стоит отметить, что ¹H спектр при нулевом значении градиента магнитного поля (*G*=0) с увеличением времени хранения практически не изменяется, следовательно, он мало информативен при исследовании деструкции ткани. Поэтому анализировались именно диффузионные затухания сигналов в спектре в зависимости от величины градиента поля *G*. Было обнаружено, что диффузионное затухание (*D*З) от водной компоненты спектра не изменяется в зависимости от времени хранения, поэтому особый интерес представляет диффузионное затухание от липидной части спектра, в котором можно выделить две компоненты (две группы молекул) соответствующие быстро и медленно диффундирующим фракциям с коэффициентами самодиффузии $D_b = 1,2 \cdot 10^{-11} \text{ м}^2/\text{с}$ и $D_a = 9,4 \cdot 10^{-14} \text{ м}^2/\text{с}$ (при *td*=300 мс), соответственно. При этом из диффузионных затуханий, полученных при разных временах диффузии *td* следует, что медленно движущиеся молекулы находятся в режиме частично ограниченной диффузии. С увеличением времени хранения биологического образца относительная доля в *D*З сигнала от таких молекул уменьшается, что является маркером деструктивных процессов. Уменьшение доли медленной компоненты *D*З (*P*_a) происходит на фоне роста доли более быстрых компонент. Данный факт согласуется с представлениями о механизме ишемической гибели клеток, когда из-за нарушения целостности мембран и образования сквозных пор происходит увеличение вклада в *D*З от быстро диффундирующих молекул. Зависимость доли медленной компоненты *P*_a в *D*З от времени хранения может быть аппроксимирована убывающей одноэкспоненциальной функцией $P_a = A \cdot \exp(-t/\tau) + B$, в которой параметр τ количественно характеризует время деструкции, в случае естественной деструкции этот параметр оказался равным 15 часов.

Дополнительно были проведены исследования с добавлением в образцы препарата Triton X-100, который широко используется в лабораторной практике для разрушения мембран и как детергент. Общая тенденция изменений диффузионных затуханий от времени хранения сохранилась. Однако изменения доли компонент *D*З происходит значительно быстрее, что подтверждает вывод о причине изменения *D*З из-за нарушения целостности мембран. В случае с детергентом, на графике зависимости доли медленно диффундирующих компонент от времени хранения, можно выделить два характеристических времени: первое (τ_1), которое характеризует естественную деструкцию биомембран ткани и составляет 14,3 час и время (τ_2) – разрушение под действием препарата Triton X-100. При искусственном разрушении мембранных оболочек клеток наблюдается ускоренное уменьшение доли *P*_a соответствующей медленно диффундирующей компоненте в *D*З. Характеристическое время τ_2 составляет 0,28 час. Исходя из полученных зависимостей можно сделать вывод, что метод ЯМР диффузометрии позволяет зарегистрировать деструктивные изменения в ткани уже на самых ранних этапах хранения и дает возможность оценить количество поврежденных клеток по изменению относительной доли компонент диффузионного затухания.

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ РАЗВИТИИ АНЕМИЧЕСКОГО СИНДРОМА ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

The Erythrocyte Metabolism Features in the Development of Anemic Syndrome in Breast Cancer

Бутенко Е.В., Бакурова Е.М.

ФГБОУ ВО ДонГМУ им. М. Горького, г. Донецк, РФ, 32000023@mail.ru

Патогенез анемического синдрома (АС) онкологических больных чрезвычайно сложен и до сих пор недостаточно изучен [1]. При этом АС является показателем неблагоприятного прогноза основного заболевания. Учитывая трудности лечения АС, необходим как поиск его предикторов, так и разработка профилактических методов. С этой целью могут быть перспективными исследования особенностей метаболизма эритроцитов, поскольку известно о патогенетической взаимосвязи АС и «синдрома старения эритроцитов» у онкобольных. Ранее сообщалось о наличии выраженного дисбаланса про- и антиоксидантных процессов в эритроцитах больных раком легких, ЖКТ. В тоже время АС – типическое осложнение для распространенного рака молочной железы (РМЖ). Целью данной работы стало исследование особенностей активности аденозиндезаминазы (АДА), лимитирующей уровни аденозина и его эффекты, антиоксидантной активности супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы (ГПО), уровней 2,3-дифосфоглицерата (2,3-ДФГ), обеспечивающих газотранспортную функцию эритроцита.

Спектрофотометрическим методом исследованы особенности ферментативной активности в эритроцитах больных РМЖ распространенных стадий. Установлено, что при распространенном раке молочной железы активность АДА и ГПО снижалась (см. табл. 1), а СОД, наоборот, повышалась. Тем самым у больных РМЖ ещё до развития АС выявлен дисбаланс активности ферментов антиоксидантов, что ведёт к активации прооксидантных процессов. Снижение активности АДА сочеталось с нарастанием уровней 2,3-ДФГ. Это обусловлено повышением клеточных уровней аденозина вследствие снижения активности фермента его катаболизма – АДА. Среди регуляторных эффектов аденозина – он стимулирует повышение 2,3-ДФГ, облегчающего транспорт кислорода в ткани.

Таблица 1. Особенности метаболизма эритроцитов при РМЖ до развития анемии и на её фоне (Me; (Q₁; Q₃))

материал	АДА	СОД	ГПО	2,3-ДФГ
контроль	10,37 (8,45; 12,48)	0,37 (0,29; 0,48)	6,67 (5,87; 7,86)	6,80 (5,44; 7,53)
РМЖ без АС	6,55 (4,78; 7,05)*	1,02 (0,58; 1,35)*	5,41 (4,35; 6,22)*	6,77 (5,51; 7,27)
РМЖ с АС	4,56 (3,28; 5,77)*	1,45 (0,73; 1,58)*	3,44 (2,77; 5,34)*	9,54 (7,11; 11,23)*

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Вероятно, что в этих случаях в эритроцитах мог формироваться супероксидный радикал, который инициирует восстановительное высвобождение ионов металлов переменной валентности, в особенности железа, из их комплексов с биологическими молекулами [2]. В системе эритроцита – это глобиновые цепи гемоглобина. Важно отметить, что протонированная форма этого радикала гидрофобна. Аккумулируясь в мембране, запускает цепные реакции перекисного окисления липидов (ПОЛ) [2]. Следствием усиления ПОЛ будет сокращение периода активной системной циркуляции эритроцита, или внутрисосудистый гемолиз. Нарастание уровней 2,3-ДФГ в циркулирующих эритроцитах свидетельствует о напряженности газообмена, развитии гемической гипоксии.

Таким образом, дисбаланс активности ферментов антиоксидантов является значимым фактором патогенеза АС, нарастание уровней 2,3-ДФГ свидетельствует о напряженности газообмена.

1. Блиндарь В.Н., Хагажеева М.Н., Давыдова Т.В. и др. Диагностика и лечение анемического синдрома у больных раком молочной железы на фоне неoadъювантной химиотерапии // Российский биотерапевтический журнал, 2021, т. 20, № 2, doi: 10.1186/s12951-016-0246-1.

2. Lehnert N. et al. The Biologically Relevant Coordination Chemistry of Iron and Nitric Oxide: Electronic Structure and Reactivity // Chem. Rev., 2021, vol. 121, no. 24, pp. 14682-14905.

ИЗМЕНЕНИЯ ПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В СЕЛЕЗЕНКЕ КРЫС, РАЗВИВАВШИХСЯ ПРИ НИЗКОДОЗОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ДДТ, С НАСТУПЛЕНИЕМ ПОЛОВОГО СОЗРЕВАНИЯ

Altered Proliferation in Rats Developmentally Exposed to Low Doses of DDT, during Sexual Maturation

Гагулаева Б.Б.

НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцина ФГБНУ «Российский научный центр хирургии
им. акад. Б.В. Петровского», г. Москва, РФ, gagulati@yandex.ru

Воздействие низких доз эндокринных дисрапторов на организм является фактором риска, вызывающим не только нарушения функционирования, но и развития органов [1]. Это обусловлено их способностью проникать через фетоплацентарный барьер и экскретироваться с молоком, то есть не только опосредованно, но и непосредственно воздействовать на развивающийся организм в пренатальном и раннем постнатальном периодах. К наиболее распространенным в экосистемах персистирующим эндокринным дисраптором относится пестицид дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ). Он характеризуется длительным периодом распада и способностью к депонированию в организме. Последствия воздействия ДДТ на развитие органов иммунной защиты были изучены в меньшей степени. Имеются сведения, что воздействие низких доз ДДТ способно изменять морфогенетические процессы в центральном органе лимфоидной системы – тимусе. Следовательно, это может порождать изменения и в развитии вторичных лимфоидных образований. Селезенка является крупнейшим лимфоидным образованием в организме млекопитающих и человека. По нашим данным воздействие низких доз ДДТ во внутриутробном развитии вызывает изменение темпов морфогенетических процессов – пролиферации, дифференцировки, и миграции в раннем постнатальном периоде [2, 3]. Целью настоящего исследования было изучить как протекают пролиферативные процессы в селезенке крыс, развивавшихся при низкодозовом воздействии ДДТ, в процессе полового созревания.

У крыс, подвергавшихся воздействию низких доз ДДТ начиная с пренатального периода и в постнатальном развитии, в препубертатном периоде размеры и масса селезенки не отличались от значений интактных крыс соответствующего возраста. Однако спонтанная пролиферативная активность клеток селезенки превышала значения интактных крыс в среднем в 3,5 раза.

В пубертатном периоде, как и в предыдущем сроке исследования, мы не обнаружили у крыс экспериментальной группы статистически значимых различий в абсолютной и относительной массах органа от значений интактного контроля. Увеличение массы селезенки с возрастом было одинаковым у интактных и подвергавшихся воздействию эндокринного дисраптора крыс. У интактных крыс отмечалось снижение пролиферативной активности клеток селезенки в пубертатном периоде. У крыс, подвергающихся воздействию низких доз ДДТ, к периоду полового созревания пролиферативная активность клеток уменьшилась в значительно большей степени и стала вдвое ниже значений интактных крыс.

Полученные данные свидетельствуют, что продолжающееся воздействие эндокринного дисраптора ДДТ на развивающийся организм вызывает значительные изменения пролиферативной активности клеток селезенки, увеличивая амплитуду возрастных изменений как в препубертатном возрасте, так и в процессе полового созревания.

Исследование выполнено по госзаданию FGFZ-2022-0035.

1. Kahn L.G., Philippat C., Nakayama S.F. et al. Endocrine-disrupting chemicals: implications for human health // *Lancet Diabetes Endocrinol.*, 2020, vol. 8, no. 8, pp. 703-718, doi: 10.1016/S2213-8587(20)30129-7.

2. Яглова Н.В., Гагулаева Б.Б., Тимохина Е.П. и др. Отличия в развитии селезенки у новорожденных крыс, подвергавшихся воздействию эндокринного дисраптора ДДТ в пренатальном периоде // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, 2023, т. 176, № 7, с. 128-132, doi: 10.47056/0365-9615-2023-176-7-128-132.

3. Гагулаева Б.Б., Яглова Н.В., Обернихин С.С. и др. Изменения формирования селезенки в раннем постнатальном периоде у крыс, развивавшихся при низкодозовом воздействии эндокринного дисраптора ДДТ // *Клиническая и экспериментальная морфология*, 2023, т. 12, № 4, с. 71-79, doi: 10.31088/СЕМ2023.12.4.71-79.

ИССЛЕДОВАНИЯ ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩИХ СВОЙСТВ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ ФУЛЛЕРЕНОВ C₆₀

Studies of Photosensitizing Properties of Aqueous Solutions of C₆₀ Fullerenes

Гаджи А.В., Меджитов Р.А., Лантушенко А.О.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, aolantushenko@mail.sevsu.ru

Фотодинамическая терапия – это минимально инвазивный метод лечения, при котором фотосенсибилизаторы, накапливающиеся в патологических клетках, активируются светом, вызывая фотохимическую реакцию, что приводит к гибели целевых клеток благодаря образованию активных форм кислорода и возникновению окислительного стресса.

Поиск эффективных и селективных фотосенсибилизаторов, способных избирательно воздействовать на опухолевые и патологические ткани, при этом минимизируя повреждение здоровых участков, является актуальной научной задачей.

В качестве фотосенсибилизаторов используются различные соединения: метиленовый синий, рибофлавин, бенгальская роза, синтетические производные порфирина, хлорина и др., отличающиеся специфичностью и эффективностью [1]. В работе [2] было показано, что фуллерены и их комплексы могут претендовать на роль новых фотосенсибилизаторов.

В данной работе были проведены исследования способности генерации АФК фуллеренами при облучении их лазером с длиной волны 532 нм. Использовались 2 модификации фуллерена C₆₀: коммерческая водорастворимая форма «С₆₀био» и водный раствор, полученный из порошка путем обработки ультразвуковым диспергатором (Hielscher UP200Ht) в течение 10 часов с последующим центрифугированием 15000g в течение 5 минут. Размеры агрегатов фуллерена в исследуемых растворах оценивали с помощью динамического светорассеяния на приборе Zetasizer Ultra (Malvern, США). Для детекции АФК использовали химическую ловушку 9,10-Антрацендиил-бис(метилен) дималоновую кислоту (DPBF) [3]. Молекула DPBF захватывает синглетный кислород, при этом меняя свою структуру, что приводит к обесцвечиванию раствора и уменьшению его оптической плотности. Концентрация ловушки во всех исследованных растворах фуллеренов составляла 23·10⁻³ мг/мл. Спектры поглощения были сняты на спектрофотометре Lambda 265 (PerkinElmer, США) в оптическом и ближнем УФ диапазоне, оценивалась оптическая плотность на длине волны 410 нм.

Размеры агрегатов фуллерена в растворе С₆₀био составили 100 нм, после центрифугирования 77 нм, аналогичные значения для диспергированного раствора 266 нм и 101 нм. Облучение лазером на длине волны 532 нм и мощности 100 мВт осуществлялось в темном помещении в течение 10 минут. При использовании фуллерена С₆₀био уменьшение оптической плотности на длине волны поглощения ловушки составило для нецентрифугированного раствора 46%, а после центрифугирования 56%, а в диспергированном водном растворе С₆₀ аналогичные значения составили 15 и 18%. Таким образом, исследованные центрифугированные формы фуллерена С₆₀ могут рассматриваться как перспективные в качестве фотосенсибилизаторов для ФДТ.

Исследования проведены в рамках гранта РНФ №23-73-00130 «рН/АТФ-зависимая активация конъюгатов ДНК-аптамеров с эндофуллеренами для терапии рака».

1. Поняев А.И., Глухова Я.С., Черных Я.С. Фотосенсибилизаторы для фотодинамической терапии (обзор) // Известия Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета), 2017, т. 41 (67), с. 71-78.

2. Belousova I.M. et al. Structural and optical properties of solid-phase singlet oxygen photosensitizers based on fullerene aqueous suspensions // Optics and Spectroscopy, 2008, vol. 105, pp. 711-719.

3. Entradas T., Waldron S., Volk M. The detection sensitivity of commonly used singlet oxygen probes in aqueous environments // Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2020, vol. 204, p. 111787.

БИОФИЗИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ И РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПОЛИСАХАРИДОВ ПРИ SARS-CoV-2 ИНФЕКЦИИ

Biophysical Basis and Results of the Polysaccharide Application in SARS-CoV-2 Infection

Генералов Е.А.¹, Ланкин Е.С.², Овчинников Р.Н.², Бургасова О.А.³, Долинный С.В.^{3,4}, Симоненко Е.Ю.¹, Генералова Л.В.³, Крицкая К.А.⁵, Ларюшкин Д.П.⁶

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, generals1179@gmail.com

² Филиал №3 ФГБУ «3 Центральный военный клинический госпиталь им. А.А. Вишневского» Министерства обороны Российской Федерации (25 Центральный военный клинический госпиталь сил стратегических миссий), г. Одинцово, РФ

³ Российский университет дружбы народов, г. Москва, РФ

⁴ ГКБ им. В.П. Демикова, г. Москва, РФ

⁵ Институт Биофизики Клетки РАН, г. Пущино, РФ

⁶ Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино, РФ

Во время вспышки новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 врачебное и научное сообщество испытывало острый дефицит в эффективных методах и препаратах терапии пациентов. Несмотря на значимый прогресс в области разработок методов и средств терапии и профилактики COVID-19, сохраняется высокая потребность в поиске новых, что обусловлено и высокой вариабельностью патогена, и растущим риском новой пандемии. В связи с этим были проведены исследования по изучению специфической биологической активности полисахаридного препарата «Иммеран» (РУ № LP-004128 от 08.02.2017) у пациентов с SARS-CoV-2.

Были получены данные компьютерной томографии органов грудной клетки, самочувствия и динамики температуры тела при применении препарата «Иммеран» off-label (протокол локального этического комитета № 31 от 16.03.2020).

Ранее нами было показано, что в модели сирийских хомяков было показано, что «Иммеран» обладает иммуноадьювантными свойствами, подавляет репликацию вируса, предотвращает потерю веса, стимулирует экспрессию вируснейтрализующих антител, что является механизмом для иммунологического действия препарата, до 5 раз по сравнению с контролем и улучшает состояние легких [1,2].

Температура тела пациентов значительно снизилась во всех трех группах, причем наиболее быстрый и выраженный эффект наблюдался в группе, получавшей «Иммеран» внутривенно два раза в день. Это свидетельствует о том, что внутривенное введение препарата эффективно для контроля температуры тела у пациентов с COVID-19.

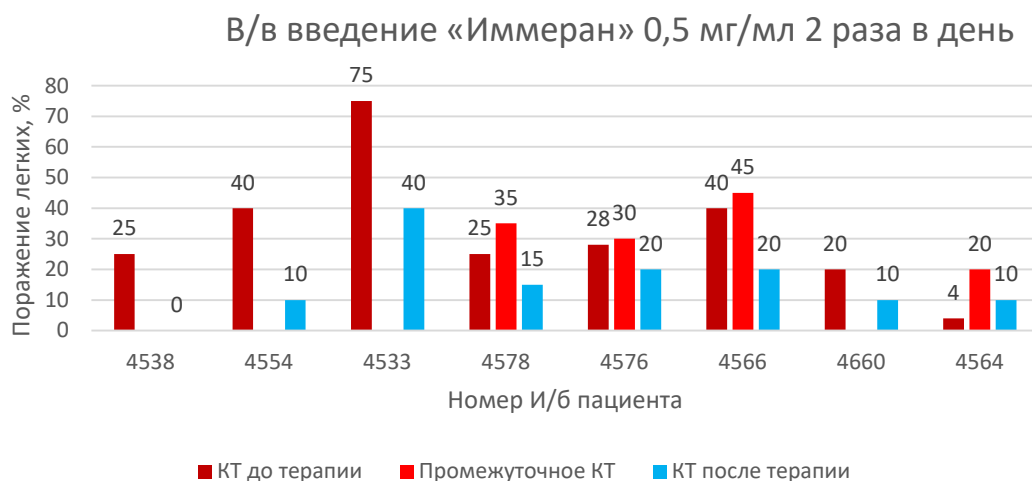


Рисунок 1. Изменение данных КТ у пациентов

Компьютерная томография (КТ) легких выявила значительное восстановление легочной паренхимы в группе, получавшей «Иммеран» внутривенно, тогда как в контрольной группе наблюдалось лишь частичное восстановление, что свидетельствует об эффективности внутривенного препарата «Иммеран» в восстановлении легочной паренхимы.

1. Генералов Е.А., Яковенко Л.В. Состав и митогенная активность полисахарида из *Solanum tuberosum L.* // Биофизика, 2024, т. 68, № 5, с. 856-862, doi: 10.31857/s0006302923050034.

2. Generalova L.V., Laryushkin, D.P., Leneva, I.A. et al. Evaluation of the Polysaccharide “Immeran” Activity in Syrian hamsters’ Model of SARS-CoV-2 // Viruses, 2024, vol. 16, no. 3, 423, doi: 10.3390/v16030423.

ОСНОВНЫЕ ЗАВИСИМОСТИ ПРИ КОРРЕЛЯЦИОННОМ ИЗМЕРЕНИИ ТЕПЛООВОГО АКУСТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Basic Dependencies in the Correlation Measurement of Thermal Acoustic Radiation

Грановский Н.В.¹, Аносов А.А.^{1,2}, Ерофеев А.В.^{1,2}, Мансфельд А.Д.³, Беляев Р.В.³, Казанский А.С.¹

¹ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), г. Москва, РФ, granovsky_nikita@mail.ru

² Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН, г. Москва, РФ

³ Институт прикладной физики РАН, г. Нижний Новгород, РФ

При выполнении различных медицинских процедур, таких как гипертермия, термоабляция, доставка лекарств в термоллипосомальной оболочке и прочее, важно проводить безболезненные неинвазивные измерения глубокой температуры человеческого тела. В данном случае рассматриваются возможности пассивной акустической термометрии. Пассивная акустическая термометрия – это метод измерения теплового акустического излучения объекта для определения его внутренней температуры. При необходимости восстановить распределение температуры можно использовать корреляционный или некорреляционный прием.

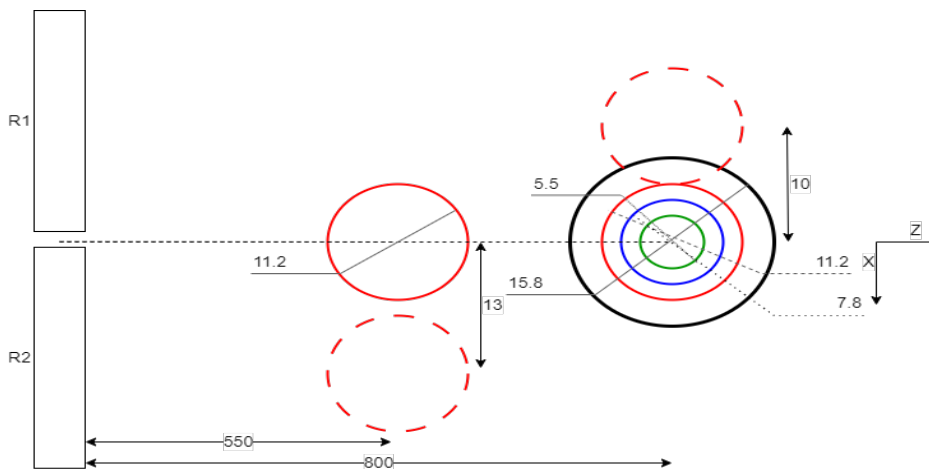


Рисунок 1. Схема корреляционного приема теплового акустического излучения парой датчиков R1 и R2. Показано расположение нагретых источников разного диаметра 5,5, 7,6, 11,2 и 15,8 мм, находившихся на расстояниях 550 и 800 мм от приемников. Все размеры указаны в миллиметрах

Акустические датчики квадратного сечения со стороной $a = 20,0 \pm 0,2$ мм, расстояние между центрами которых $D = 22,0 \pm 0,3$ мм, находились в аквариуме, заполненном водой при комнатной температуре $19,6 \pm 0,3$ °C. Оси датчиков лежали в горизонтальной плоскости и пересекались на расстоянии $z = 550 \pm 3$ мм или 800 ± 3 мм от приемников. В качестве источников теплового акустического излучения использовали расположенные вертикально тефлоновые цилиндры длиной 142 ± 1 мм и диаметрами $\Delta x = 5,5, 7,6, 11,2, 15,8 \pm 0,1$ мм. Цилиндры были предварительно нагреты до температуры $55 \pm 0,3$ °C, после чего помещались в аквариум.

Кросскорреляционную функцию теплового акустического излучения для схем, показанных на рисунках 1 и 2, можно представить выражением:

$$K(\tau) \sim T_0 \frac{\sin\left[\pi \frac{\Delta f}{f} \left(\frac{Dx_0}{\lambda z} - f\tau\right)\right]}{\pi \frac{\Delta f}{f} \left(\frac{Dx_0}{\lambda z} - f\tau\right)} \frac{\sin\left(\pi \frac{D\Delta x}{\lambda z}\right)}{\pi \frac{D\Delta x}{\lambda z}} \cos\left[2\pi \left(\frac{D}{\lambda} \frac{x_0}{z} - f\tau\right)\right],$$

где Δf – полоса пропускания датчика, λ и f – средняя длина волны и частота принимаемого сигнала, D – расстояние между датчиками, z – расстояние от датчиков до источника сигнала, T_0 , x_0 , Δx – температура, положение центра, поперечный размер источника.

Проведены измерения корреляции теплового акустического излучения с помощью пары приемников. По формулам, используемым в радиоастрономии, рассчитаны кросскорреляционные функции теплового акустического излучения.

1. Есепкина Н.А., Корольков Д.В., Парийский Ю.Н. Радиотелескопы и радиометры. Наука. Гл. ред. физ.-мат. лит., 1973, с. 19-22.

2. Anosov A.A., Granovsky N.V., Belyaev R.V. et al. Correlation Measurements of Thermal Acoustic Radiation Using a Sensor Array // Acoustical Physics, 2024, vol. 70 (1), pp. 21-28.

ВЛИЯНИЕ УДАРНЫХ ВОЛН НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БИОПЛЕНОК *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* К АНТИБИОТИКАМ

Influence of Shock Waves on the Sensitivity of *Pseudomonas Aeruginosa* Bacterial Biofilm to Antibiotics

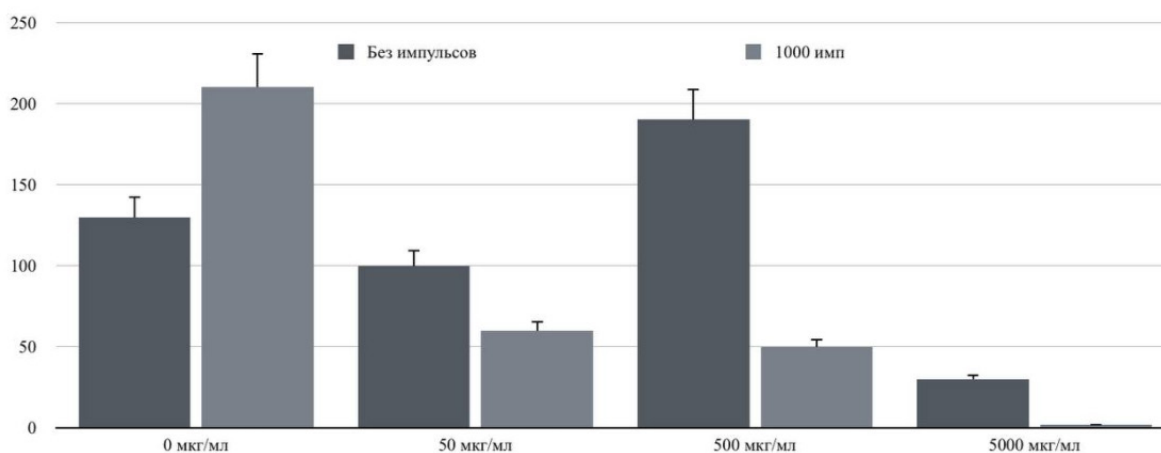
Давыдова О.К., Ишемгулов А.Т., Григорьев М.Е., Летуа С.Н.

Оренбургский государственный университет, г. Оренбург, РФ, okdavydova@yahoo.com

В настоящее время наиболее остро стоит вопрос инактивации антибиотикорезистентных патогенных микроорганизмов, в особенности, в составе биопленок, отличающихся наибольшей устойчивостью к действию внешних факторов [1]. Современные методы борьбы с микроорганизмами, испытанные ранее на планктонных клетках, практически не действуют на многоклеточные микробные формирования. В связи с этим необходимо обосновывать практические подходы к определению чувствительности к антибиотикам у биопленочных бактерий [2].

В работе исследованы биопленки *Pseudomonas aeruginosa*, грамотрицательной подвижной палочки, условно-патогенного микроорганизма, характеризующегося высокой антибиотикорезистентностью. Пленки готовили из суспензии клеток, нормированных по стандарту мутности МакФарланда 0.5, смешивая в объеме 1 мл в стерильной чашке Петри с 20 мл ЦПХ-бульона и ЦПХ-агара, взятыми в соотношении 1:1, и инкубировали 24 часа при температуре 37 °С. Качество биопленки оценивали по равномерно распределенному сине-зеленому пигменту, характерному для данного микроорганизма. Далее с помощью пробойника диаметром 5 мм из плотной агаровой среды со сформированной на ее поверхности биопленкой вырезали одинаковые блоки, которые помещали в кювету с раствором антибиотика тетрациклина различной концентрации и подвергали действию ударных волн. Ударные волны генерировались путем локального нагрева среды импульсами сфокусированного лазерного излучения наносекундной длительности. Энергия излучения трансформировалась в тепло в ходе безызлучательной релаксации возбужденных состояний молекул красителя родамина С в концентрации 0,5 мМ.

В ходе эксперимента, при фиксированном количестве ударных волн (1000 импульсов) и меняющейся концентрации антибиотика (5000, 500, 50 мкг/мл) осуществлялась ударно-волновая деструкция биопленок, которые затем извлекались из растворов, помещались в пробирку типа эппендорф в 1 мл физраствора, пипетировались и вортиксовались в течение 60 секунд, разводили в 10^7 раз, высевали на ЦПХ-агар и подсчитывали колониеобразующие единицы (КОЕ) после инкубации при температуре 37 °С в течение 24 часов не менее чем в трех повторностях. В качестве контроля использовали биопленки, не подвергавшиеся воздействию ударных волн. Воздействие ударных волн на биопленки *P. aeruginosa* без антибиотика, приводит к увеличению числа бактерий в растворе над поверхностью пленки, за счет разрыва связей межбактериального матрикса, делая их более доступными для посева. С ростом же концентрации антибиотика чувствительность бактерий к тетрациклину возрастает с 40 % до 93 % соответственно.



Полученные зависимости позволяют сделать вывод, что воздействие ударных волн многократно усиливает действие антимикробных препаратов на биопленки.

1. Рахматулина М.Р., Нечаева И.А. Биопленки микроорганизмов и их роль в формировании резистентности к антибактериальным препаратам // Вестник дерматологии и венерологии, 2015, № 2, с. 58-62.

2. Чеботарь И.В., Маянский А.Н., Кончакова Е.Д. и др. Антибиотикорезистентность биопленочных бактерий // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2015, т. 14, № 1, с. 51-58.

СОВМЕСТНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ПАССИВНОЙ АКУСТИЧЕСКОЙ ТЕРМОМЕТРИИ И ИНФРАКРАСНОЙ ТЕРМОГРАФИИ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ЛОКАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА

Joint Application of Passive Acoustic Thermometry and Infrared Thermography Methods in Modeling Local Hyperthermia of the Human Brain

Ерофеев А.В.^{1,2}, Острейко О.В.⁴, Шаракшанэ А.С.^{1,2}, Грановский Н.В.¹, Спирин Д.В.², Мансфельд А.Д.³, Аносов А.А.^{1,2}

¹ Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, г. Москва, РФ, averof2364@gmail.com

² Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН, г. Москва, РФ

³ Институт прикладной физики им. А.В. Гапонова-Грехова РАН, г. Нижний Новгород, РФ

⁴ Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, г. Санкт-Петербург, РФ

При циторедукции опухолевой ткани головного мозга человека методом локальной гипертермии важно локализовать область нагрева, контролировать ее размеры и температуру. Проведено исследование возможностей определения параметров распределения температуры при локальной гипертермии на фантоме мозга совместным применением методов пассивной акустической термометрии (ПАТ) и инфракрасной термографии (ИКТ). Локальный нагрев модельного объекта проводился хирургическим лазером мощностью 2 Вт на длинах волн 0,97 мкм. Получены данные о распределении температуры в фантоме при определенной глубине расположения источника тепловой мощности и выбранной продолжительности процедуры методом пассивной акустической термометрии (ПАТ). Также методом инфракрасной термографии (ИКТ) определено изменение во времени размера нагреваемой областей, в которых температура превышает 45 и 60 °С. Полученные данные показывают, что при глубине расположения источника нагрева 2 см ПАТ регистрирует увеличение глубинной температуры немедленно, в то время как ИКТ, видимо, после расширения области нагрева до поверхности фантома, показывает начало нагрева только через 1,5 минуты. При этом данные ПАТ и ИК-термометрии хорошо согласуются и при совместном использовании позволяют точнее оценить тепловое состояние тканей.

СПОСОБ НЕИНВАЗИВНОЙ ДИАГНОСТИКИ И КОНТРОЛЯ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ СПОРТСМЕНОВ

A Method for Noninvasive Diagnosis and Monitoring of Athletes' Physical Activity

Жукова Г.В.¹, Кратасюк В.А.^{1,2}, Мазняк Н.В.¹

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

² Институт биофизики СО РАН, г. Красноярск, РФ

Микроэлементы играют существенную роль в реализации биологических функций организма¹. В организме микроэлементы содержатся практически во всех физиологических жидкостях. Одной из информативных биологических жидкостей, содержащей в себе множество разнообразных биомаркеров и имеющая ряд преимуществ, является слюна. Разработка методики комплексного диагностирования таких сложных биологических сред сейчас весьма актуальна.

Исследованы образцы слюны группы спортсменов с аэробной и анаэробной нагрузкой (n=117), до и через 15 минут после тренировки. Исследование элементного статуса проводили методом атомно-абсорбционной спектроскопии с электротемической атомизацией в графитовой печи поперечного нагрева в технике микроанализа. Интегральный показатель определяли биолюминесцентным методом тестирования².

По результатам исследования у спортсменов с аэробной нагрузкой достоверно выше концентрация Cu^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} . Выявлено снижение концентрации Cu^{2+} и Zn^{2+} после тренировки в обеих группах ($P < 0,05$). Концентрации Mn^{2+} и Fe^{2+} имеют незначительные изменения после тренировки. При исследовании концентрации K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} наблюдалось преимущественно уменьшение концентрации после физической нагрузки². Биолюминесцентный интегральный показатель так же достоверно ниже в группе с анаэробной нагрузкой, что отражает суммарный эффект воздействия нагрузки на живой организм и дает возможность первичного диагностирования и контроля тренировочного процесса.

Работа выполнена при поддержке проекта. Российского научного фонда № 23-25-10039 <https://rscf.ru/project/23-25-10039/> совместно с Красноярским краевым фондом науки.

Работа выполнена на базе Центра коллективного пользования СФУ «Научно-технологические методы исследования и анализа новых материалов, наноматериалов и минерального сырья» и Лаборатории биолюминесцентных биотехнологий СФУ.

Таблица 1. Показатели состава слюны до и после физической нагрузки у спортсменов с аэробной и анаэробной нагрузкой

параметры	аэробная нагрузка		анаэробная нагрузка	
	до	после	до	после
Интегральный показатель, %	84 ± 5,9	71 ± 6,3	42 ± 4,1	53 ± 4,5
Cu ²⁺ , мг/л	0,008 ± 0,001	0,006 ± 0,001	0,006 ± 0,001	0,003 ± 0,001
Mn ²⁺ , мг/л	0,009 ± 0,002	0,009 ± 0,002	0,004 ± 0,001	0,002 ± 0,005
Fe ²⁺ , мг/л	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,15 ± 0,08	0,05 ± 0,01
Zn ²⁺ , мг/л	0,35 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,25 ± 0,1	0,07 ± 0,02
K ⁺ , ммоль/л	9,8 ± 3,6	9,7 ± 2,5	8,4 ± 3,3	8,9 ± 3,1
Na ⁺ , ммоль/л	16,8 ± 9,3	9,3 ± 2,6	24,9 ± 8,5	21,4 ± 7,9
Mg ²⁺ , ммоль/л	0,4 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,2	0,3 ± 0,1
Ca ²⁺ , ммоль/л	1,5 ± 0,5	0,9 ± 0,3	1,0 ± 0,5	1,1 ± 0,2

1. Троегубова Н.А., Рылова Н.В., Гильмутдинов Р.Р. // Практическая медицина, 2013, т. 6 (75), с. 170-171.

2. Kratasyuk V.A., Stepanova L.V., Ranjan R. et al. // Luminescence, 2020, vol. 36 (2), pp. 384-390, doi: 10.1002/bio.3954.

БАКТЕРИОФАГИ В ЛЕЧЕНИИ И ПРОФИЛАКТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ТУБЕРКУЛЕЗОМ – ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ

Bacteriophages in the Treatment and Prevention of Tuberculosis Diseases – Application Possibilities

Каминская Л.А.¹, Ботин А.С.^{2,3}

¹ ФГБОУ ВО Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ) Пушкинский филиал, г. Пушкино, Московская обл., РФ, mustaevich@mail.ru

² Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, Институт биохимической технологии и нанотехнологии, г. Москва, РФ, botin-as@rudn.ru

³ ГБУЗ «НИИ Скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», г. Москва, РФ, BotinAS@sklif.mos.ru

Актуальность данного вопроса заключается в том, что туберкулез, несмотря на значительный прогресс и крупные достижения в области фтизиатрии на сегодняшний день, тем не менее это заболевание до сих пор остается одним из опаснейших патологий в мире. В 2022 году туберкулез являлся вторым по смертности инфекционным заболеванием, на первом месте был COVID-19. Согласно данным ВОЗ, всего в мире в 2022 году было диагностировано около 7,5 миллионов новых случаев этой инфекционной болезни.

Микобактерии туберкулёза сохраняют чрезвычайную устойчивость к факторам внешней среды. Так, например, в домашней пыли, воде, почве, в молочных продуктах (сыр, масло, молоко.), данный вид возбудителя может оставаться жизнеспособным примерно год, в захороненных трупах – несколько месяцев, в уличной пыли – 8-12 дней. Микобактерии туберкулёза проявляют устойчивость даже к спиртам, в также щелочам и кислотам. Зато прямые ультрафиолетовые и солнечные лучи убивают этого страшного возбудителя всего за несколько минут, нагревание до 70 градусов – уничтожают микобактерии туберкулёза за 30 мин., кипячение – в течение 5 минут.

Заражение микобактериями туберкулёза происходит различными путями: при чихании больного человека при разговоре, сопровождавшемся кашлем, при попадании в организм здорового человека частиц мокроты больного вместе с пылью, через продукты питания от больного скота, чрез кожный путь заражения, если кожные покровы повреждены, а также внутриутробно (при поражении туберкулёзом материнской плаценты).

Поскольку, микобактериальные инфекции являются очень серьезной проблемой в современной медицине, поэтому особенно актуальна задача борьбы с возбудителями туберкулёза *Mycobacterium tuberculosis* – мультирезистентными штаммами (MDR) и штаммами с широкой лекарственной устойчивостью (XDR). В современном мире проводится интенсивный поиск принципиально других, альтернативных антибиотикам, средств лечения туберкулёза, вот почему бактериофаги рассматриваются как весьма перспективное направление, хорошо зарекомендовавшее себя на других возбудителях бактериальной природы.

Уникальное свойство бактериофагов уничтожать микобактерии *in vitro* изучено неплохо, но данных о фаготерапии для людей с микобактериальными инфекциями вообще, и конкретно с туберкулёзом в частности представлено мало.

Важнейшей фактом, является то, что микобактерии по сути есть внутриклеточные паразиты, которые живут внутри клеток хозяина. Поэтому, на них не действует большинство антибиотиков, и до них значительно труднее добраться бактериофагам. Таким образом, внедрение фаготерапии микобактериальных инфекций требует

решения проблемы доставки бактериофагов внутрь клетки-хозяина. В данной работе анализируются способы доставки бактериофагов к мишеням - микобактериям.

В частности, весьма перспективный метод доставки фагов в клетки человека – использование самых микобактерий, но невирулентного быстрорастущего вида *Mycobacterium smegmatis*, который не вызывает заболевания даже у людей с подавленным иммунитетом. Применение фаготерапии с *M. smegmatis* может решать ряд задач: 1) служить носителем, для доставки бактериофагов внутри себя в клетки хозяина, где фаги высвобождаются и заражают вирулентные микобактерии; 2) быть бактерией-мишенью и обеспечивать быстрое увеличение численности бактериофагов; 3) повышать скорость заражения патогенов бактериофагами и т.д. [1].

Другой возможный метод доставки фагов патогенных микобактерий-мишеней заключается в использовании липосом.

Профилактика туберкулеза и лечение путем сочетания воздействия лекарственных препаратов и бактериофагов, может быть первичной, когда проводится у здоровых лиц, не инфицированных микобактериями туберкулеза, но которые находятся в контакте с больными туберкулезом, и вторичной – у пациентов, инфицированных или переболевших туберкулезом в прошлом. Профилактика туберкулеза и лечение путем первичной химиопрофилактики в сочетании с бактериофагами снижает не только саму заболеваемость, но и инфицированность, подавляя туберкулез в самом начальном инкубационном периоде, вторичная профилактика такого типа – предупреждает проявление экзогенной суперинфекции и активизацию эндогенной инфекции туберкулеза.

1. Azimi T., Mosadegh M., Nasiri M.J. et al. Phage therapy as a renewed therapeutic approach to mycobacterial infections: a comprehensive review // *Infection and Drug Resistance*, 2019, vol. 12, pp. 2943-2959, doi: 10.2147/IDR.S218638.

ОСМОТИЧЕСКАЯ ГРАДИЕНТНАЯ ЭКТАЦИТОМЕТРИЯ В ДИАГНОСТИКЕ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Osmotic Gradient Ectacytometry in the Diagnosis of Various Diseases

Катюхин Л.Н., Чеботарева М.А., Шуколокова Е.П., Полина Ю.А., Никитина Е.Р.

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М.Сеченова, г. Санкт-Петербург, РФ,
elena.nikitina@bk.ru

Эритроциты все чаще признаются в качестве биомаркеров различных заболеваний. Деформируемость эритроцитов является ключевым фактором, определяющим кровоток в микроциркуляции. Любое снижение деформируемости эритроцитов может влиять на сопротивление кровотоку, снижение перфузии и насыщения кислородом органов и тканей, а, следовательно, и на их повреждение. Метод осмотической градиентной эктацитометрии позволяет провести оперативную и информативную оценку деформируемости эритроцитов и считается «золотым стандартом» для измерения их деформируемости. Изначально эктацитометрия использовалась для исследования наследственных нарушений мембран эритроцитов, таких как серповидно-клеточная и гемолитическая анемия, когда деформируемость эритроцитов была значительно снижена. С развитием метода эктацитометрии его начали использовать в клинической диагностике этих заболеваний за рубежом. Преимущества эктацитометрии по сравнению с другими методами исследования включают чувствительность, точность и простоту использования. В связи с развитием метода осмотической градиентной эктацитометрии были проведены исследования и установлено снижение деформируемости эритроцитов при различных типах диабета [1], ишемических повреждениях [2], сердечно-сосудистых заболеваниях [3] и онкологии [4]. Однако, несмотря на многочисленные преимущества метода эктацитометрии, такие функциональные тесты в настоящее время доступны только в нескольких клинических лабораториях на Западе, а оборудование для их проведения в стандартизированных условиях ограничено. С помощью осмотического градиентного эктацитометра, созданного сотрудниками нашей группы, мы исследовали деформируемость эритроцитов гибернаторов - сусликов (*Spermophilus pygmaeus*) в различные сезоны года [5] и в динамике выхода из спячки (при различных температурах тела животного). Были выявлены адаптивные изменения деформируемости эритроцитов и гематологических показателей сусликов в активный период их жизни. Мы впервые обнаружили сезонную изменчивость деформируемости эритроцитов сусликов, которая соответствовала весенне-летней активности животных и подготовке к спячке. Анализ деформируемости эритроцитов при малом сдвиговом напряжении позволил установить изменения вязкоупругих свойств мембран эритроцитов сусликов в разные сезоны года. В данной работе был использован подход для анализа индекса деформируемости эритроцитов при низких скоростях сдвига, что расширяет возможности лазерной эктацитометрии для оценки микровязкости клеточных мембран. Далее проводилось исследование деформируемости эритроцитов экспериментальных животных (крыс) под влиянием диабета и лекарственных препаратов от нейропатических болей при сахарном диабете; при индуцированной ишемии/реперфузии и препарате для ее лечения. Мы заметили, что деформируемость эритроцитов крыс, сниженная при сахарном диабете 1 типа восстанавливалась при применении лекарств от нейропатической боли. Мы обнаружили, что осмотическая градиентная эктацитометрия

чувствительна к изменению течения заболевания и к лечению (неопубликованные данные). Поскольку нарушения реологии крови являются отличительной чертой патофизиологии большого количества заболеваний, мы полагаем, что эктацитометрию можно использовать в РФ как инструмент для диагностики тяжести различных заболеваний и в процессе лечения (для коррекции лечения). Более того, в описании к лекарственным препаратам отсутствуют данные по действию препаратов на реологию крови. Выбирая препараты для лечения больных, необходимо учитывать если не их способность улучшать, то, по крайней мере, не оказывать отрицательного влияния на реологические свойства крови, такие как деформируемость. Таким образом, анализ деформируемости эритроцитов может стать ценным дополнением к другим методам диагностики заболеваний, а мониторинг свойств эритроцитов с помощью эктацитометра может помочь в диагностике и оценке эффективности проводимого лечения (Работа поддержана Госзаданием 075-00264 24 00).

1. Skinner S., Connes P., Sigauco-Roussel D. et al. Altered blood rheology and impaired pressure-induced cutaneous vasodilation in a mouse model of combined type 2 diabetes and sickle cell trait // *Microvascular Research*, 2019, no. 122, pp. 111-116, doi: 10.1016/j.mvr.2018.11.014.

2. Nash G.B. Blood rheology and ischaemia // *Eye (London)*, 1991, vol. 5, no. 2, pp. 151-158, doi: 10.1038/eye.1991.29.

3. Toth K., Mezey B., Juricskay I. et al. Hemorheologic parameters during the 6 months following myocardial infarct // *Orvosi Hetilap*, 1990, vol. 131, no. 14, pp. 727-730.

4. Tikhomirova I., Petrochenko E., Muravyov A. et al. Microcirculation and blood rheology abnormalities in chronic heart failure // *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 2017, vol. 65, no. 4, pp. 383-391, doi: 10.3233/CH-16206.PMID: 27814286.

5. Katiukhin L.N., Chalabov S.I., Bekshokov K.S. et al. Seasonal changes in blood rheology in little ground squirrels // *Journal Experimental Zoology. Part A: Ecology and Integrative Physiology*, 2023, pp. 1-13, doi: 10.1002/jez.2693.

ИЗМЕНЕНИЯ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ОБЪЕМОВ И ВЕЛИЧИНЫ САТУРАЦИИ У ПЕРЕБОЛЕВШИХ ГРИППОМ ТИПА А (H1N1)

Changes in Respiratory Volumes and Saturation Values among Patients Who Have Recovered from Influenza a Virus Subtype H1N1

Каштанова Н.М., Животова Е.Н., Шайхутдинова А.Р., Сучкова Г.Г., Дружинин Г.А., Оранская Т.И., Хайруллин А.Е.

Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, РФ, elzhivotova@gmail.com

Известно, что вероятность тяжелых легочных осложнений у переболевших вирусом гриппа А (H1N1) очень высока [1]. У зараженных появляется одышка, характерно меняется цвет кожных покровов. Часто заболевший или переболевший данным типом гриппа затрудняется описать свой статус. Актуальна экспресс-диагностика принесённого заболевания. Таким критерием может послужить сатурация (доля насыщенного кислородом гемоглобина относительно общего гемоглобина в крови) из-за быстроты проведения исследования и компактности требуемого для данных целей оборудования. Также большое значение при оценке состояния здоровья имеет жизненная емкость легких – максимальное количество воздуха, которое можно выдохнуть после самого глубокого вдоха [2].

В исследовании приняли участие 48 студентов 2-го и 3-го курсов Казанского государственного медицинского университета (29 девушек и 19 юношей). В группе девушек было 9 неболевших гриппом А (H1N1), 18 перенесших грипп, а также в ходе проведения экспериментов были выявлены две болеющие гриппом А (H1N1) в тот момент девушки. В группе юношей было 8 неболевших гриппом А (H1N1) и 11 перенесших грипп. Средняя масса девушек составила 51 ± 5 кг, рост 169 ± 8 см ($n = 29$). Средняя масса юношей 65 ± 8 кг, рост 176 ± 9 см ($n = 19$).

Сатурация крови кислородом измерялась нами пульсоксиметром «*gi-fox N*». Жизненную емкость легких определяли с помощью спирографа микропроцессорного портативного СМП-21/01 «Р-Д».

У неболевших девушек ($n = 9$) жизненная ёмкость лёгких составила $3,49 \pm 0,31$ л, а у неболевших юношей $4,74 \pm 0,58$ л ($n = 8$). У переболевших гриппом А (H1N1) девушек ($n = 18$) жизненная ёмкость лёгких составила $2,40 \pm 0,32$ л (что достоверно ($p < 0,05$) отличается от контрольной группы), а у переболевших юношей $4,28 \pm 0,63$ л ($n = 11$). У неболевших девушек сатурация в покое составила $97,75 \pm 0,25$ %, а у переболевших $97,29 \pm 0,49$ %. После нагрузки у неболевших девушек сатурация составила $98,75 \pm 0,16$ % (что достоверно отличается от того, что было у этой группы в покое), а у переболевших – $94,75 \pm 0,72$ %, что тоже имеет достоверное отличие ($p < 0,05$). У болеющих девушек сатурация составила в среднем 92 %, нагрузку им не давали. Что касается юношей, то у неболевших сатурация в покое составила $98,20 \pm 0,22$ %, а у переболевших $96,98 \pm 0,52$ %. После нагрузки у неболевших сатурация составила $98,91 \pm 0,19$ % (что достоверно отличается от того, что было у этой группы в покое), а у переболевших – $95,74 \pm 0,56$ %, что тоже имеет достоверное отличие ($p < 0,05$).

Полученные данные по девушкам и юношам позволяют рассматривать жизненную ёмкость лёгких и показатели сатурации до и после нагрузки как экспресс-маркер перенесенного гриппа А (H1N1).

1. Цветков В.В., Деева Э.Г., Даниленко Д.М. и др. Молекулярно-генетические факторы патогенности вируса гриппа А(H1N1)pdm09 // Эпидемиология и инфекционные болезни, 2014, т. 19, № 4, с. 4-11.

2. Лосева В.С., Вишневская Л.П., Кубракова Н.В. Факторы, влияющие на жизненную емкость легких школьников // Мед. сестра, 2014, № 1, с. 42-44.

«НАВЯЗАННОЕ МЫШЛЕНИЕ» КАК РАБОТА ПОЛУ-РУКОТВОРНОГО МОЗГОВОГО МУЛЬТИВИБРАТОРА

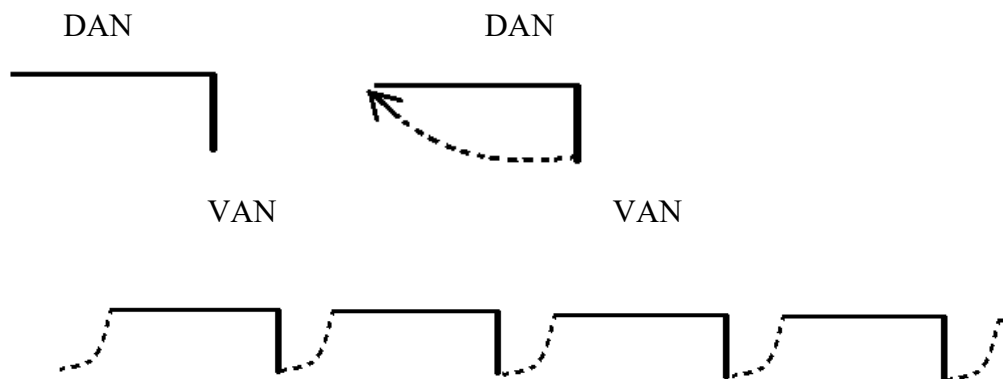
«Imposed Thinking» as the Work of the Semi-Artificial Brain Multivibrator

Коломбет В.А., Лесных В.Н., Елистратов А.В.

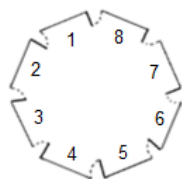
Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино, РФ, v.kolombet@rambler.ru

Во множестве работ, начиная с [1] экспериментаторы при изучении головного мозга подробно исследовали две тесно связанные системы внимания – дорзальную и вентральную: DAN и VAN. Система DAN направлена на цель, захватившую внимание, а система VAN просто срывает работу DAN, получив отвлекающий внешний стимул.

Мы нашли способ заикнуть мышление человека, подав в момент VAN (см. рис. ниже) сигнал с выхода системы DAN на её вход и таким образом смогли образовать МОНОЦИКЛ:



Конечно, так возник не просто моноцикл, а последовательность моноциклов, т.е. мультивibrator, который, как выяснилось, состоит из не идентичных, а из минорно отличающихся моноциклов и поэтому реальное повторение возникает, как оказалось, лишь через 8 моноциклов. У 99% людей образуется такой МУЛЬТИЦИКЛ:



Причиной сворачивания последовательности моноциклов в мультицикл оказалась смена настроения, вшитая в роли храповика в механизм мышления. Этот храповик обычно «щёлкает» по завершении моноцикла.

См. ниже программу *измерения* на языке Python для численной оценки тональности серий ассоциаций, порождаемой системой DAN. Так мы извлекаем *количественные* значения из слов – материала *качественной* природы:

```
import nltk
from nltk.sentiment.vader import SentimentIntensityAnalyzer

# Инициализируем анализатор тональности
sid = SentimentIntensityAnalyzer()

# Список английских слов для анализа
words = ["Cars, Rabbit, Plastic, Teddy Bear, Toy Soldiers"]
# Проходимся по каждому слову, оцениваем его тональность и выводим результат
for word in words:
    ss = sid.polarity_scores(word)
    print(f"{word}: {ss}")
```

Примером применения этого подхода может быть количественный анализ изменений в мышлении волонтера, страдающего шизофренией и поддерживаемого врачом в психоневрологическом диспансере регулярными (раз в пять недель) уколами галоперидола деканоата. Этот волонтер написал нам 130 ежедневных тестов [2]. В итоге анализа мы предположили, что таких больных нужно дополнительно лечить ещё и от депрессии (по-видимому, антидепрессантами на основе селективных ингибиторов обратного захвата серотонина и норадреналина).

1. Corbetta M., Shulman G.L. Control of goal-directed and stimulus-driven attention in the brain // *Nat. Rev. Neurosci.*, 2002, vol. 3 (3), pp. 201-215, doi: 10.1038/nrn755. PMID: 11994752.

2. Коломбет В.А., Лесных В.Н., Елистратов А.В. Перспектива исследования психоактивных веществ в биофизическом психоанализе // *Известия Института инженерной физики*, 2024, № 2 (72), с. 49-56.

ПРИМЕНЕНИЕ И МОДЕРНИЗАЦИЯ БИОФИЗИЧЕСКОГО МЕТОДА МИКРОПОЛЯРИЗАЦИИ В КОМПЛЕКСНОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ НЕВРОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Application and Modernization of the Biophysical Micropolarization Method in the Complex Rehabilitation of Neurological Diseases

Куулар Мангалтепе А.Р.¹, Ботин А.С.^{2,3}

¹ ФГБОУ ВО Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ) Пушкинский филиал, г. Пушкино, Московская обл., РФ, *mustaevich@mail.ru*

² Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, Институт биохимической технологии и нанотехнологии, г. Москва, РФ, *botin-as@rudn.ru*

³ ГБУЗ «НИИ Скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», г. Москва, РФ, *BotinAS@sklif.mos.ru*

В настоящее время, по данным ВОЗ, соотношение детей с задержками психоречевого развития составляет 1:100 в общемировой популяции. Причем, согласно данным ВОЗ, отмечена ужасающая динамика с ежегодным приростом на 13% количества детей с задержками психоречевого развития. Кроме того, отмечается, что в мире ежегодно фиксируется более 6 миллионов инсультов (около 450.000 из них в Российской Федерации), что подтверждает острейшую необходимость во внедрении и применении инновационных методик реабилитации неврологических патологий.

В данной работе в качестве такой инновационной методики реабилитации неврологических патологий предлагается для внедрения, модернизации и массового применения, обновленный биофизический метод микрополяризации в комплексной реабилитации неврологических заболеваний, изначально развитый и апробированный в Институте мозга человека им. Н.П. Бехтерева РАН.

Объект исследования. В качестве объектов исследования были выбраны группы пациентов с задержками психоречевого, речевого развития, а также больные с поражениями спинного мозга.

Предмет исследования. Изучение применения микрополяризации в комплексной реабилитации пациентов с задержками психоречевого, речевого развития, с патологиями спинного мозга.

Основной задачей данного исследования является раскрытие возможностей такой неинвазивной высокотехнологичной терапии с целью подтверждения, что биофизическая микрополяризация является одним из самых эффективных методов лечения при комплексной реабилитации неврологических заболеваний.

Методы исследования. Применение транскраниальной и трансвертебральной микрополяризации в комплексной реабилитации пациентов с задержками психоречевого, речевого развития, с патологиями спинного мозга.

В данной работе приведены клинические результаты успешного применения микрополяризации в комплексной реабилитации пациентов с задержками психоречевого, речевого развития, а также пациентов с патологиями спинного мозга.

Практическая значимость биофизической микрополяризации. Метод микрополяризации может быть модернизирован и применён в неврологии, реабилитологии, гериатрии и в военной медицине.

Ввиду высокой клинической эффективности биофизической микрополяризации в терапии неврологических заболеваний есть необходимость повсеместного широкого внедрения данного метода.

ЭКСТРАКЛЕТОЧНЫЕ ЧАСТИЦЫ (EPs). КЛАССИФИКАЦИЯ, СВОЙСТВА, БИОГЕНЕЗ Extracellular particles. Classification, properties, biogenesis

Ланда С.Б.¹, Верлов Н.А.¹, Эмануэль В.Л.²

¹ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», г. Гатчина, РФ, sergey.landa@gmail.com

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, г. Санкт-Петербург, РФ

Исследование экстраклеточных частиц (EPs) быстро расширяется, поскольку недавние открытия показали гораздо большую сложность и разнообразие видов EPs, чем считалось всего несколько лет назад. В последние годы были описаны новые типы EPs. Клетки взаимодействуют друг с другом, выделяя сигнальные молекулы, включая белки, липиды и нуклеиновые кислоты. Клетки могут упаковывать эти сигнальные молекулы в EPs, чтобы, помимо прочего, избежать быстрой деградаци и уйти от иммунного надзора, что приводит к локальной и дальней межклеточной коммуникации. Экстраклеточные везикулы (EVs) это пузырьки, заключенные в липидный бислой, заключенный в мембрану, которые выделяются всеми типами клеток, изученными до настоящего времени, как в норме, так и при патологии и обнаруживаются во всех тканях и жидкостях организма. Экстраклеточные везикулы (EVs) это пузырьки, заключенные в липидный бислой, заключенный в мембрану, которые выделяются всеми типами клеток, изученными до настоящего времени, как в норме, так и при патологии, и обнаруживаются во всех тканях и жидкостях организма. Последние достижения в области выделения и аналитических методов исследования привели к выявлению все большего числа видов EVs.

Становится все более очевидным, что невезикулярные внеклеточные частицы (NVEPs), лишённые липидной двухслойной мембраны, присутствуют и часто в большом количестве во внеклеточном пространстве и жидкостях организма. NVEP включают в себя не только хорошо известные объекты, такие как липопротеины, нуклеосомы и так называемые хранилища (vaults), но также недавно открытые экзомы и супермеры.

Таким образом, наше понимание клеточной биологии и межклеточных коммуникаций, которым способствует высвобождение EVs и NVEPs, постоянно меняется. В докладе мы попытались описать различные типы EP, осветить последние достижения в области исследований EP и укажем на основные нерешенные вопросы.

ВЛИЯНИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНА C₆₀ НА АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ ЛЕГКИХ ЧЕЛОВЕКА (ФЛЭЧ)

The Effect of Water-Soluble Derivatives of Fullerene C₆₀ on the Antioxidant Activity of Human Embryonic Fibroblast Cells (HELFS)

Малиновская Е.М.¹, Савинова Е.А.¹, Ершова Е.С.¹, Сергеева В.А.¹, Каменева Л.В.¹, Краевая О.А.²,
Трошин П.А.², Вейко Н.Н.¹

¹ ФГБНУ «МГНЦ», г. Москва, РФ, m.elena.0402@gmail.com

² ИПФХ РАН, г. Черноголовка, РФ

Известно, что химическая структура каркаса фуллерена за счет большого количества сопряженных двойных связей обладает возможностью поглощать электроны, чем обусловлена антиоксидантная активность водорастворимых производных фуллеренов. Кроме этого, данные соединения вызывают активацию целого ряда других генов в клетках, чей ответ зависит не только от природы функциональных групп, присоединенных к фуллерену, но и от типа самой клетки [1].

Исследовали влияние двух водорастворимых производных фуллерена Ф-225 и Ф-231 (рис. 1) на функциональную активность эмбриональных фибробластов легкого человека (ФЛЭЧ) из коллекции клеточных культур ФГБНУ «МГНЦ» 2-6-го пассажей.

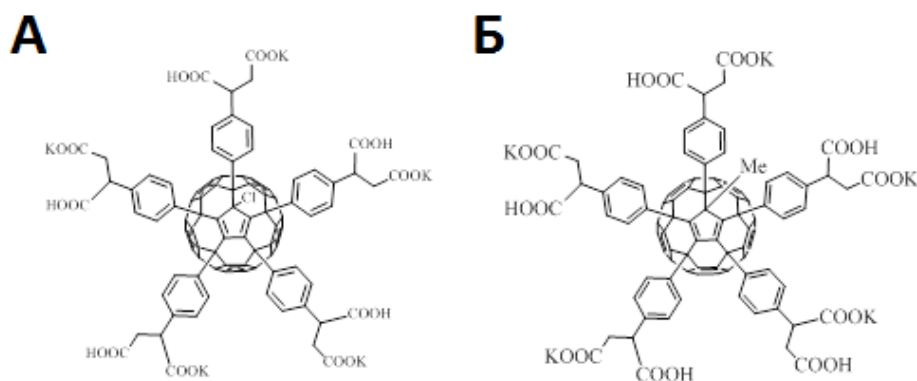


Рисунок 1. Молекулярная формула соединений Ф-225 (А) и Ф-231 (Б)

Для определения токсичности соединений в отношении культур клеток проводили стандартный МТТ-тест с детекцией на планшетном ридере («EnSpire», Финляндия). Уровень экспрессии белков определяли путём проточной цитофлуориметрии с использованием специфичных антител на приборе CyFlow Space (Partec, Германия). Уровень экспрессии генов оценивали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени. Статистическую обработку проводили с использованием программы Excel Microsoft Office, Statistica 6.0, StatGraph.

Выяснили, что исследованные соединения оказывают разное воздействие на ФЛЭЧ. МТТ-тест показал, что соединение Ф-225 в концентрации 20 нг/мл – 30 мкг/мл вызывает гибель $20 \pm 8\%$ клеток, соединение Ф-231 в концентрации 0,3-30 мкг/мл инициирует гибель 10-15 % клеток; в концентрации 30-550 мкг/мл оба соединения оказывают повреждающее воздействие на клетки, вызывая гибель менее 50% клеток; а в концентрации выше 550 мкг/мл оба соединения токсичны для клеток. Оба исследуемых соединения обладают выраженной флуоресценцией, которая позволяет исследовать их проникновение в клетки, накопление и локализацию в цитоплазме. Соединение Ф-225 проникает через клеточную мембрану в течение 1-3 часов, накапливаясь в цитоплазме в течение 2 суток. Соединение Ф-231 проникает через цитоплазматическую мембрану быстро – уже через 30 минут, через 2 часа в клетках наблюдается сильная флуоресценция, а уже через 24 часа флуоресценция фуллерена Ф-231 в клетках снижается, что может свидетельствовать о быстром выходе соединения из клеток.

При действии соединения Ф-225 в концентрации 0,3-30 мкг/мл через 1 час обнаружили повышение уровня экспрессии гена NRF2 – транскрипционного фактора, регулирующего антиокислительный ответ в ФЛЭЧ в 1,8-2 раза; повышение уровня экспрессии белка NRF2; его транслокацию в ядра клеток и возрастание уровня фосфорилированной формы NRF2. При действии соединения Ф-231 в концентрации 0,3-30 мкг/мл мы не обнаружили в течение 24 часов повышения уровня экспрессии NRF2 ни на уровне гена, ни на уровне белка.

1. Sergeeva V., Kraevaya O., Ershova E. et al. Antioxidant properties of fullerene derivatives depend on their chemical structure: a study of two fullerene derivatives on HELFs // *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2019, vol. 2019, 4398695, doi: 10.1155/2019/4398695.

СОЕДИНЕНИЕ SKF-10047 ПОДАВЛЯЕТ ЭФФЕКТ ГЛУТОКСИМА НА ТРАНСПОРТ Na^+ В ЭПИТЕЛИИ КОЖИ ЛЯГУШКИ

Compound SKF-10047 Suppresses the Glutoxim Effect on Na^+ Transport in the Frog Skin Epithelium

Мельницкая А.В.¹, Крутецкая З.И.¹, Антонов В.Г.², Крутецкая Н.И.¹, Бадюлина В.И.¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, РФ, *a.melnitskaya@spbu.ru*;

² Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, г. Санкт-Петербург, РФ

Исследование механизмов трансэпителиального транспорта веществ - важное направление современной биофизики, физиологии и медицины. Ранее нами было показано, что транспорт Na^+ в эпителии кожи лягушки модулируется различными окисляющими агентами, такими как окисленный глутатион (GSSG) и его фармакологический аналог, препарат глутоксим® (динатриевая соль GSSG с нанодобавкой d-металла; «ФАРМА – ВАМ», Санкт-Петербург) [1]. Фармакологические аналоги GSSG, объединенные в группу тиопозтинов, нашли широкое применение в качестве иммуномодуляторов и цитопротекторов в комплексной терапии бактериальных, вирусных и онкологических заболеваний, однако тонкие механизмы действия этих препаратов далеки от полного понимания, и продолжают интенсивно изучаться. Сигма-1 рецепторы - уникальные лигандрегулируемые молекулярные шапероны. Эти рецепторы экспрессированы в центральной нервной системе и в периферических тканях, в том числе в клетках почки и печени. Лиганды сигма-1 рецепторов рассматриваются в качестве потенциальных терапевтических агентов для лечения различных заболеваний, в том числе острого повреждения

почек, хронической болезни почек, диабетической нефропатии, а также в качестве поддерживающей терапии при трансплантации почек и зависимой от пола ренопротекции [2]. В связи с этим, представлялось целесообразным исследовать возможное участие сигма-1 рецепторов в регуляции глутоксिमом транспорта Na^+ в эпителии кожи лягушки. В экспериментах использовали высокоселективный агонист сигма-1 рецепторов – синтетический опиоидный анальгетик семейства бензоморфана – соединение SKF-10047.

Для регистрации вольт-амперных характеристик (ВАХ) кожи лягушки *Rana temporaria* использовали автоматизированную установку фиксации потенциала. Из ВАХ определяли электрические параметры кожи: ток короткого замыкания – I_{sc} , потенциал открытой цепи – V_{oc} и трансэпителиальную проводимость – g_t . Транспорт Na^+ оценивали как амilorид-чувствительный I_{sc} .

Впервые показано, что обработка базолатеральной поверхности кожи соединением SKF-10047 (50 мкМ) в течение 30 мин перед добавлением к той же поверхности кожи глутоксима (100 мкг/мл), полностью предотвращает стимулирующее влияние глутоксима на транспорт Na^+ , что свидетельствует об участии сигма-1 рецепторов в регуляторном действии глутоксима на транспорт Na^+ в коже лягушки (табл. 1).

Таблица 1. Влияние глутоксима на электрические характеристики кожи лягушки

Электрические характеристики кожи лягушки	Изменение электрических характеристик после приложения 100 мкг/мл глутоксима к базолатеральной поверхности кожи лягушки, %	Изменение электрических характеристик после приложения 100 мкг/мл глутоксима к базолатеральной поверхности кожи лягушки, предварительно обработанной 50 мкМ SKF-10047, %
I_{sc}	$\uparrow 39,18 \pm 11,23$	$\downarrow 50,33 \pm 6,08$
V_{oc}	$\uparrow 41,84 \pm 13,32$	$\downarrow 54,12 \pm 8,34$
g_t	$\uparrow 2,18 \pm 0,09$	$\downarrow 3,05 \pm 0,04$

Полученные нами результаты о модулирующем влиянии соединения SKF-10047 на регуляцию глутоксिमом трансэпителиального транспорта Na^+ способствуют более детальному пониманию молекулярных механизмов фармакологического действия производных GSSG и бензоморфана, а также дополняют данные о функциональной роли тиопозитинов и сигма-1 рецепторов в физиологии осморегулирующих эпителиев, и могут быть полезны для применения данных препаратов в клинической практике.

1. Krutetskaya Z.I., Lebedev O.E., Melnitskaya A.V. et al. Effect of disulfide-containing agents on the Na^+ transport in the frog skin // *Doklady Biological Sciences*, 2008, vol. 421, pp. 235-238, doi: 10.1134/s0012496608040042.

2. Munguia-Galaviz F.J., Miranda-Diaz A.G., Cardenas-Sosa M.A., Echavarría R. Sigma-1 receptor signaling: in search of new therapeutic alternatives for cardiovascular and renal diseases // *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, vol. 24, doi: 10.3390/ijms24031997.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КРИСТАЛЛОВ 4-МЕТИЛУМБЕЛЛИФЕРОНА С МОДЕЛЬЮ БИОЛОГИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ – ЛЕНГМЮРОВСКИМ МОНОСЛОЕМ

Interaction of 4-Methylumbelliferone Crystals with the Model of Biological Membrane - Langmuir Monolayer

Мишукова О.В.^{1,2}, Крикунова П.В.¹, Паллаева Т.Н.¹, Марченкова М.А.^{1,3}

¹ НИЦ «Курчатовский институт», г. Москва, РФ

² Российский университет дружбы народов, Институт биохимической технологии и нанотехнологии, г. Москва, РФ

³ Международный исследовательский институт интеллектуальных материалов Южного федерального университета, г. Ростов-на-Дону, РФ, olesia3251@mail.ru

Клетки представляют основные структурные и функциональные единицы организма, и их правильное функционирование необходимо для поддержания здоровья человека. Некоторые препараты способны улучшать работу клеток, ускорять процессы регенерации и восстановления тканей, а также бороться с патологическими изменениями в клетках, такими как раковые опухоли или инфекционные заболевания. Изучение влияния лекарств на клетку является крайне важным направлением в медицине и фармакологии.

Известно, что 4-метилумбеллиферон (4-MU) ингибирует синтез гиалуроновой кислоты в процессе образования внеклеточного матрикса при фиброзе печени [1], а также является перспективным соединением для терапии рака [2]. 4-MU влияет на воспалительный ответ разных типов клеток, однако механизмы действия сложны и далеко не полностью выяснены [3,4]. Таким образом, необходимо изучить влияние кристаллов 4-MU на клеточную мембрану, в том числе их взаимодействие.

В данной работе в качестве модели клеточной мембраны рассматривали ленгмюровский монослой, сформированный из яичного желтка, и изучали, как кристаллы 4-MU встраиваются в модель клеточной мембраны. Яичный желток – естественная смесь липидов, из которых и состоит клеточная мембрана. Было

проведено три вида экспериментов. В первом на поверхности субфазы был сформирован монослой яичного желтка при поверхностном давлении 5 мН/м. Далее во втором эксперименте в эту же систему был добавлен необходимый объем кристаллов 4-MU (начальная концентрация 0,8 мг/мл). Кристаллы наносились под барьеры в субфазу. Были получены графики релаксации, по которым можно отследить на сколько активно 4-MU встраивается в монослой. В третьем эксперименте была получена изотерма сжатия-растяжения-сжатия. Процесс растяжения начинался при заданном поверхностном давлении в 40 мН/м.

На рисунке 1 показана типичная кривая изменения поверхностного давления со временем (релаксации), полученная в экспериментах. Предполагая, что приращение поверхностного давления пропорционально количеству 4-MU, проникающего в липидный монослой, было получено следующее уравнение:

$$\pi = \pi_0 + \Delta\pi_{\infty} [1 - \exp(-\beta t)] \quad [1],$$

где π_0 – выбранное начальное поверхностное давление; $\Delta\pi_{\infty}$ – конечный прирост поверхностного давления за бесконечное время; β – константа скорости псевдопервого порядка связывания 4-MU с липидным монослоем; t – время после начала взаимодействия 4-MU с монослоем.

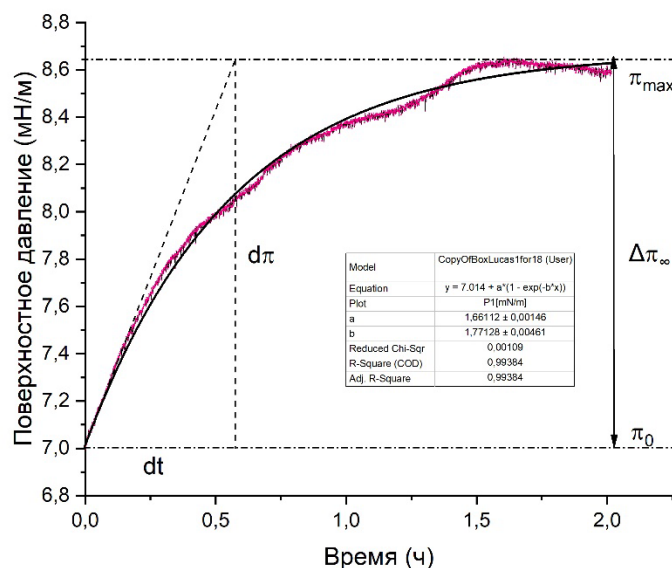


Рисунок 1. Временная зависимость изменения поверхностного давления при встраивании 4-MU (44 мкл, 0,8 мг/мл) в монослой из яичного желтка (14 мкл, 2 мг/мл). Розовая линия – экспериментальная кривая; черная линия – кривая, рассчитанная по уравнению 1

Исходя из анализа полученных данных, максимальное увеличение поверхностного давления почти во всех экспериментах не зависит от концентрации кристаллов и примерно одинаково во всех проведенных экспериментах. По изотермам сжатия-растяжения-сжатия показано, что вещество «выдавливается» из монослоя желтка при сильном сжатии (~35 мН/м), однако почти полностью встраивается обратно.

Работа проведена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования (гранты № 075-15-2021-1363 (продолжение), № 075-15-2024-637), а также в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

1. Andreichenko I.N., Tsitrina A.A., Fokin A.V. et al. 4-methylumbelliferone Prevents Liver Fibrosis by Affecting Hyaluronan Deposition, FSTL1 Expression and Cell Localization // Int. J. Mol. Sci., 2019, vol. 20 (24), p. 6301, doi: 10.3390/ijms20246301, PMID: 31847129, PMCID: PMC6941058.

2. Vitale D.L., Icardi A., Rosales P. et al. Targeting the Tumor Extracellular Matrix by the Natural Molecule 4-Methylumbelliferone: A Complementary and Alternative Cancer Therapeutic Strategy // Frontiers in Oncology, 2021, doi: 10.3389/fonc.2021.710061.

3. Никольская А.И., Азбукина Н.В., Сергеева М.Г., Чистяков Д.В. Роль эндогенной гиалуроновой кислоты в регуляции ответа глиальных клеток в условиях in vitro модели воспаления, с. 319-320

4. Никольская А.И., Чистяков Д.В., Сергеева М.Г. Ингибитор синтеза гиалуроновой кислоты 4-MU как модулятор воспалительного ответа в астроцитах, с. 116.

5. García-Vilas J.A., Quesada A.R., Medina M.Á. 4-Methylumbelliferone inhibits angiogenesis in vitro and in vivo // Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, vol. 61 (17), pp. 4063-4071, doi: dx.doi.org/10.1021/jf303062h.

ИНГИБИРОВАНИЕ ПРОТЕИНФОСФАТАЗЫ 2А – ОДИН ИЗ МЕХАНИЗМОВ ВОЗДЕЙСТВИЯ НООПЕПТА НА НЕРВНУЮ КЛЕТКУ

Protein phosphatase 2A inhibition - one of the mechanisms of noopept's effect on neurone

Мурзина Г.Б.

ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, г. Москва, РФ, gbmurzina@mail.ru

Ноопепт (НП) – один из ноотропный препарат, широко используемый в настоящее время в регулировании ряда когнитивных процессов (таких как внимание, обучение, память и др.). Активность НП проявляется в дозах значительно меньших по сравнению с другим распространенным препаратом – пирацетамом (дипептидным аналогом которого является НП), вследствие чего изучение механизмов его воздействия на нервную систему является одной из задач изучения влияния лекарственных препаратов на живой организм.

Проведенные ранее исследования воздействия различных концентраций НП на входящий ацетилхолиновый ток (АХ-ток) на командных нейронах виноградной улитки выявили его усиление при концентрациях препарата в области 0,1–10 нМ [1]. Дозозависимая кривая имеет колоколообразный вид с достижением максимального значения при концентрации препарата 1нМ. Исследования показали, что НП может влиять на увеличение количества АХ-рецепторов на мембране нейронов в результате действия на примембранную динамику рецепторов. Было также обнаружено, что при концентрации НП 1 нМ наблюдалось усиление депрессии вызванного входящего АХ-тока на командных нейронах виноградной улитки [2]. На основании соответствия кривых: смоделированной при концентрации НП 1нМ и экспериментальной кривой депрессии АХ-тока при воздействии различных ингибиторов [3], было сделано предположение о возможном ингибировании НП протеинфосфатазы 2А (PP2A).

Расчеты, произведенные с помощью созданной математической модели динамики рецепторов с участием PP2A [4], позволяют уточнить сделанные предположения. Согласно результатам вычислений, расчетная кривая имеет колокообразный вид в случаях влияния ингибитора PP2A на следующие процессы: эндоцитоз и экзоцитоз рецепторов; эндоцитоз рецепторов и их дефосфорилирование в примембранных везикулах; дефосфорилирование рецепторов в примембранных везикулах и их экзоцитоз; на транспортные процессы рецепторов и их дефосфорилирование. Анализ литературных данных позволил уточнить мишени PP2A в процессах эндоцитоза и экзоцитоза рецепторов, их транспортировки и трансформации в примембранных везикулах. Ими могут являться: 2-адаптин (участвующий в клатрин-опосредованном эндоцитозе рецепторов), субъединица Sec5 экзоцитоза (необходимая для последующей фазы слияния везикулы с плазматической мембраной), t-SNARE (SNAP-25, являющийся одним из белков комплекса SNARE, который участвует в процессе слияния мембран везикул в случае синаптического выброса), CPI17 (один из основных регуляторных факторов фосфатазы легких цепей миозина). Также необходимо учитывать дефосфорилирование PP2A находящихся в эндосомах рецепторов при увеличении pH внутри везикул [5].

Дальнейшая экспериментальная проверка предполагаемых мишеней опосредованного воздействия НП (как ингибитора PP2A) позволит выяснить, какая из них доминирует, и ингибирует ли действительно ноопепт PP2A, которая является одним из наиболее распространенных ферментов в головном мозге.

1. Разумовская М.А., Мурзина Г.Б., Островская Р.У., Пивоваров А.С. Модуляция ноопептом и пирацетамом никотиновых рецепторов нейронов виноградной улитки // Журн. высш. нервн. деят., 2018, т. 68 (4), с. 537-548.

2. Пивоваров А.С., Мурзина Г.Б., Васильева Н.В. Влияние ноопепта и пирацетама на депрессию вызванного ацетилхолином тока в командных нейронах виноградной улитки // Журн. высш. нервн. деят., 2020, т. 70 (1), с. 125-132.

3. Пивоваров А.С., Мурзина Г.Б., Третьякова М.С., Махновский Д.А. Роль серин/треониновых и тирозиновых протеинфосфатаз командных нейронов виноградной улитки на клеточном аналоге привыкания // Журн. высш. нервн. деят., 2013, т. 63 (2), с. 256-268.

4. Мурзина Г.Б. Влияние низких концентраций ноопепта на возбудимость нейрональной мембраны виноградной улитки // Междунар. научн. исслед. журн., 2024, т. 1 (139), с. 1-6.

5. Krueger K.M., Daaka Y., Pitcher J.A., Lefkowitz R.J. The role of sequestration in G protein-coupled receptor resensitization // J. Biol. Chem., 1997, vol. 272 (1), pp. 5-8.

ИССЛЕДОВАНИЕ АЛЛОТРОПНЫХ ФОРМ УГЛЕРОДА В КАЧЕСТВЕ ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

The Investigation of Allotropic Forms of Carbon as a Potential Drug Delivery System

Мутовкин П.А., Мосунов А.А., Фадеева М.В.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, *pasha.mutovkin2001@mail.ru*

В настоящее время одним из популярных подходов в терапии различных заболеваний является адресная доставка лекарственных препаратов. Это позволяет снизить побочную активность препарата, за счет снижения его концентрации в нецелевом органе или ткани. Для реализации процесса адресной доставки препарата необходимо обеспечить надежное связывание лекарственного средства с молекулой-доставщиком. А сама молекула должна быть биологически нейтральной, чтобы не оказывать действия на организм пациента [1]. В качестве потенциальной молекулы-доставщика могут выступать различные аллотропные формы углерода (фуллерены, фуллеренолы, наноалмазы различного происхождения, нанотрубки и т.д.) [2].

Для нахождения средних размеров частиц фуллеренов C₆₀ Bio были приготовлены растворы с концентрациями 0,1, 0,01 и 0,001 мг/мл. Далее по капле каждого раствора объемом 30 мкл наносили на слюду и после высыхания на воздухе исследовали с помощью метода атомно-силовой микроскопии (АСМ). Эксперимент проводился в полуконтактном режиме сканирования. В качестве измерительного зонда использовались консоли НА_FM/W₂C. Это микромеханические кремниевые устройства, состоящие из прямоугольного кремниевого основания размером 3,6 × 1,6 мм с толщиной верхнего края 0,4 мм. В центре меньшей стороны формируется балка длиной 223 мкм, шириной 34 мкм и толщиной 3 мкм. Верхняя поверхность балки покрыта отражающим золотым покрытием. На свободном конце нижней стороны балки сформирован наконечник высотой 12 мкм, с углом при вершине около 22° и радиусом кривизны 5 нм. Этот наконечник служит в качестве измерительного зонда. Область сканирования была выбрана 30 × 30 мкм, число точек – 500, скорость – 0,5 Гц.

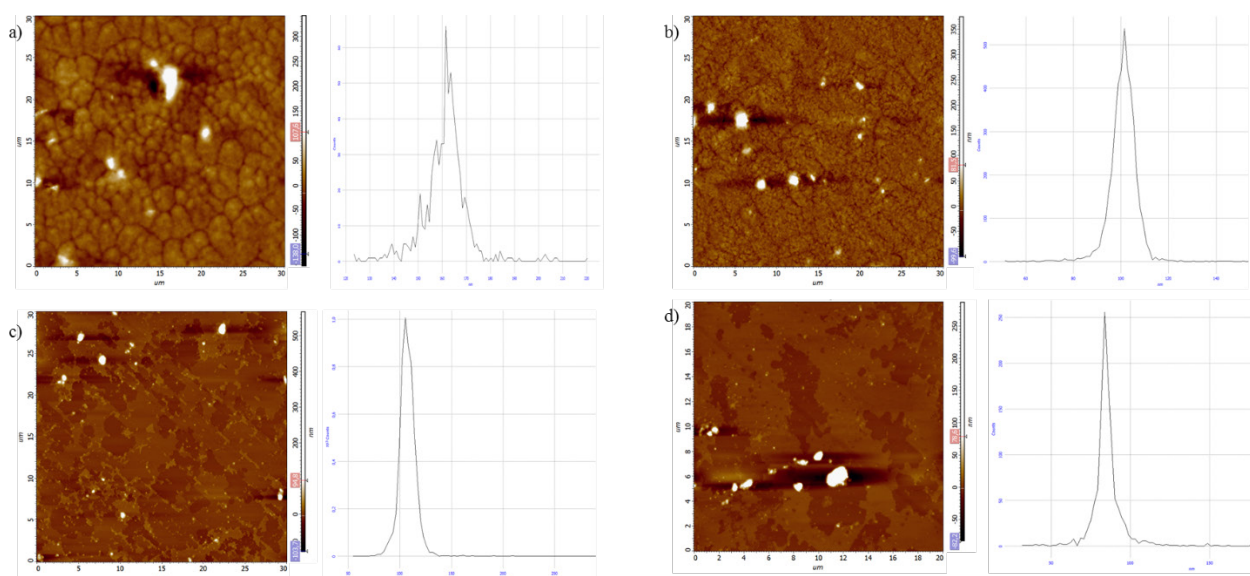


Рисунок 1. Сканы поверхности и гистограмма распределения среднего размера частиц растворов C₆₀:
а) до центрифуги 0,1 мг/мл; б) после центрифуги 0,1 мг/мл; в) после центрифуги 0,01 мг/мл;
д) после центрифуги 0,001 мг/мл

Можно заметить, что после центрифугирования большие, тяжелые частицы осели на дно и гистограмма стала более гладкой, что говорит о более равномерном распределении. Также этот процесс обработки раствора привел к уменьшению среднего размера частиц, зафиксированного методом зондовой микроскопии со 160 до 100 нм. По результатам анализа растворов во всех концентрациях после центрифугирования можно увидеть, что средний размер частиц фуллерена C₆₀ Bio составляет 100 ± 10 нм. Это позволяет выдвинуть гипотезу, что в исследованном диапазоне концентраций способность фуллерена к агрегации примерно одинаковая, т.к. полученный нами средний размер частиц на подложке кратно больше размера одиночной молекулы фуллерена, известного из литературы.

1. Valeur E., Knerr L., Ölwegård-Halvarsson M., Lemurell M. // Drug Discovery Today, 2017, vol. 22, pp. 841-847.
2. Singhal S., Gupta M., Alam Md.S. et al. // Nanotechnology, 2022, vol. 1, p. 29.

ХИТОЗАНЫ И ИХ АЦИЛИРОВАННЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ В ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЕ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ ПРИ ЭНДОТОКСЕМИИ Chitosans and its Acylated Derivatives in Liposomal Form as Potential Therapeutic Drugs for Endotoxemia

Набережных Г.А., Бахолдина С.И., Давыдова В. Н.

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, РФ
naber1953@mail.ru

Эндоотоксины грамотрицательных бактерий (ЛПС), проникая в кровоток, взаимодействуют с многочисленными факторами иммунитета, и инициируют биосинтез комплекса эффекторных молекул, которые в больших дозах вызывают эндотоксический шок. Стратегия терапии шока основывается на удалении избыточного количества ЛПС и/или блокировании связывания эндотоксина с рецепторами на клетках-мишенях. Ранее нами показано, что природные поликатионы хитозаны, образуют стабильные комплексы с анионными ЛПС и снижают токсическое действие ЛПС [1,2]. В данной работе проведен сравнительный анализ защитных свойств хитозана (Х-НМ, 5,5 кДа) и его ацилированного производного (Ац-Х-НМ) в растворах и в составе фосфолипидных липосом при внутрибрюшинном (в/б) и пероральном (п/о) введении мышам при индукции эндотоксемии.

Эндоотоксемию моделировали в/б введением мышам ЛПС из *Escherichia coli* 055:B5 (7,5 мг/кг). Х-НМ и Ац-Х-НМ получали обработкой коммерческого хитозана. Хитолипосомы получали сорбцией Х-НМ и Ац-Х-НМ на липосомах, предварительно сформированных из лецитина, холестерина и дицетилфосфата. Установлено, что, введение Ац-Х-НМ в липосомы повышает в 1.36-2 раза устойчивость липосом к агрессивному воздействию сред, моделирующих условия в некоторых отделах желудочно-кишечного тракта. Методом ИФА, показано, что комплекс ЛПС с ацилированным хитозаном снижает индукцию ФНО- α в крови человека на 40% по сравнению с ЛПС и комплекс не влияет на способность эндотоксина стимулировать клетки крови к выработке ИЛ-6.

Таблица 1. Влияние Х-НМ, Ац-Х-НМ и их липосомальных форм на выживаемость мышей линии BALB/c при эндотоксическом шоке

Группа	Время введения	Группа препаратов	Выживаемость, %
1-я	1-кратное в/б введение ЛПС	Липосомы	20
2-я	2-кратное в/б введение 5мг/кг	Ац-Х-НМ	80
3-я	2-кратное в/б введение 5мг/кг, вместе с ЛПС	Х-НМ	27
		Ац-Х-НМ	25
		Ац-Х-НМ+липосомы	30
4-я	2-кратное в/б введение 5 мг/кг, за 2 ч до ЛПС	Х-НМ	66
		Ац-Х-НМ	73
		Х-НМ+липосомы	90
		Ац-Х-НМ+липосомы	100
5-я	7-кратное п/о введение 2,5 мг/кг, затем ЛПС	Х-НМ	50
		Ац-Х-НМ	66
		Х-НМ+липосомы	76
		Ац-Х-НМ+липосомы	85

Таким образом, профилактическое семикратное пероральное и двукратное внутрибрюшинное введение липосомальных форм хитозанов снижает токсическое действие эндотоксина на организм мышей и достоверно увеличивает выживаемость (85-100 %) животных в эксперименте. Липосомальные формы ацилированных хитозанов проявляли самую высокую активность по сравнению с неацилированным хитозанами и могут рассматриваться как перспективные препараты для снижения эндотоксического действия липополисахаридов.

1. Yermak I.M., Davidova V.N., Gorbach V.I. et al. Forming and immunological properties of some lipopolysaccharide-chitosan complexes // *Biochimie*, 2006, vol. 88, pp. 23-30, doi: 10.1016/j.biochi.2005.07.004.
2. Набережных Г.А., Горбач В.И., Лихацкая Г.Н. и др. Взаимодействие хитозанов и N-ацилированных производных хитозанов с липополисахаридами грамотрицательных бактерий // *Биохимия*, 2008, т. 73, № 4, с. 530-541.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НАНОСТРУКТУРИРОВАННОГО МАГНЕТИТА НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МОЛЕКУЛ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА БЫКА В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ КВАЗИМОНОХРОМАТИЧЕСКОГО УФ-ИЗЛУЧЕНИЯ В ОБЛАСТИ 254 НМ

Investigation of the Effect of Nanostructured Magnetite on the Structural and Functional State of Bovine Serum Albumin Molecules under UV Radiation Exposure

Невзорова П.О., Артюхов В.Г., Остроухова А.А., Колтаков И.А.

Воронежский государственный университет, г. Воронеж, РФ, koltakov@bio.vsu.ru

За последние полвека наука серьезно продвинулась вперед. Появилась и развилась мобильная связь, спутниковая навигация, сетевые технологии обмена данными, нейросети. Человек начал изучать и осваивать космическое пространство. Попытки приближения к границам радиационных поясов земли сделали исследователей более подверженными воздействию высокоэнергетических излучений, детальные механизмы воздействия которых остаются скрытыми от нас до сих пор.

Но исследования, проводимые на орбите, не ограничиваются исследованием показателей крови и культивированием растений. В 2018 году была выполнена первая часть пилотного проекта использования метода 3D биопечати в невесомости, при которой для решения проблем отсутствия гравитации, клетки биочернил нагружали наночастицами магнетита. Тем не менее, мы не нашли в литературе данных о том, о влиянии железооксидных наночастицы на процессы фотохимических превращений простых белков, в случае их дальнейшего применения в космических аддитивных технологиях, что делает проводимое нами исследование особенно актуальным.

В качестве модели для исследования нами был выбран простой белок сывороточный альбумин быка, содержащий в своем составе все 3 типа потенциальных хромофоров для УФ-излучения: триптофан, тирозин и фенилаланин. Несмотря на то, что большую восприимчивость к УФ-свету и больший квантовый выход фотохимических процессов имеет триптофан, вклад тирозина и фенилаланина тоже может быть существенен в силу их большого количества (20 и 27 аминокислотных остатков соответственно) в молекуле белка.

Облучение образцов белка в нативном состоянии и в присутствии наноструктурированного магнетита проводили в установке Vilber Lourmat BLX 254 UV в дозах 7,2; 36 и 72 кДж/м², которые контролировали с учетом встроенного дозиметра. После завершения фотомодификации, наночастицы удаляли из образца и проводили оценку интенсивности флуоресценции ароматических аминокислот с использованием спектрофлуорофотометра Shimadzu RF-1501 при длинах волн возбуждения флуоресценции 220, 280 и 300 нм.

Анализ триптофановой флуоресценции при длине волны возбуждения 300 нм показал, что при облучении растворов белка, вне зависимости от присутствия наночастиц, происходит монотонное снижение интенсивности флуоресценции пропорционально дозе облучения. При этом не было зарегистрировано смещения максимума флуоресценции, что свидетельствует о том, что происходящие фотохимические процессы, инициирующие конформационные перестройки белка не затрагивают остатки триптофана и не влияют на его локальное микроокружение.

Смещение длины волны возбуждающего света до 280 нм, способствует появлению тирозиновой флуоресценции при сохранении флуоресценции триптофана. При этом было установлено, что во всех используемых нами дозах происходит снижение интенсивности сигнала в области 331-335 нм пропорционально увеличению времени экспозиции образцов. Однако при облучении белка в максимальной из используемых нами доз 72 кДж/м² происходит появление дополнительного максимума при длине волны 312-315 нм. Присутствие в растворе белка наночастиц усиливало снижение интенсивности флуоресценции белка во всем исследуемом участке спектрального диапазона на 5-7%.

Сдвиг длины волны возбуждения флуоресценции до 220 нм позволил включить в анализируемый массив данных и флуоресценцию остатков фенилаланина. Однако из-за расположения остатков тирозина в их локальном микроокружении, в контрольных образцах белка и при облучении светом с длиной волны 254 нм в дозах до 36 кДж/м² мы наблюдали полное тушение флуоресценции фенилаланина. Максимальная из используемых нами доз УФ-излучения позволила обнаружить появление полосы флуоресценции в области 280 нм, что свидетельствует о том, что происходящие в молекуле альбумина фотохимические процессы вызывают протекание окислительных процессов, затрагивающих аминокислотные остатки тирозина, о чем свидетельствует прекращение его влияния на флуоресцентные характеристики фенилаланина.

Таким образом, мы показали, что облучение сывороточного альбумина светом 254 нм приводит к существенным изменениям оптических свойств водных растворов сывороточного альбумина быка, вследствие протекания процессов фотоокисления остатков тирозина. В тоже время, присутствие в облучаемых растворах наноструктурированного магнетита усиливает эффект, зарегистрированных нами фотоиндуцированных изменений.

**ФОТОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫХ СИСТЕМ
НА ОСНОВЕ β -ЦИКЛОДЕКСТРИНА И ТЕТРАФЕНИЛПОРФИРИНА**
Photochemical Properties of Supramolecular Systems Based on β -Cyclodextrin and Tetraphenylporphyrin

Нерсесян Э.С.¹, Клименко И.В.¹, Лобанов А.В.^{1,2}

¹ ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва, РФ, *inna@deom.chph.ras.ru*

² ФГБОУ ВО «Московский педагогический государственный университет», г. Москва, РФ

Порфирины – макроциклические соединения, состоящие из четырех пиррольных колец, связанных друг с другом в α -положении, посредством метиленового звена. Они и их производные участвуют в таких биологических процессах, как транспортная система молекул кислорода (гемоглобин и миоглобин), фотосинтез некоторых цианобактерий, водорослей и высших растений (хлорофилл и его производные), пигментная окраска яичной скорлупы (протопорфирин IX и биливердин) [1,2]. Наиболее доступные порфирины 5,10,15,20-тетрафенилпорфирин (ТФП) и его металлокомплексы обладают фотохимическими свойствами, плоской и симметричной структурой и способны участвовать ансамблях, в частности, с α -, β - и γ -циклодекстринами (α -, β - и γ -ЦД), обладающими гидрофобной полостью и гидрофильной внешней поверхностью, позволяющей нековалентно связывать ТФП в комплекс включения в соотношении 1:1 или 1:2 [3].

Нами получены комплексы β -ЦД-ТФП и изучены их фотохимические свойства в процессе двух серий экспериментов.

Первая серия экспериментов: Комплексы получены из растворов β -ЦД в воде с концентрациями $C_{\beta\text{-ЦД}} = 1,1 \cdot 10^{-4}$ – $1,21 \cdot 10^{-7}$ моль/л и ТФП в N, N–диметилформамиде (ДМФА), $C_{\text{ТФП}} = 1,08 \cdot 10^{-6}$ моль/л. К 2 мл растворов β -ЦД разной концентрации титрованием добавляли 0,1÷1 мл раствора ТФП. В качестве контрольного раствора использовалось аналогичное соотношение раствора одного из реагентов с растворителем другого (без второго компонента).

Вторая серия экспериментов: Комплексы получены из растворов β -ЦД в воде, $C_{\beta\text{-ЦД}} = 8,81 \cdot 10^{-2}$ моль/л, и ТФП в этаноле с концентрацией $C_{\text{ТФП}} = 2,64 \cdot 10^{-1}$ моль/л. К 3 мл раствора β -ЦД при 70°C и при перемешивании прибавляли 1 мл раствора ТФП (в итоге получено соотношение вода:этанол = 3:1 ($R_f=0.85$)). Выпавший осадок отфильтровывали, два раза промывали 5 мл ацетона, вновь отфильтровывали и высушивали в вакууме (1 мм. рт. ст.) над P₂O₅. Выход составил 0,1181 г. (16%), т. пл. 290–292°C (разл.).

В первой серии экспериментов спектры поглощения β -ЦД-ТФП-ДМФА-вода показали сдвиг максимумов поглощения в длинноволновую область для всех смесей, что свидетельствует об образовании комплексов. Наблюдалось также изменение спектров флуоресценции. На основе данных спектров поглощения и флуоресценции построены градуировочные графики $f(C_{\text{ТФП}}) = D_{\text{maxТФП}}$ и $f(C_{\text{ТФП}}) = S_{\text{ТФП}} = Q_{\text{П}}$ ($S_{\text{ТФП}}$ — площадь под кривой эмиссионного спектра, прямо пропорциональная полной скорости флуоресценции $Q_{\text{П}}$). Тангенс угла наклона одной из функций значительно отличался, свидетельствуя об изменении коэффициента экстинкции ϵ и образовании комплекса. Используя уравнение Бенези-Хильдебранда:

$$\lg \frac{A_i - A_0}{A_f - A_0} = \lg[G] + \lg K_B$$

где A_i – поглощение для промежуточной точки, A_0 – поглощение для начальной точки, A_f – поглощение для конечной точки, $[G]$ – концентрация добавленного компонента, рассчитана константа связывания $K_B = 10^{5,38}$.

Во второй серии экспериментов получен комплекс со стехиометрией 2:1, подтвержденный методом ЯМР ¹H (ДМСО-d₆) и определившим его состав, как 58,44% – С, 5,70% – Н и 3,16% – N, что соответствует рассчитанным 59,03% – С, 5,76% – Н; 3,20% – N и формуле C₈₆H₁₀₀N₄O₃₅.

Таким образом, получены устойчивые супрамолекулярные комплексы β -ЦД и ТФП в широком диапазоне концентраций. Это подтверждается изменениями спектров поглощения и флуоресценции, результатами ЯМР ¹H спектроскопии, а также рассчитанной константой связывания.

Олигосахарид становится для ТФП как солубилизатором, способствующим интегрированию в водную среду, так и «молекулярным контейнером», позволяющим защитить молекулу ТФП от воздействия окружающей среды и разложения, а также влияющим на размерные и электронные свойства фотоактивной молекулы. Полученные комплексы могут быть эффективно использованы для таргетной доставки в фотодинамической терапии и других областях, требующих использование высокоэффективных фотоактивных компонентов.

1. Kudin L.S., Dunaev A.M., Motalov V.B. et al. Thermochemistry of 5,10,15,20-tetraphenylporphyrin // J. of Chem. Thermodynamics, 2020, vol. 151, p. 106244, doi: 10.1016/j.jct.2020.106244.

2. Tahoun M., Gee C.T., McCoy V. E. et al. Chemistry of porphyrins in fossil plants and animals // RSC Advances. 2021, vol. 11, no. 13, p. 7552, doi: 10.1039/D0RA10688G.

3. Molupe N., Babu B., Prinsloo E. et al. Photodynamic activity of Sn(IV) meso-tetraacenaphthylporphyrin and its methyl- β -cyclodextrin inclusion complexes on MCF-7 breast cancer cells // J. of Porphyrins Phthalocyanines, 2019, vol. 23, no. 11-12, pp. 1486-1494, doi:10.1142/S1088424619501633.

ДИНАМИКА ТЕМПЕРАТУРЫ В СОМАТО-СЕНСОРНОЙ КОРЕ И СКОРОСТИ ЛОКАЛЬНОГО КРОВОТОКА В МОЗГЕ НАРКОТИЗИРОВАННЫХ МЫШЕЙ РАЗЛИЧАЮТСЯ В УСЛОВИЯХ МОДУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ КОРЫ И АКТИВАЦИИ СИСТЕМНОГО КРОВОТОКА

Dynamics of somato-sensory cortex temperature and local blood flow velocity differ under cortical neuron activity modulation and systemic blood flow activation in anesthetized mice brains

Осипов А.А., Крохалева В.К., Ромшин А.М., Глытов И.В., Попова И.Ю.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино, РФ

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, г. Москва, РФ

Институт общей физики им. Прохорова РАН, г. Москва, РФ, *I-Yu-Popova@yandex.ru*

Температура мозга (Т) – важнейший, но наименее изученный биофизический параметр, определяемый балансом между метаболическим выделением тепла и гемодинамикой. При нормальном физиологическом состоянии и стабильной температуре окружающей среды Тмозга колеблется в относительно больших пределах – до 4°C [1, 2]. Для мозга характерна высокая метаболическая активность, которая приводит к интенсивному производству тепла [3]. Согласно теоретическим расчетам термогенность мозга составляет ~0,66 Дж/мин/г, которая в отсутствие рассеивания тепла привела бы к повышению температуры на 0,16 °С/мин [4]. Учитывая тот факт, что при нарушении температурного баланса в мозге резко нарастают неврологические повреждения [5], очевидно наличие активных механизмов охлаждения тканей головного мозга. Основным механизмом отвода тепла от мозга является кровоток [4]. Имеющиеся в литературе данные, хотя и ограничены по количеству и охвату, указывают на то, что изменения Тмозга являются следствием функциональной активации нейронов, которая усиливает местный кровоток посредством нейроваскулярной связи [6]. Однако, крайне мало известно о роли Т в метаболизме и функционировании мозга.

В настоящем исследовании мы впервые провели длительную одновременную регистрацию скорости кровотока и Т глубоких слоев сомато-сенсорной коры в мозге наркотизированных мышей с помощью методов микроалмазной термометрии и лазерной спекл-контрастной визуализации. Для анализа сопряжения между Т и скоростью кровотока использовали два подхода - усиление общего кровотока с помощью *i.p.* инъекции адреналина и усиление активности нейронов аппликацией раствора КС1 на поверхность мозга. Инъекция адреналина приводила к одновременному быстрому увеличению как кровотока (на 52±18%), так и температуры (1,17±0,24 °С). Однако длительность эффектов адреналина на кровоток и температуру была различной: усиление кровотока у всех животных длилось 9,75±3,13 минут, а повышение температуры было более длительным и индивидуально различалось у животных. Аппликация КС1 приводила к продолжительному повышению скорости кровотока у всех животных в среднем на 47%, но к разнонаправленным изменениям температуры у разных животных – наблюдалось как ее повышение (на 0,7°C), так и снижение (на 0,84 °С). Полученные нами данные о гетерогенной температурной динамике в нервной ткани при действии КС1 соответствуют литературным данным о том, что распространяющаяся кортикальная депрессия является неоднородным процессом и в пространстве, и во времени [7]. Исследования температурной динамики в нервной ткани при распространяющейся кортикальной депрессии, впервые проведенные в настоящей работе, могут внести значимый вклад в понимание механизмов данного явления.

Полученные данные указывают на то, что температура нервной ткани имеет более сложную динамику по сравнению с кровотоком, что, по-видимому, связано с прямой или опосредованной активацией как отдельных нейронов, так и нейронных ансамблей. Исследования локальной температурной динамики в мозге в различных функциональных состояниях могут внести значимый вклад в понимание механизмов нейроваскулярного сопряжения.

Работа поддержана грантом РФФ № 23-14-00129 и гос. заданием № 075-01025-23-01.

1. Kiyatkin E.A. Brain temperature and its role in physiology and pathophysiology: Lessons from 20 years of thermorecording // *Temperature*, 2019, vol. 6, no. 4, pp. 271-333, doi: 10.1080/23328940.2019.1691896.

2. Sung D., Risk B.B., Wang K.J. et al. Resting-State Brain Temperature: Dynamic Fluctuations in Brain Temperature and the Brain-Body Temperature Gradient // *The Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 2023, vol. 57, no. 4, pp. 1222-1228, doi: 10.1002/jmri.28376.

3. Siesjö B.K. Brain energy metabolism. Chichester, New York: Wiley, 1978.

4. Falk D. Brain evolution in homo: the radiator theory // *Behavioral and Brain Sciences*, 1990, vol. 13, pp. 333-334, doi: 10.1017/S0140525X00078973.

5. Dehkharghani S., Qiu D. MR Thermometry in Cerebrovascular Disease: Physiologic Basis, Hemodynamic Dependence, and a New Frontier in Stroke Imaging // *American Journal of Neuroradiology*, 2020, vol. 41, no. 4, pp. 555-565, doi: 10.3174/ajnr.A6455.

6. Drew P.J. Neurovascular coupling: Motive unknown // *Trends in Neuroscience*, 2022, vol. 45, no. 11, pp. 809-819, doi: 10.1016/j.tins.2022.08.004.

7. Kaufmann D., Theriot J.J., Zyuzin J. et al. Heterogeneous incidence and propagation of spreading depolarizations // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 2017, vol. 37, no. 5, pp. 1748-1762, doi: 10.1177/0271678X16659496.

**ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СПЕКТРАЛЬНОГО АНАЛИЗА ВАРИАБЕЛЬНОСТИ
СЕРДЕЧНОГО РИТМА ПРИ НОРАДРЕНАЛИНОВОМ ОТЕКЕ ЛЕГКИХ У КРЫС**
**Changes in the Parameters of Spectral Analysis of Heart Rate Variability in Norepinephrine Pulmonary Edema
in Rats**

Преображенский Н.Д., Фатеев М.М., Порсева В.В.

Ярославский государственный медицинский университет, г. Ярославль, РФ, *preobraz1999@yandex.ru*

Степень гидратации легких в экспериментальных моделях гемодинамической формы отека легких (ОЛ) зависит от рецепторной модуляции применяемого вазопрессора [1, 2]. Неселективность норадреналина связана с интенсивной вазоконстрикцией и увеличением периферического сосудистого сопротивления при стимуляции α 1- и α 2-адренорецепторов гладкомышечных клеток кровеносных сосудов, с возрастанием плотности миокардиальных хронотропных β 2-адренорецепторов и уменьшением плотности ионотропных α 1-адренорецепторов, что приводит к преимущественной тахикардии, а не к повышению ударного объема сердца, тем самым модулируя адренореактивность сердца [3]. В связи с этим, целью исследования явилось изучение степени гидратации легких и показателей спектрального анализа вариабельности сердечного ритма (ВСР) у крыс при норадреналиновом ОЛ.

Исследование проведено на взрослых самцах крыс линии Wistar массой 220 ± 40 г под нембуталовым наркозом (40 мг/кг), которые были разделены на две группы: контрольную ($n=10$) – внутривенное введение 0,9% раствора NaCl однократно 1 мл/кг; опытную ($n=10$) – внутривенное введение 0,05% раствора норадреналина однократно 1 мл/кг. Регистрация ЭКГ осуществлялась во II стандартном отведении в течение 4-х минут до и через 10, 30 и 45 минут после введения растворов. Изучали показатели спектрального анализа ВСР [4]. Через 50 минут от момента введения веществ животные были декапитированы. Легкие извлекали посредством трансторакального доступа с последующим их макроскопическим анализом и определением показателей гидратации легких: легочный коэффициент (ЛК, г/кг) как отношение массы сырых легких к массе тела животного; сухой остаток (СО, %) как отношение массы высушенных до постоянного веса при температуре 80-90 °С легких к их исходной массе.

В результате проведенного исследования установлено, что в опытной группе у животных наблюдался выраженный ОЛ. Легкие увеличены в размерах, темно-багрового цвета, полнокровны, с поверхности стекает отечная жидкость. В контрольной группе у животных оба легких были интактны.

Показатель ЛК у контрольных животных составил $4,6 \pm 0,18$, СО – $21,8 \pm 0,40$. В опытной группе показатель ЛК увеличился более чем в 2 раза ($9,6 \pm 1,71$) по сравнению с показателями контроля ($p < 0,05$), а показатель СО снизился на 25% ($16,3 \pm 0,77$) ($p < 0,05$), что свидетельствует об интенсивной степени гидратации легких.

Исходная частота сердечных сокращений (ЧСС, уд/мин) у животных контрольной группы составила $382 \pm 10,5$ уд/мин, в опытной группе – $387 \pm 9,0$ уд/мин ($p > 0,05$). После введения NaCl у контрольных животных достоверных изменений в спектральных показателях ВСР на протяжении всего эксперимента обнаружено не было. Через 10 минут после введения норадреналина отмечалось достоверное увеличение следующих показателей ВСР: мощности волн низкой частоты (LF) – в 5,5 раз, относительного значения мощности волн низкой частоты (LF%) – в 2,3 раза, индекса вагосимпатического баланса (LF/HF) – в 4,6 раза, стресс индекса – в 6,3 раза, относительного значения мощности волн высокой частоты (HF%) – в 1,3 раза, которое сохранялось в последующие 30 минут после введения норадреналина и нивелировалось к 45 минутам.

Таким образом, данные, полученные с помощью спектрального анализа свидетельствуют о напряжении тонуса автономной нервной системы, в частности ее симпатического отдела.

1. Михайлов В.П., Попов С.В., Шипов А.А. Особенности липидного обмена в легких и реологических свойств крови при экспериментальном нейрогенном отеке легких // Вестник новых медицинских технологий, 2007, т. 14, № 4, с. 182-184.

2. Кобзарь Н.Е., Михайлов В.П., Порсева В.В. Влияние мезатона на осмотическую резистентность эритроцитов в модели отека легких // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии, 2021, № 3, с. 88-89.

3. Levy B., Clere-Jehl R., Legras A. et al. Epinephrine Versus Norepinephrine for Cardiogenic Shock After Acute Myocardial Infarction // J. Am. Coll. Cardiol., 2018, vol. 72, no 2, pp. 173-182, doi: 10.1016/j.jacc.2018.04.051.

4. Фатеев М.М., Телушкин П.К., Медведева Н.Б. 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.

ИК-СПЕКТРОСКОПИЯ В РАННЕЙ ДИАГНОСТИКЕ ЭРОЗИИ ЗУБОВ IR Spectroscopy in the Early Diagnosis of Erosive Teeth Wear

Прокопов А.А.^{1,2}

¹ ФГБОУ ВО Российский университет медицины Минздрава РФ, г. Москва, РФ, *pral@mail.ru*

² ФГБУН Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, г. Москва, РФ

Рост заболеваемости эрозией зубов (erosive tooth wear, ETW), отмечается повсеместно [1]. Эта хроническая патология, коррелируемая с соматическими расстройствами, характеризуется прогрессирующей убылью эмали и дентина зуба [2]. Этиология эрозии многофакторна, она не вполне изучена, поэтому важно выявлять признаки заболевания как можно раньше, когда отсутствуют их клинические проявления, а сам пациент не подозревает о неблагополучии в ротовой полости. Начальный этап эрозии зубов сопровождается химическими и механическими процессами, приводящими к разрушению кристаллической решётки эмали с потерей контура зубов и естественной морфологии поверхности. При кариесе кристаллическая решётка тоже разрушается, но механизмы развития этих заболеваний различные (эрозия, в отличие от кариеса, имеет невоспалительный характер). Очевидно, что и дизайн реминерализации при этих патологиях должен быть разным. Его формирование должно основываться на понимании и учёте сложных, неоднозначных химических и физико-химических процессов, отвечающих за нарушение кальций-фосфорного гомеостаза в первую очередь [3].

В ряду современных аналитических техник, позволяющих исследовать биологические объекты на уровне нанотехнологий и выявлять молекулярные механизмы патологических изменений в организме человека, ИК-спектроскопия имеет ряд преимуществ, состоящих в коммерческой доступности спектрометров, позволяющих получать удовлетворительные качественные и количественные результаты, визуализации информации, простоте методических приёмов исследований и пробоподготовки, воспроизводимости результатов. Имеются примеры успешного применения метода и в стоматологии [4].

Целью исследования было проведение ИК-спектроскопии ротовой жидкости (в дальнейшем «слюна»), собранной у здоровых людей и у пациентов с различной степенью развития эрозии зубов, с целью установления возможности использования ИК-спектров в качестве нового простого способа диагностики этого вида патологии.

В исследовании приняли участие 39 пациентов в возрасте от 19 до 34 лет с эрозивными поражениями зубов разной степени, в качестве контроля использовали слюну 22 здоровых лиц в возрасте от 16 до 35 лет. Собранную слюну высушивали, сухой остаток прессовали с KBr и снимали ИК-спектры на спектрофотометре "Carl Zeiss SPECORD 80" в диапазоне волновых чисел 4000–400 см⁻¹.

Ранее было показано [5], что при эрозии зубов кристаллы гидрокси- и фторапатитов, составляющие эмалевые призмы, в первую очередь лишаются фосфатных групп, поэтому в качестве характеристической частоты была выбрана область 1200-900 см⁻¹, в которой поглощают связи Р-О фосфатов, глицерофосфатов и фосфолипидов. Как оказалось, интенсивность поглощения в аналитической области отчётливо зависит от степени развития патологии: интегральная площадь полос поглощения фосфатов слюны у здорового человека в 1,4-2 раза больше площади соответствующих полос у пациентов с единичной эрозией и в 1,7-2,1 больше площади в спектрах слюны, взятой у пациентов с множественной эрозией. Единственное отклонение от сделанного нами наблюдения проявилось в ИК-спектре слюны здорового человека, где интегральная площадь аналитической полосы поглощения примерно соответствовала значениям площадей поглощения у пациентов с эрозией зубов. Данное обстоятельство возможно объяснить возрастом пациента (16 лет) с неустоявшимся гомеостазом и наличием молочных зубов.

Представляется важным, что полученные методом ИК-спектроскопии результаты подтвердили сделанное ранее [5] на основании данных рентгено-флуоресцентного анализа предположение о том, что первичные дефекты кристаллической решётки эмали при эрозии связаны не с потерями катионов кальция, как при кариесе, а с потерей фосфатных групп. Это доказывает уменьшение интенсивности поглощения слюны в диапазоне 1200-900 см⁻¹, пропорциональное степени развития заболевания.

В настоящее время терапия при эрозии сводится, в основном, к процедурам реминерализации с использованием солей кальция, применению средств, содержащих гидроксиапатит и т.п. С учётом открывшихся обстоятельств стоматологам целесообразно изменить идеологию реминерализации при эрозии и изучить возможность терапии эрозивных поражений с помощью средств, содержащих активированные фосфатные группировки (например, бисфосфонаты, липоцеребрин, АТФ, фитин, глицерофосфат), что может иметь вполне понятное значение для практического здравоохранения.

1. Айдемирова М.А., Петрова А.П. Клинические аспекты эрозии зубов // Бюллетень медицинских Интернет-конференций, 2016, том 6, № 6, с. 1094-1097.
2. Frankenberger R., Mehta Sh.B., Wetselaar P. et al. Severe Tooth Wear: European Consensus Statement on Management Guidelines // J. adhesive dentistry, April 2017, pp. 111-119.
3. Леонтьев В.К. Эмаль зубов как биокристаллическая система. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016, 72 с.
4. Goloshchapov D.L., Kashkarov V.M., Seredin P.V. et al. The study of efficiency of endogenous and exogenous preventive methods of tooth enamel remineralisation by FTIR microscopy using synchrotron radiation // J. of Physics: Conference Series, 2016, vol. 741, 012054.

5. Митронин А.В., Дарсигова З.Т., Прокопов А.А. и др. Рентгено-флуоресцентный анализ эмали зубов в норме и при эрозии // Эндодонтия today, 2017, № 3, с. 7-13.

ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ И ГЕНОТОКСИЧНОСТЬ СТАБИЛИЗИРОВАННОГО КАРДИОЛИПИНОМ НАНОРАЗМЕРНОГО ДИОКСИДА ЦЕРИЯ Cytotoxicity and Genotoxicity of Cardioliipin-Stabilized Nanoceria

Проскурнина Е.В.¹, Созарукова М.М.², Ершова Е.С.¹, Савинова Е.А.¹, Каменева Л.В.¹, Вейко Н.Н.¹,
Иванов В.К.², Костюк С.В.¹

¹ Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова, г. Москва, РФ, *proskurnina@gmail.com*

² Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, г. Москва, РФ, *s_madinam@bk.ru*

Ключевой биохимической особенностью диоксида церия является способность нейтрализовать различные АФК, проявляя ферментоподобные свойства за счет уникальных каталитических свойств поверхности. Модификаторы поверхности играют различную роль в зависимости от своей химической природы – они могут являться стабилизаторами коллоидной системы, облегчать проникновение наночастиц в клетки, изменять биологические свойства наночастиц, снижать токсичность. Кардиолипид входит в состав митохондриальных мембран. Есть работы, в которых кардиолипид использовали для создания наноструктур для улучшения биосовместимости и снижения токсичности, но с диоксидом церия этот модификатор исследуется впервые.

Стабилизированные кардиолипидом наночастицы диоксида церия (1,5 мкМ) культивировали с эмбриональными фибробластами легких человека в течение 1, 3, 24 и 72 часов. Для определения цитотоксичности использовали стандартный 72-часовой МТТ-тест. Генотоксичность оценивали по уровню 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина (8-охо-dG) как маркера окисления ДНК и фосфорилированных гистонов γ H2AX как маркера двунитевых разрывов методом проточной цитометрии.

Результаты 72-часового МТТ-теста представлены на рисунке 1а, уровни 8-охо-dG и γ H2AX относительно контроля при различных временах инкубации представлены на рисунке 1б.

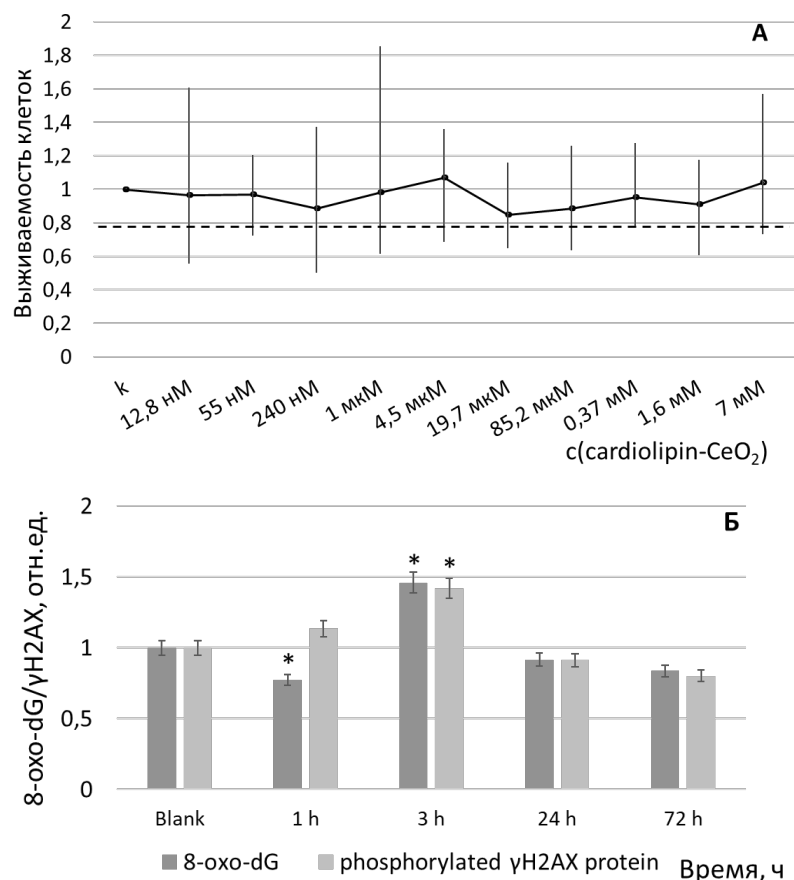


Рисунок 1. (А) Результаты МТТ-теста, пунктир – граница, соответствующая выживаемости клеток 80% и более, по оси ординат отложены значения МТТ-теста относительно контрольного образца (клетки, культивируемые без наночастиц); (Б) уровни 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина, маркера окислительного повреждения ДНК и γ H2AX, маркера двунитевых разрывов относительно контрольного образца. Значимые различия по критерию Манна-Уитни ($p < 0,05$) отмечены знаком *

Исходя из полученных данных можно сделать вывод о том, что стабилизированный кардиолипином наноразмерный диоксид церия является безопасным для клеток в широком диапазоне концентраций вплоть до 7 мМ. Умеренная генотоксичность, вызванная окислительным повреждением, проявляется спустя 3 ч инкубации, после чего уровни маркеров снижаются до контрольных значений в результате активации систем репарации.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 24-25-00088.

ПРОИЗВОДНЫЕ 3-ГИДРОКСИПИРИДИНА КАК АДАПТОГЕНЫ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

3-Hydroxypyridine Derivatives as Adaptogens of Oxidative Stress

Русина И.Ф.¹, Касаикина О.Т.¹, Егорова Ю.Н.¹, Жигачева И.В.², Вепринцев Т.Л.²

¹ ФИЦ химической физики им. Н.Н.Семенова РАН, г. Москва, РФ, rusina939@mail.ru

² ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М.Эмануэля РАН, г. Москва, РФ

Одним из наиболее активно развивающихся направлений органической и биомедицинской химии является синтез и исследование биологической активности антиоксидантов синтетического ряда и природного происхождения, которые составляют новую группу лекарственных препаратов [1]. В последние годы пристальное внимание фармакологов и клиницистов привлекли соединения гетероароматических фенолов, в частности производные 3-гидроксипиридина (3-ГОП), близкие по своему строению к группе витаминов В₆, в качестве перспективных лекарственных средств, эффективно используемые для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы, диабета, ЦНС и т.п. В результате систематических исследований фармакологических свойств производных 3-ГОП выявлен ряд эффективных лекарственных препаратов (“Эмоксипин” и “Мексидол”), что открывает широкие возможности для разработки новых перспективных водорастворимых лекарственных средств в ряду 3-ГОП, поскольку клиническая практика испытывает острый дефицит в арсенале водорастворимых ингибиторов окислительного стресса [2].

Основным подходом для изучения механизма действия антиоксидантов является исследование их антирадикальной активности и сопоставление ее со структурой соединений в ряду 3-ГОП. Наиболее прямым методом исследования антирадикальной активности ингибиторов является ХЛ-метод [3]. Нами был впервые синтезирован и исследован на антирадикальную и медико-биологическую активность новый водорастворимый ингибитор карнитинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния (КП) в ряду замещенных 3-ГОП. Препарат демонстрирует довольно высокую константу скорости взаимодействия с пероксильными радикалами углеводорода $k_{inh}=(2,3\pm 0,2)\times 10^5(\text{Мс})^{-1}$ и стехиометрический коэффициент ингибирования реакций $f=(2,0\pm 0,2)$ [4].

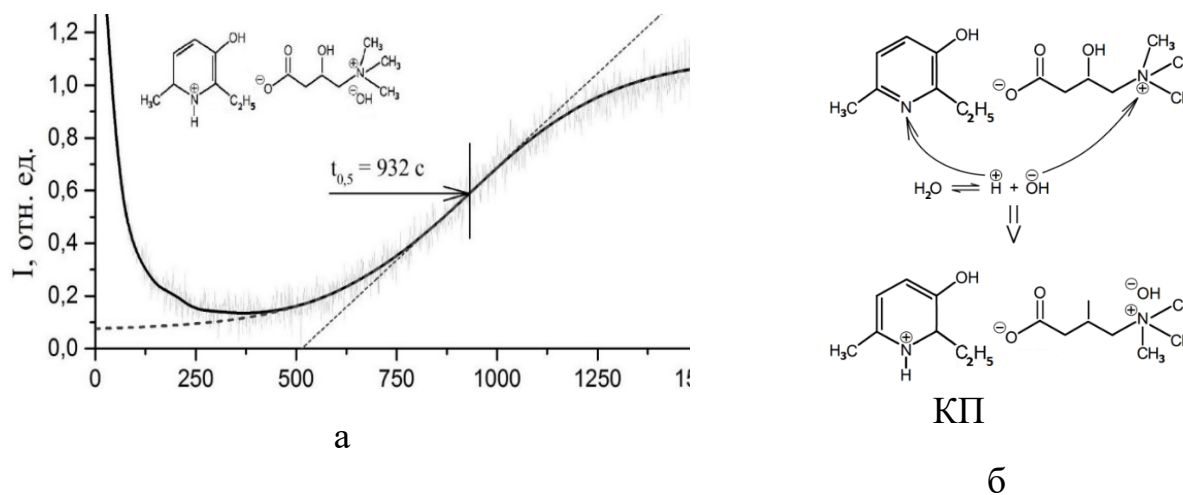


Рисунок 1. (а) Кинетическая кривая тушения хемилюминесценции ХЛ, сопровождающей инициированное АИБН окисление этилбензола (20% в хлорбензоле), карнитинатом 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния: $[КП]_0=5,2\cdot 10^{-6}\text{М}$; $W_i=1,12\cdot 10^{-8}\text{М}\cdot\text{с}^{-1}$; активатор $[ДБА]=5\cdot 10^{-3}\text{М}$; 50°С , $t_{0,5}$ – период торможения окисления. (б) Схема образования КП - гидрата карнитината 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния

1. Kiran T.R., Otlu O., Karabulut A.B. Oxidative stress and antioxidants in health and disease // J. Lab. Med., 2023, vol. 47, p. 1-11.
2. Дюмаев К.М., Воронина Т.А., Смирнов Л.Д. Антиоксиданты в профилактике и терапии патологий ЦНС. Москва, 1995, 271 с.
3. Русина И.Ф., Карпунин О.Н., Касаикина О.Т. // Химическая физика, 2013, т. 32, № 8, с.49.

4. Патент №2817094 «Соль-2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина с гидратом карнитина, обладающая антиоксидантной активностью, и способ ее получения», РФ, 2024 г.

СОЗДАНИЕ МАТЕРИАЛОВ БИМЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ НА ОСНОВЕ УГЛЕРОДНЫХ НАНОСТРУКТУР: ТРУДНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Development of Materials for Biology and Medicine Based on Carbon Nanostructures: Difficulties and Prospects

Семёнов К.Н., Кукалия О.Н., Шаройко В.В.

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
г. Санкт-Петербург, РФ, knsemenov@gmail.com

Как известно, материал – это химический индивид или их совокупность, находящиеся в таком состоянии, которое характеризуется комплексом необходимых для практики свойств [1]. Иными словами, материал — это вещество, обладающее свойствами, которые определяют его практическое применение. Говоря о материалах биомедицинского назначения, мы входим в область биомедицинского материаловедения (рис. 1). Это мультидисциплинарная область, которая формируется в результате конвергенции биологии и медицины, химии и искусственного интеллекта. Данный раздел науки связан с созданием материалов биомедицинского назначения с заранее заданными свойствами, а также с изучением и целенаправленным изменением свойств существующих материалов и установлением связи между составом, строением и свойствами материалов, т.е. решением классической материаловедческой триады.

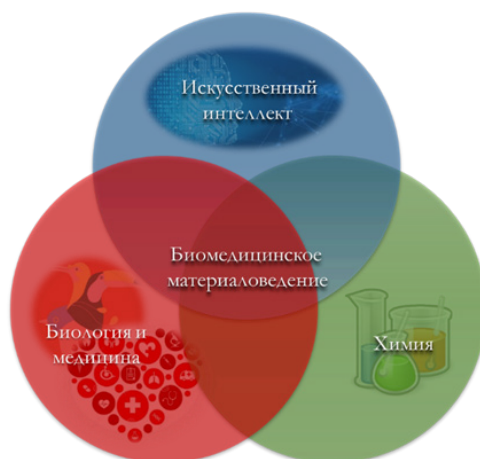


Рисунок 1. Области науки, составляющие биомедицинское материаловедение

В докладе будут систематизированы имеющиеся данные по возможностям практического применения углеродных наноструктур. Большое внимание будет уделено применению углеродных наноматериалов в медицине для визуализации опухолей при проведении хирургических вмешательств, при создании косметических средств, а также в сельском хозяйстве при создании удобрений. Дополнительно будет продемонстрирован вектор развития исследований в области изучения углеродных наноматериалов для разработки систем адресной доставки лекарственных веществ, при создании наноразмерных лекарственных веществ, разработки систем диагностики и для получения новых биоматериалов. Отдельное внимание уделено сложностям в изучении данных объектов. Примеры, которые будут представлены в докладе опираются на исследования, которые были проведены авторами в разные годы в ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова совместно с коллегами с кафедры химии твердого тела Института химии СПбГУ, РНЦРХТ им. ак. А. М. Гранова, а также из Агрофизического научно-исследовательского института.

Работа выполнена при поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации (государственное задание по теме «Разработка молекулярного дизайна и создание препаратов на основе конъюгатов углеродных наноструктур, векторов адресной доставки и цитотоксических агентов для инактивации стволовых опухолевых клеток и компонентов микроокружения опухоли», регистрационный номер ЕГИСУ: 1022040700957-7-3.2.21;3.1.3).

1. Semenov K.N., Ageev S.V., Kukaliia O.N. et al. Application of carbon nanostructures in biomedicine: realities, difficulties, prospects // *Nanotoxicology*, 2024, vol. 18 (2), pp. 181-213, doi: 10.1080/17435390.2024.2327053.

2. Sharoyko V.V., Ageev S.V., Podolsky N.E. et al. Biologically active water-soluble fullerene adducts: Das Glasperlenspiel (by H. Hesse)? // *Journal of Molecular Liquids*, 2021, vol. 323, P. 114990, doi: 10.1016/j.molliq.2020.114990.

ВЛИЯНИЕ ПРОТИВОИОНОВ НА РАЗДЕЛЕНИЕ ФАЗ ЖИДКОСТЬ-ЖИДКОСТЬ В СИСТЕМЕ ОЛИГОНУКЛЕОТИД-ПИЛЛАР[5]АРЕН

Effect of Counterions on Liquid-Liquid Phase Separation in the Oligonucleotide-pillar[5]arene System

Скворцова П.В.¹, Пергат А.В.^{1,2}, Хайрутдинов Б.И.^{1,2}

¹ Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, г. Казань, РФ, *skvpolina@gmail.com*

² Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, РФ

Пространственно-временная организация биохимических процессов в клетках обеспечивается за счет органелл. Органеллы представляют собой отсеки внутри клетки и имеют границы, отделяющие среду с уникальными свойствами внутри от внешнего пространства. Клетки содержат как мембранные, так и безмембранные органеллы. Мембранные органеллы отделены от цитоплазмы мембраной, которая является физической границей органеллы. Безмембранные органеллы обладают жидкоподобными свойствами и образуются в процессе разделения фаз жидкость-жидкость [1]. Они могут включать в себя широкий спектр поливалентных биомолекул, таких как белки, ДНК и РНК [2].

Изучение реальных систем безмембранных органелл, встречающихся в живых клетках, осложняется их многокомпонентным составом и сложностью приготовления. Использование модельных систем может оказаться полезным для определения физико-химических принципов их формирования. В нашей работе мы исследовали систему, содержащую поликатионные производные пиллар[5]арена и полианионный олигонуклеотид. Ранее нами было показано, что данная система способна к фазовому разделению жидкость-жидкость и может служить прототипом безмембранной органеллы [3].

Согласно литературным данным важную роль в фазовом разделении играют мультивалентные взаимодействия. В случае электростатического мультивалентного взаимодействия эффективность фазового разделения можно варьировать за счет изменения противоионов взаимодействующих макромолекул. В качестве следующего шага для изучения полученной нами системы был синтезирован пиллар[5]арен с двумя различными типами противоионов – хлора и йода. Показано, что эффективность конденсации олигонуклеотида для пиллар[5]арена с противоионом йода возрастает.

Для оценки стехиометрии комплексов в растворе нами были проведены измерения коэффициента самодиффузии (КСД) молекул методом ЯМР диффузографии и определен гидродинамический радиус комплекса олигонуклеотид-пиллар[5]арен, который составил 2.0 ± 0.2 нм. В то же время, комплекс олигонуклеотида с пиллар[5]ареном 1:1, полученный методом молекулярного докинга характеризуется радиусом 1,8 нм. Однако,

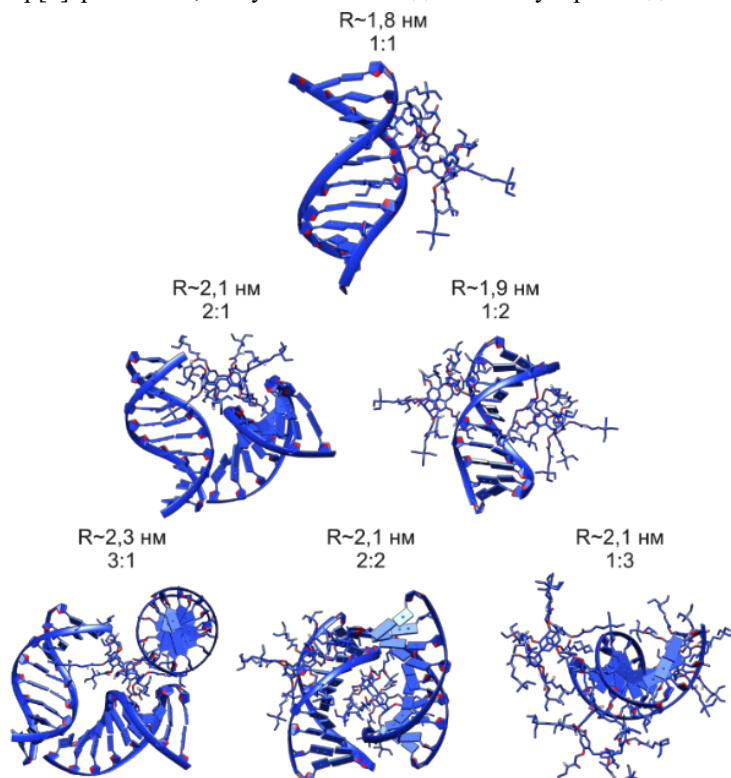


Рисунок 1. Модели комплексов олигонуклеотид-пиллар[5]арен с различной стехиометрией

методом молекулярного докинга также показано, что возможно образование межмолекулярных комплексов, включающих несколько молекул олигонуклеотида и пиллар[5]арена. На основании моделей этих комплексов были рассчитаны их гидродинамические радиусы (рис. 1), которые также входят в диапазон $2,0 \pm 0,2$ нм. Так как наблюдаемое значение КСД представляет собой средневзвешенное значение КСД молекул во всех состояниях, то вероятно образование комплексов более чем из двух молекул с различными стехиометриями.

Наши результаты демонстрируют, что в изучаемой системе выполняются условия мультивалентного взаимодействия, которые могут способствовать образованию комплексов с большей стехиометрией и приводить к фазовому разделению жидкость-жидкость. Показано, что эффективность разделения фаз зависит от типа противоиона пиллар[5]арена. Пиллар[5]арен с противоионом йода конденсирует олигонуклеотид ДНК эффективнее, чем пиллар[5]арен с противоионом хлора.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 23-23-00632). <https://rscf.ru/project/23-23-00632/>

1. Berry J., Weber S.C., Vaidya N. et al. RNA transcription modulates phase transition-driven nuclear body assembly // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2015, vol. 112, doi: 10.1073/pnas.1509317112.
2. Li P., Banjade S., Cheng H.-C. et al. Phase transitions in the assembly of multivalent signalling proteins // *Nature*, 2012, vol. 483, doi: 10.1038/nature10879.
3. Skvortsova P., Shurpik D., Stoikov I., Khairutdinov B. Pillar[5]arene-induced DNA condensation: Liquid–liquid phase separation in pillar[5]arene-oligonucleotide system // *Journal of Molecular Liquids*, 2022, vol. 368, 120683, doi: 10.1016/j.molliq.2022.120683.

ПЕРЕРАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕМОГЛОБИНА В ЦИТОПЛАЗМЕ ЭРИТРОЦИТА ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ОБЪЕМА КЛЕТКИ

Dedistribution of Hemoglobin in Red Blood Cell Upon Cell Volume Changes

Слатинская О.В., Браже Н.А., Максимов Г.В.

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, г. Москва, РФ, slatolya@mail.ru

Взаимодействие макромолекул в условиях макромолекулярного краудинга вызывает большой интерес при исследовании протекания реакций в цитоплазме клетки [1]. Эритроцит представляет собой простой для исследования модельный объект, с содержанием воды в цитоплазме 72%. Кроме того, 97% белкового состава эритроцита занимает гемоглобин (Гб) [2]. Изменение объема клетки при прохождении по сосудам и капиллярам (диаметр капилляров около 3 мм, диаметр эритроцита – 7-8 мм) сопровождается потерей воды и снижением толщины гидратного слоя молекул Гб, в результате чего нарушается взаимодействие Н–связей, препятствующая олигомеризации молекул Гб [3, 4]. Изменения морфологии или объема эритроцита оказывают влияние на способность Гб связывать и сбрасывать лиганды (в том числе O_2 и NO_x), что может вызывать нарушение газообмена в организме [5]. Целью работы было выявить корреляцию между объемом клетки и кислород-транспортной функцией эритроцита.

С помощью методов оптической спектроскопии (КР-спектроскопия, спектроскопия гигантского комбинационного рассеяния, ИК-спектроскопия, лазерная интерференционная микроскопия, фазово-контрастная микротомография) были исследованы изменения морфологии и конформации Гб в эритроците в результате увеличения доли молекул воды в цитоплазме эритроцита при инкубации эритроцитов с убаином или в гипоосмотической среде. При гемолизе и входе воды в клетку снижается доля Гб/вода в клетке, что приводит к увеличению гидратной оболочки из молекул воды вокруг молекул Гб [4].

Нами показано, что при инкубации с убаином, изменение объема клетки достигает 5-7%, при этом, наибольшее изменение конформации отмечено для молекул мембраносвязанного Гб (G_{mc}), чем для цитоплазматического Гб (G_{cp}). Так, происходит увеличение вероятности куполообразной конформации гема для G_{mc} (снижение I_{1580}/I_{1375}) и снижение плотности упаковки для G_{mc} и G_{cp} (I_{2880}/I_{2930}). При этом, характерно увеличение доли гема с куполообразной конформацией в центральной части клетки при отсутствии существенного изменения морфологии эритроцита. В гипоосмотической среде, было выделено две стадии конформационных изменений G_{cp} :

1. Увеличение вклада валентных колебаний винильных групп (I_{1375}/I_{1580}) и пиррольных колец гема (I_{1375}/I_{1172}) Гб (характерно для куполообразной конформации гема) и снижение упорядоченности глобина (снижение объема клетки).

2. Снижение вклада групповых колебаний пиррольных колец гема Гб (увеличение объема клетки).

Кроме того, были выявлены флуктуации оптической разности хода в цитоплазме эритроцита, что указывает на перераспределение молекул G_{cp} при увеличении внутриклеточного объема клетки и деформацию эритроцита за счет флуктуации и флиппинга мембраны без существенных изменений формы целой клетки (membrane tanktreading) [6]. Таким образом, конформация гема и глобина внутриклеточного Гб зависит от макромолекулярного окружения, что подтверждает необходимость обсуждения состояния и функции Гб в цитоплазме клетки с помощью модели молекулярного краудинга [7]. При переходе из гетерогенной среды (цитоплазма) в гомогенную (раствор), молекулы Гб претерпевают изменения конформации гема и глобина: снижается вероятность нахождения гема в куполообразной конформации и плотность упаковки глобина. При этом, снижение плотности распределения молекул Гб в цитоплазме при входе воды в клетку приводит к изменению конформации гема и глобина.

1. Brugnara C. Erythrocyte membrane transport physiology // *Current Opinion in Hematology*, 1997, vol. 4, no. 2.
2. Levin R.L., Cravalho E.G., Huggins C.E. Effect of hydration on the water content of human erythrocytes // *Biophysical Journal*, 1976, vol. 16, no. 12
3. Bunkin A.F., Pershin S.M., Nurmatov A.A. Four-photon spectroscopy of ortho/para spin-isomer H_2O molecule in liquid water in sub-millimeter range // *Laser Physics Letters*, 2006, vol. 3, no. 6, doi: 10.1002/lapl.200610007.
4. Meuwly M., Karplus M. The functional role of the hemoglobin-water interface // *Molecular Aspects of Medicine*, 2022, vol. 84, doi: 10.1016/j.mam.2021.101042.

5. Иванова С.М., Лабецкая О.И., Анисимов Н.А. и др. Морфобиохимические показатели эритроцитов и состояния гемопорфиринов гемоглобина у обследуемых в динамике кратковременной изоляции в гермообъеме // *Авиакосмическая и экологическая медицина*, 2019, т. 53, № 2, doi: 10.21687/0233-528X-2019-53-2-62-67.

6. Kuhn V., Diederich L., Stevenson K.T.C. et al. Red blood cell function and dysfunction: redox regulation, nitric oxide metabolism, anemia // *Antioxidants & Redox Signaling*, 2017, vol. 26, no. 13, DOI: 10.1089/ars.2016.6954.

7. Norris M.G.S., Malys N. What is the true enzyme kinetics in the biological system? An investigation of macromolecular crowding effect upon enzyme kinetics of glucose-6-phosphate dehydrogenase // *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2011, vol. 405, no. 3, doi: 10.1016/j.bbrc.2011.01.037.

STUDY OF ELECTRONIC PROPERTIES BY DFT OF SE6 AND 5-FLUOROURACIL DRUG DELIVERY SYSTEM

Solano Gonzalez L.I., Morales Marco A., Agustin Serrano R., Zenteno Mateo B., Cervantes Tavera A.M., Hernandez Santiago A.A.

Meritorious Autonomous University of Puebla, Puebla, Mexico

In recent times, there have been significant advances in delivery systems, improving the delivery of therapeutic agents or active natural compounds to their specific targets for the treatment of a wide range of diseases [1].

Selenium (Se), with semiconducting, anticancer and antioxidant properties, is especially promising in the form of nanoparticles (SeNPs). SeNPs have significantly lower toxicity than selenium salts, with a lethal dose of 113 mg Se/kg [2]. In addition, SeNPs are biocompatible, bifunctional and biodegradable, desirable features in drug delivery systems [3]. 5-fluorouracil (5-flu) is a drug used to treat several types of cancer, including colon, breast, and head cancers. However, its efficacy is limited by its toxicity and the body's ability to adapt to it, reducing its long-term effectiveness. 5-flu works by interfering with nucleoside metabolic processes due to its similarity to the nitrogenous bases of DNA and RNA, resulting in cytotoxicity [4]. In 2012, Wen Liu and his team demonstrated that a drug delivery system combining SeNPs with 5-flu improves drug absorption and significantly reduces drug toxicity [5]. Even more, there are not scientific works (as far as we report in our references) over the electronic properties of the organometallic 5flu-6Se.

This study suggests that: the combination of SeNPs and 5-flu is a promising strategy for the design of novel anticancer therapeutics in conjunction of quantum chemistry and electron density theory (DFT), enables in-depth analysis of drug-drug interactions, optimizing the design of drug delivery systems at the molecular level.

1. Patra J.K., Das G., Fraceto L.F. et al. Nano Based Drug Delivery Systems: Recent Developments and Future Prospects // *Journal of Nanobiotechnology*, 2018, vol. 16 (1), doi: 10.1186/s12951-018-0392-8.

2. Rayman M.P. The Importance of Selenium to Human Health // *Lancet*, 2000, vol. 356 (9225), pp. 233-241, doi: 10.1016/s0140-6736(00)02490-9.

3. Zhang Ning, Ying Yin, Sheng-Jie Xu, Wei-Shan Chen. 5-Fluorouracil: Mechanisms of Resistance and Reversal Strategies // *Molecules* (Basel, Switzerland), 2008, vol. 13 (8), pp. 1551-1569, doi: 10.3390/molecules13081551.

4. Grem J.L. 5-Fluorouracil: Forty-plus and Still Ticking. A Review of Its Preclinical and Clinical Development // *Investigational New Drugs*, 2000, vol. 18 (4), pp. 299-313, doi: 10.1023/a:1006416410198.

5. Liu Wen, Xiaoling Li, Yum-Shing Wong et al. Selenium Nanoparticles as a Carrier of 5-Fluorouracil to Achieve Anticancer Synergism // *ACS Nano*, 2012, vol. 6 (8), pp. 6578-91, doi: 10.1021/nn202452c.

АДАПТАЦИЯ К ФИЗИЧЕСКИМ НАГРУЗКАМ У СТУДЕНТОВ С РАЗНЫМИ УРОВНЯМИ ФИЗИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

Adaptive Abilities to Physical Activity in Students with Different Levels of Physical Activity

Степанова Л.В.¹, Коленчукова О.А.^{1,2,3}, Вышедко А.М.¹, Кратасюк В.А.^{1,4}

¹ Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, РФ, *slyudmila@mail.ru*

² ФГБНУ «ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН» обособленное подразделение НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, РФ

³ ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет», г. Красноярск, РФ

⁴ ИБФ СО РАН – обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск, РФ

Известно, что занятия физической культурой и спортом способствуют сохранению и укреплению состояния здоровья, повышают уровень физического развития и физическую подготовленность. Влияние различных режимов физической (двигательной) активности на адаптационные возможности организма студентов при учебных физических нагрузках вызывают интерес, т.к. необходимо учитывать показатели здоровья студента. Биомаркеры слюны могут быть использованы для оценки адаптационных возможностей организма [1,2].

Оценка компонентного состава слюны при разной физической активности может быть использовано в спортивной и адаптационной медицине для профилактики состояния здоровья студентов.

Цель работы: определение специфики компонентного состава слюны студентов в зависимости от уровня физической активности.

Проведен сравнительный анализ компонентного состава слюны студентов первого курса Сибирского федерального университета ($n=107$) в группах с низкой, средней и высокой физической активностью до и после физической нагрузки. Оценивали функциональные показатели организма (частота сердечных сокращений (ЧСС), время восстановления ЧСС, объем легких, мышечная сила), биохимические (концентрация диеновых и триеновых конъюгатов, оснований Шиффа, лактата, общего белка, активность каталазы) и хемилюминесцентные (максимальная интенсивность свечения, время начала и максимальной хемилюминесцентной реакции, максимальная площадь хемилюминесцентной кривой) показатели слюны, ионный (концентрация аммония, магния, натрия, кальция) и минеральный (концентрация нитритов, сульфатов, фторидов, фосфатов) состав слюны. Измерено остаточное свечение биолюминесцентной ферментативной системы (НАД(Ф)Н:ФМН-оксидоредуктаза+люцифераза) – интегральный биолюминесцентный показатель для слюны, учитывающий влияние всех биомаркеров слюны.

Выявлено, что функциональные показатели организма линейно достоверно повышались у студентов с возрастающей физической активностью ($p<0,001$), что доказало корректность разделения студентов на группы с разным уровнем физической активности. Показатели антиоксидантного статуса были понижены в группе студентов с высокой физической активностью относительно группы с низкой физической активностью. Пониженный биолюминесцентный показатель при индукции слюной студентов, имеющих низкую физическую активность, линейно достоверно повышался в группах студентов, имеющих среднюю и высокую физическую активность ($p=0,002$). На повышение биолюминесцентного показателя при воздействии слюны студентов, имеющих высокую физическую активность, могло оказывать влияние пониженная концентрация продуктов перекисного окисления липидов и активности каталазы, снижение минерального и ионного состава. Следовательно, физические нагрузки способствовали усилению обменных процессов в организме, что приводило к активации иммунных функций.

Понижение биолюминесцентного показателя при воздействии слюны студентов, имеющих меньшую физическую активность, могло быть обусловлено также изменением минерального и ионного состава, но в сторону повышения, а также дисбаланс прооксидантной и антиоксидантной активности в сторону усиления перекисных процессов. При этом изменения биохимических показателей, минерального и ионного состава в слюне после физических нагрузок более значимые в каждой группе. Следовательно, при средних и низких физических нагрузках выявлено нарушение обменных процессов, способствующих медленному распаду и окислению питательных веществ, что характерно для малоактивных людей с различными заболеваниями.

Таким образом, специфика компонентного состава слюны студентов позволяет показать адаптационные особенности организма к физическим нагрузкам и выявить уровень физической активности для предотвращения перегрузки организма во время занятия физической культурой и спортом.

1. Михайлова С.В., Сидорова Т.В., Полякова Т.А. и др. Физиологический статус студентов с различным уровнем двигательной активности // Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия, 2020, т. 6 (72), № 2, с. 149-164.

2. Kolenchukova O.A., Dedora A.O., Stepanova L.V. et al. The use of bioluminescent enzyme bioassay for the analysis of human saliva: Advantages and disadvantages // Luminescence, 2024, vol. 39, iss. 5, p. e4776, doi: 10.1002/bio.4776.

ПОИСК ОРТОЛОГОВ ПРИОННЫХ БЕЛКОВ ЧЕЛОВЕКА

Search for Orthologs of Human Prion Proteins

Тарасова М.А.¹, Завьялова О.С.², Кузнецов А.В.^{2,3}

¹ Центр дополнительного образования «Малая академия наук», г. Севастополь, РФ

² Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

³ Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ

Прион – это белковая молекула с аномальной третичной структурой, которая способна катализировать конформационный переход гомологичных нормальных белков в прионы. У человека прионы вызывают болезни Крейтцфельда-Якоба, Герстмана-Штраусслера, Хантингтона 1 типа, фатальную семейную бессонницу и куру [1]. Прионные заболевания поражают нервные ткани, неизлечимы и смертельны [2]. Чтобы ослабить симптоматику используют тетрациклин, гуанидин, амфотерицин, холестерин, дезоксихолевую кислоту и доксициклин. Помимо человека прионы вызывают заболевания у различных млекопитающих, как «коровье бешенство», «почесуху овец» и др. [3]. Белки, с прионными свойствами обнаружены у *Arabidopsis thaliana* [4] и некоторых грибов. Их роль в физиологии организма-хозяина и в эволюции не ясна [5]. Предполагается, что у человека прионы могут принимать участие в формировании долговременной памяти [6]. Мы провели

биоинформационный анализ и идентифицировали ортологи генов прионов в организмах разных систематических групп от млекопитающих до земноводных.

Ген *PRNP* [7] кодирует нормальный белок PrPC и изоформу этого белка PrPd, связанную с заболеваниями. У этого гена имеется вторая рамка считывания, которая кодирует меньший, структурно несвязанный белок AltPrP. Альтернативный сплайсинг приводит к образованию множества вариантов транскрипта. PrPC представляет собой мембранный гликозилфосфатидилинозитол-заякоренный гликопротеин, который имеет тенденцию агрегировать в палочковидные структуры. Кодированный белок содержит нестабильную область из пяти tandemных октапептидных повторов. мРНК *PRNP* человека определяет полипептид длиной 253 ао, который укорачивается протеазами в процессе созревания. Зрелая форма PrP с молекулярной массой 35-36 кДа содержит 208 ао [8]. Помимо ограниченного протеолиза, PrP подвергается и другим посттрансляционным модификациям, как N-гликозилирование в положениях Asn-181 и Asn-197, присоединение гликозилфосфатидилинозитола к Ser-230 и образование дисульфидной связи между Cys-179 и Cys-214. Аминокислотные остатки, вовлечённые в посттрансляционные модификации, консервативны у млекопитающих [9]. У PrP выделяют неструктурированный N-концевой участок (23-125 ао у человека) и глобулярный домен (126-231 ао), состоящий из трёх α -спиралей и двухцепочечного антипараллельного β -листа [10]. Образование PrPC происходит в ЭПР, дальнейшее созревание в комплексе Гольджи, откуда он доставляется к плазматической мембране при помощи мембранных везикул. После разрушения эндосомы он закрепляется в мембране, либо подвергается эндоцитозу и разрушается в лизосомах. Белок PrP играет важную роль в клеточной адгезии, передаче внутриклеточных сигналов и может быть вовлечён в межклеточную коммуникацию, участвует в развитии нейронов, синаптической пластичности и поддержании миелиновой оболочки нейронов [11].

Инфекционная изоформа PrPd способна превращать нормальный белок PrPC в инфекционный, изменяя его конформацию, что перестраивает сеть белок-белковых взаимодействий. Прион связывается с неизвестным белком-рецептором, в результате чего эндоплазматический ретикулум высвобождает кальций и индуцирует ER-стресс. Как следствие, активируется каспаза 12, а за ней исполнительная каспаза-3, вызывающая апоптоз нейронов. Обычно, при переходе белка в прионное протеазо-резистентное состояние его α -спирали превращаются в β -слои. Появившийся в результате такого перехода прион может перестраивать новые молекулы белков с образованием неправильно свёрнутых молекул амилоидов [12]. Кроме того, аномальные формы способны объединяться в амилоидные волокна, которые формируют бляшки. Конец каждого волокна служит затравкой, к которой прикрепляются свободные белковые молекулы, в результате чего фибрилла удлиняется. Дополнительное связывание ионов меди может стабилизировать полученную конформацию и способствовать олигомеризации. В большинстве случаев присоединяются видоспецифичные молекулы. Однако, известны случаи и межвидовой передачи прионов [13]. Растворимые олигомеры токсичны для культивируемых клеток нейробластомы и индуцируют апоптоз *in vitro*. Наследственные прионные заболевания вызываются мутацией гена *PRNP*, который расположен в положении 20p13 и состоит из двух экзонов. Известно около 30 мутаций этого гена. Ряд полиморфизмов придает устойчивость к прионным заболеваниям. Например, вариация Val-127 появилась в ответ на эпидемию Куру [14] а Lys-219 обеспечивает относительную защиту от болезни Крейтцфельдта-Якоба [15].

Ортологи продукта гена *PRNP* человека с уровнем сходства более 30% обнаружены нами у млекопитающих, птиц, пресмыкающихся и земноводных (табл. 1) и не найдены у рыб (*Danio rerio*, *Poecilia reticulata*), гребневики (*Mnemiopsis leidyi*), пластинчатых (*Trichoplax adhaerens*), коловраток (*Brachionus plicatilis*, *Rotaria magnacalcarata*), инфузорий (*Paramecium caudatum*), растений (*Arabidopsis thaliana*) и грибов (*Saccharomyces cerevisiae*).

Таблица 1. Ортологи продукта *PRNP* гена у разных животных

Организм	Латинское название	Таксономия	Идентификатор	Сходство, %
Человек	<i>Homo sapiens</i>	Chordata, Mammalia, Primates, Hominidae	NP_001073592.1	100
Шимпанзе	<i>Pan troglodytes</i>	Chordata, Mammalia, Primates	NP_001009093.1	99,21
Домовая мышь	<i>Mus musculus</i>	Chordata, Mammalia, Rodentia	NP_001265185.1	89,02
КРС	<i>Bos Taurus</i>	Chordata, Mammalia, Artiodactyla	NP_001258555.1	87,74
Утконос	<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Chordata, Mammalia, Monotremata	XP_028921472.1	59,59
Курица	<i>Gallus gallus</i>	Chordata, Aves, Galliformes	NP_990796.2	43,08
Анолис	<i>Anolis carolinensis</i>	Chordata, Lepidosauria, Squamata	XP_003226790.1	36,99
Ксенопус	<i>Xenopus laevis</i>	Chordata, Amphibia, Anura	NP_001082180.1	33,92

Примечание: blastp (protein-protein BLAST), nr, organism taxid

Все же, парное выравнивание с меньшим уровнем сходства (от 20,7 до 0,2%) показало гомологию с прионо-подобными белками *S. cerevisiae*: Rnq1, Mca1, Sup35, Mod5, Ure2, Mot3, Sfp1, Cys8, Swi1 (табл. 2).

PrPC-подобные белки дрожжей *S. cerevisiae* (PrIps) имеют некоторые структурные сходства с PrPC. Однако у них отсутствует сигнальный пептид, как у PrPC, поэтому считается, что они не секретируются. PrIps могут играть важную роль в дрожжах, например, регулировать рост клеток, метаболизм, реакции на стресс и клеточное старение. Это отличает PrIps дрожжей от PrPC, которые выполняют в организме высокоорганизованных многоклеточных животных множество функций, включая межклеточные взаимодействия, нейропротекцию,

нейрогенез, и синаптическую пластичность. Тем не менее, на уровне отдельных доменов прионо-подобные белки грибов могут реплицировать свои свойства.

Таблица 2. Парное выравнивание PrPC человека и белков *Saccharomyces cerevisiae*

Прионо-подобный белок <i>S. cerevisiae</i>	Идентичность		Сходство	
	отношение	%	отношение	%
Rnq1	55/439	12,5	91/439	20,7
Mca1	47/516	9,1	84/516	16,3
Sup35	58/730	7,9	93/730	12,7
Mod5	37/532	7,0	65/532	12,2
Ure2	28/515	5,4	47/515	9,1
Mot3	24/639	3,8	49/639	7,7
Sfp1	31/811	3,8	54/811	6,7
Cyc8	8/1171	0,7	20/1171	1,7
Swi1	2/1584	0,1	3/1584	0,2

Примечание: EMBOSS Needle Pairwise Sequence Alignment (PSA), EBLOSUM62, gap penalty 10,0, extend penalty 0,5, NP_001073592.1

1. Collinge J., Whitfield J., McKintosh E. et al. Kuru in the 21st century – an acquired human prion disease with very long incubation periods // *Lancet*, 2006, vol. 367 (9528), pp. 2068-74.

2. Prusiner S.B. Prions // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 1998, vol. 95 (23), pp. 13363-83.

3. Зуев В.А., Кальнов С.Л., Куликова Н.Ю., Гребенникова Т.В. Современное состояние проблемы прионных болезней и причины их опасности для человека и животных // *Вопросы вирусологии*, 2020, т. 65 (2), pp. 71-76.

4. Chakrabortee S., Kayatekin C., Newby G.A. et al. Luminidependens (LD) is an Arabidopsis protein with prion behavior // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 2016, vol. 113 (21), pp. 6065-70.

5. Lindquist S., Krobitch S., Li L., Sondheimer N. Investigating protein conformation-based inheritance and disease in yeast / *Philos. Trans. R Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 2001, vol. 356 (1406), pp. 169-76.

6. Papassotiropoulos A., Wollmer M.A., Aguzzi A. et al. The prion gene is associated with human long-term memory // *Hum. Mol. Genet.*, 2005, vol. 14 (15), pp. 2241-6.

7. Linden R., Martins V.R., Prado M.A. et al. Physiology of the prion protein // *Physiol. Rev.*, 2008, vol. 88 (2), pp. 673-728.

8. Yusa S., Oliveira-Martins J.B., Sugita-Konishi Y., Kikuchi Y. Cellular prion protein: from physiology to pathology // *Viruses*, 2012, vol. 4 (11), pp. 3109-31.

9. van Rheede T., Smolenaars M.M., Madsen O., de Jong W.W. Molecular evolution of the mammalian prion protein // *Mol. Biol. Evol.*, 2003, vol. 20 (1), pp. 111-21.

10. Ronga L., Tizzano B., Palladino P. et al. The prion protein: Structural features and related toxic peptides // *Chem. Biol. Drug. Des.*, 2006, vol. 68 (3), pp. 139-47.

11. Málaga-Trillo E., Solís G.P., Schrock Y. et al. Regulation of embryonic cell adhesion by the prion protein // *PLoS Biol.*, 2009, vol. 7 (3), p. e55.

12. Aguzzi A. Unraveling prion strains with cell biology and organic chemistry // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 2008, vol. 105 (1), pp.11-2.

13. Grassmann A., Wolf H., Hofmann J. et al. Cellular aspects of prion replication in vitro // *Viruses*, 2013, vol. 5 (1), pp. 374-405.

14. Asante E.A., Smidak M., Grimshaw A. et al. A naturally occurring variant of the human prion protein completely prevents prion disease // *Nature*, 2015, vol. 522 (7557), pp. 478-81.

15. Shibuya S., Higuchi J., Shin R.W. et al. Protective prion protein polymorphisms against sporadic Creutzfeldt-Jakob disease // *Lancet*, 1998, vol. 351 (9100), p. 419.

СОСТОЯНИЕ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА ПРИ НОРМАЛЬНОЙ БЕРЕМЕННОСТИ И ПРЕЭКЛАМПСИИ

State of Oxidative Stress in Normal Pregnancy and Preeclampsia

Теселкин Ю.О., Бабенкова И.В., Лебедева С.Ю., Выхристюк Ю.В., Шалина Р.И., Осипов А.Н.

Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, г. Москва, РФ,
teselkin-box@mail.ru

Преэклампсия – специфичный для беременности клинический синдром, который является основной причиной материнской и неонатальной заболеваемости и смертности. Важную роль в патогенезе преэклампсии играет оксидативный стресс. Определение маркеров оксидативного стресса при преэклампсии позволяет оценить интенсивность свободно-радикальных реакций, состояние системы антиоксидантной защиты и имеет прогностическое значение. К числу таких маркеров относятся модифицированный ишемией альбумин (ischemia-modified albumin – ИМА) и антиоксидантная способность (АОС) сыворотки крови. Вместе с тем известно, что

нормальная беременность также сопровождается активацией оксидативного стресса, который является физиологически обусловленным. Цель работы – сравнительное изучение содержания IMA в сыворотке крови и АОС сыворотки крови у здоровых беременных женщин и пациенток с преэклампсией.

Всего обследовано 140 женщин в возрасте 20–40 лет, среди них 30 здоровых небеременных и 110 беременных женщин со сроком гестации ≥ 32 недель. Обследованные были разделены на четыре группы: 1-я – здоровые небеременные ($n=30$); 2-я – здоровые беременные ($n=30$); 3-я – пациентки с умеренной преэклампсией ($n=40$); 4-я – пациентки с тяжелой преэклампсией ($n=40$). Уровень IMA в сыворотке крови определяли, используя тест на связывание альбумином ионов кобальта [1]. Кроме того, рассчитывали IMAR – отношение IMA к концентрации альбумина. АОС сыворотки крови измеряли методом кинетической хемилюминесценции [2]. Содержание альбумина в сыворотке крови определяли по реакции с бромкрезоловым зеленым, мочевой кислоты – уриказным методом.

Анализ уровней мочевой кислоты и альбумина в сыворотке крови женщин обследованных групп позволил выявить следующие различия. Содержание мочевой кислоты повышалось последовательно от 1-й к 4-й группе. Что касается сывороточного альбумина, то этот показатель в том же ряду, наоборот, уменьшался. Наибольшее содержание мочевой кислоты и наименьшее содержание сывороточного альбумина зарегистрировано у пациенток с тяжелой преэклампсией. При тяжелой форме преэклампсии содержание мочевой кислоты было в 1,2 раза выше ($p<0,01$), а сывороточного альбумина в 1,3 раза ниже ($p<0,001$), чем при умеренной форме. При сравнении со здоровыми беременными соответствующие показатели различались в 1,4 раза ($p<0,001$).

Обнаружено увеличение уровней IMA и IMAR (в 1,3 и 1,5 раза, $p<0,001$) в сыворотке крови здоровых беременных по сравнению с небеременными. У пациенток с умеренной и тяжелой преэклампсией уровни IMA и IMAR были выше, чем у здоровых небеременных и беременных женщин ($p<0,001$). Тяжелая преэклампсия отличалась от умеренной более высокими значениями IMAR (в 1,3 раза, $p<0,01$). АОС сыворотки крови у женщин обследованных групп повышалась в ряду: здоровые небеременные, здоровые беременные, пациентки с умеренной преэклампсией, пациентки с тяжелой преэклампсией. При тяжелой преэклампсии уровень АОС сыворотки крови был соответственно в 1,8, 1,5 и 1,4 раза выше ($p<0,001$) по сравнению со значениями этого показателя в 1-й, 2-й и 3-й группах.

В результате проведения корреляционного анализа выявлена положительная взаимосвязь между АОС сыворотки крови и содержанием мочевой кислоты: в 1-й группе $r=0,450$ ($p<0,05$), во 2-й группе $r=0,719$ ($p<0,001$), в 3-й группе $r=0,667$ ($p<0,001$), в 4-й группе $r=0,477$ ($p<0,01$). Установлена также отрицательная взаимосвязь между уровнем IMAR и содержанием альбумина: в 1-й группе $-0,477$ ($p<0,01$), во 2-й группе $-0,928$ ($p<0,001$), в 3-й группе $-0,821$ ($p<0,001$), в 4-й группе $-0,937$ ($p<0,01$). Чем меньше содержание альбумина в сыворотке крови у здоровых беременных женщин и пациенток с преэклампсией, тем больше доля альбумина, модифицированного в результате атаки свободных радикалов. Известно, что альбумин является не только транспортным белком, но и важным неферментативным антиоксидантом. Можно предположить, что уменьшение его содержания в сыворотке крови у пациенток с преэклампсией на фоне интенсивной продукции прооксидантов также способствует усилению оксидативного стресса.

Результаты исследования показывают, что оксидативный стресс при преэклампсии выражен в значительно большей степени, чем при нормальной беременности. Повышение АОС сыворотки крови при преэклампсии коррелирует со степенью тяжести патологического процесса и, по-видимому, обусловлено увеличением содержания в сыворотке крови мочевой кислоты. Это позволяет рекомендовать определение АОС сыворотки крови, наряду с IMA, для выявления преэклампсии и прогнозирования ее течения.

1. Bar-Or D., Lau E., Winkler J.V. A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia-a preliminary report // The Journal of Emergency Medicine, 2000, vol. 19, no 4, pp. 311-315, doi: 10.1016/s0736-4679(00)00255-9.

2. Teselkin Yu.O., Babenkova I.V., Osipov A.N. A modified chemiluminescent method for determination of the antioxidant capacity of biological fluids and tissues // Biophysics, 2019, vol. 64, no. 5, pp. 708-716, doi: 10.1134/S0006350919050233.

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ТИМОПОЭЗА ПРИ КРАТКОВРЕМЕННОМ И ДЛИТЕЛЬНОМ СНИЖЕНИИ КОНЦЕНТРАЦИИ ДЕЙТЕРИЯ В ОРГАНИЗМЕ Interference Thymopoiesis Activity to Short-term and Long-term Decrease in Deuterium Content in the Body

Тимохина Е.П., Яглова Н.В., Обернихин С.С., Яглов В.В., Назимова С.В.

«НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына» ФГБУН «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», г. Москва, РФ, rodich_k@mail.ru

Тимус обеспечивает созревание и миграцию Т-клеток в периферические органы иммунитета, где они распознают различные антигены и поддерживают иммунологическую память и самотолерантность [1,2]. Поиск подходов к восстановлению тимопоэза представляет большой интерес. Целью настоящего исследования было

оценить, как кратковременное и длительное снижение концентрации дейтерия в организме влияет на активность тимопоэза. Эксперимент выполнен на половозрелых самцах крыс Вистар ($n=60$), потреблявших воду с пониженным содержанием дейтерия $[D]=10\text{ppm}$. Цитофлюорометрическое исследование фенотипа тимоцитов через сутки после начала эксперимента показало четырёхкратное увеличение дубль-негативных ($CD4-CD8-$) клеток при почти двукратном уменьшении количества дубль-позитивных ($CD4+CD8+$) клеток. При этом отмечалось двукратное увеличение $CD3+$ клеток, преимущественно за счёт Т-цитотоксических лимфоцитов, нежели Т-хелперов. Данный факт говорит о том, что процессы формирования лимфоцитов в тимусе высокочувствительны к кратковременному уменьшению содержания дейтерия в организме. На 3-е сутки были отмечены обратные изменения в субпопуляции лимфоцитов в тимусе, такие как уменьшение процента низкодифференцированных и высокодифференцированных клеток, и увеличение количества дубль-позитивных клеток. Количество Т-клеток в крови также было снижено. Эти результаты указывают на снижение активности тимопоэза и подавление дифференцировки, которое затронуло в основном Т-цитотоксические лимфоциты. На 7-е сутки снижения концентрации дейтерия в организме, содержание зрелых Т-клеток в тимусе оставалось сниженным, в то время как в крови оно превышало контрольные значения. Снижение затронуло как Т-хелперы, так и Т-цитотоксические лимфоциты. Процент низкодифференцированных клеток был значительно снижен. В то же время содержание дубль-позитивных клеток было выше, чем в контроле. То есть мы наблюдали усиленную миграцию Т-клеток из тимуса в кровотоки. На 14-е сутки исследования количество Т-клеток в тимусе увеличилось и превысило контрольные значения. В то же время содержание низкодифференцированных клеток было в три раза ниже, чем в контроле, а процент дубль-позитивных клеток был выше, что указывает на ускоренную дифференцировку тимоцитов. Содержание Т-хелперов вернулось к контрольным значениям, в то время как содержание Т-цитотоксических лимфоцитов оставалось сниженным. Количество Т-клеток в крови соответствовало контрольным значениям, что подтверждает активацию процесса клеточной дифференцировки. На 21-е сутки эксперимента, содержание высокодифференцированных Т-клеток в тимусе и крови уменьшилось. Процессы дифференцировки характеризовались повышенным образованием Т-цитотоксических лимфоцитов. Отмечалось повышение количества низкодифференцированных клеток, при этом концентрация дубль-позитивных тимоцитов соответствовала контрольным значениям, что указывает на активацию пролиферации клеток-предшественников. После 28 суток потребления обедненной дейтерием воды содержание Т-клеток в тимусе соответствовало контрольным значениям, а в крови превышало их на четверть. Это указывает на повышенную миграцию зрелых Т-лимфоцитов из тимуса. Количество низкодифференцированных клеток в тимусе превысило значения контрольной группы более чем в три раза. Скорость дифференцировки низкодифференцированных клеток в дубль-позитивные соответствовала контрольным значениям. Также наблюдалось восстановление баланса между Т-хелперами и Т-цитотоксическими лимфоцитами в тимусе. Таким образом, морфогенетические процессы, обеспечивающие тимопоэз, чувствительны к содержанию дейтерия в организме. Кратковременное понижение содержания дейтерия в организме приводит к реактивной стимуляции лимфоцитопоэза в тимусе. Длительное же снижение концентрации дейтерия замедляет переход тимуса к возрастной инволюции и, в целом, стимулирует более высокую активность тимопоэза.

1. Boursalian T.E., Golob J., Soper D.M. et al. Continued maturation of thymic emigrants in the periphery // *Nat. Immunol.*, 2004, vol. 5, pp. 418-425.
2. Martins V.C., Ruggiero E., Schlenner S.M. et al. Thymus-autonomous T cell development in the absence of progenitor import // *J. Exp. Med.*, 2012, vol. 209, pp. 1409-1417.

ФИЗИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ КВЧ ДИАПАЗОНА НА КЛЕТОЧНОМ УРОВНЕ ОРГАНИЗАЦИИ БИООБЪЕКТА

Physical Model of the Biological Effect of Microwave Radiation in the EHF Range at the Cellular Level of the Organization of a Bio-object

Титов А.С.^{1,2}, Полников И.Г.¹, Титов С.В.¹, Казаринов К.Д.¹

¹ Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН, г. Фрязино, МО, РФ

² Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), г. Долгопрудный, РФ, pashkin1212@yandex.ru

Интерес к изучению механизмов действия микроволнового излучения КВЧ диапазона на клетки животных и растений обнаружился довольно давно и до сегодняшнего дня подпитывался все новыми и новыми экспериментальными результатами исследований [1]. Учитывая сложность вопроса оценки и интерпретации экспериментальных данных по изучению биологической чувствительности к микроволнам, полученных различными авторами, становится еще более актуальной задача изучения первичных механизмов воздействия электромагнитного излучения на биообъекты [2]. Обнаруженные данные о значительных температурных различиях между цитоплазмой, ядром и митохондриями свидетельствуют о необходимости теоретических исследований внутриклеточного транспорта, обусловленного конвективным механизмом [3]. При

экспериментальном исследовании биологического действия КВЧ облучения на модельные мембранные системы нами был установлен конвективный механизм обнаруженных эффектов ускорения мембранного транспорта, явление вынужденной конвекции было обнаружено также при исследовании ряда мембранных модельных и нативных систем в водных средах в условиях КВЧ облучения: процессов перекисного окисления липидов, транспорта ионов кожей лягушки, лизиса дрожжевых клеток и др. Визуальные методы наблюдения позволили нам обнаружить перемещение слоев воды вблизи поверхности, на которую падает микроволновое излучение. Наблюдалось под микроскопом движение взвешенных в воде частиц, например, эритроцитов в физиологическом растворе в тонкой кварцевой кювете, облучаемой микроволнами. Также была обнаружена конвекция в воде, стимулированная КВЧ излучением, вблизи плоской вертикальной стенки кварцевой кюветы. Вода была помечена следами от капель туши [1].

В данной работе представлена теоретическая оценка возможности влияния микроволнового излучения низкой интенсивности на конвекцию в водном растворе. Для этого вначале была проведена оценка плотности энергии теплового источника при поглощении водной средой энергии микроволнового излучения в КВЧ диапазоне. Макроскопические движения жидкости описываются общей системой уравнений гидродинамики. Эта система включает в себя уравнения Навье-Стокса, уравнение переноса тепла и уравнение неразрывности, выражающее закон сохранения массы. Наиболее популярной моделью для описания конвекции в жидкостях, основанной на этих трех уравнениях, является приближение Буссинёса.

В результате нашего расчета, для скорости конвекции в воде, поверхность которой подвергается слабому КВЧ воздействию, получена приблизительная оценка 1 мкм/с, что соизмеримо с размерами клеток человеческого организма [4].

Приведенные в данной работе результаты исследований показывают возможность регулирования с помощью КВЧ облучения низкой интенсивности скорости потоков водных растворов в модельных биологических объектах *in vitro*, а многочисленные данные об обнаруженных эффектах движения внутриклеточной цитоплазматической жидкости при наличии градиентов температуры, создаваемых ядром клетки, митохондриями и другими внутриклеточными источниками тепла подтверждают такую возможность в экспериментах *in vivo*.

Работа выполнена в рамках госзадания ФИРЭ им. В.А. Котельникова РАН.

1. Казаринов К.Д., Полников И.Г. 50 лет созданию нового направления биомедицинской радиоэлектроники. Академик Н.Д. Девятков // Электронная техника. СВЧ-техника, 2023, № 1, с. 58-67.

2. Казаринов К.Д., Полников И.Г., Власова И.И. и др. Изучение радикал-генерирующей способности активированных нейтрофилов в эксперименте *in vitro* в условиях микроволнового облучения // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2021, т. 6, № 4, с. 137-141.

3. Uchiyama S., Toshikazu T., Kumiko I. et al. A cationic fluorescent polymeric thermometer for the ratiometric sensing of intracellular temperature // Analyst, 2015, vol. 140, no. 13, pp. 4498-4506.

4. Титов А.С., Полников И.Г., Титов С.В., Казаринов К.Д. Изучение физической модели биологического действия микроволнового излучения КВЧ диапазона на клеточном уровне организации биообъекта // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2024 (в печати).

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА ПРИ ВОЗНИКНОВЕНИИ И РАЗВИТИИ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА НА МОДЕЛИ ЛАБОРАТОРНЫХ ПРИМАТОВ

Physical-chemical Methods for Determination of Oxidative Stress Implications in the Incident and Development of Pathological Process in Laboratory Primates Models

Чжу О.П., Маринич И.И., Аравнашвили Д.Э.

Курчатовский комплекс медицинской приматологии, г. Сочи, РФ, olga.chzhu@mail.ru

Перекисная концепция развития патологических состояний и необходимость применения антиоксидантной терапии обоснованы при протекании ряда заболеваний – сахарный диабет, зависимость от психоактивных веществ, постстрессовые расстройства, опухолевый рост, ишемическая болезнь сердца, нарушениях мозгового кровообращения и др. Актуальным является проведение исследований по данной проблеме среди контингента пациентов пожилого и старческого возраста. Применение антиоксидантов может внести вклад в более эффективную профилактику острых сосудистых катастроф в гериатрической практике.

Выявление определенных особенностей взаиморегулирующего влияния процессов окисления и антиоксидантной системы организма может выступать критерием оценки и прогноза течения патологического процесса при эндогенной токсикации и корректировки лечебной тактики.

Быстрота, точность, простота операций и высокая чувствительность физико-химических методов анализа позволяет контролировать контролировать патологический процесс на любой стадии.

В данной работе отрабатывали определения биомаркеров оксидативного стресса на приматах в динамике (на фоне воздействия эндогенного фактора (введение фармпрепарата) или развития патологического процесса).

В качестве биомаркеров были выбраны:

1. Малоновый диальдегид (МДА) – продукт конечного окисления липидов. Метод определения – ВЭЖХ с градиентным режимом. Метод позволил зафиксировать статистически значимые изменения показателей по группам, что оказалось невозможно сделать классическим ИФА.

2. Жирорастворимые витамины Е, А – неферментативные компоненты антиоксидантной системы организма. Метод определения – ВЭЖХ с градиентным режимом.

3. Супероксиддисмутаза (СОД) – ферментативный компонент антиоксидантной системы организма. Метод определения – спектрофотометрический метод в гемолизате в реакции автоокисления адреналина, где СОД выполняет функции ингибитора реакции.

4. Церулоплазмин (ферроксидаза, содержащая медь) – ферментативный компонент антиоксидантной системы организма. Метод определения – биоакустический метод (косвенно в составе белковых фракций альфа два глобулинов).

Методы обрабатывали на фоне внутримышечного и внутривенного введения иммуномоделирующего и антиоксидантного препарата в группе приматов в возрасте от 75 до 100 лет (рис. 1); при оценке и коррекции состояния организма фармакологически активными веществами у приматов в возрасте от 25 до 45 лет, участвующих в эксперименте по моделированию алкогольной зависимости; при оценке состояния антиоксидантной защиты организма у приматов в возрасте от 25 до 45 лет, участвующих в эксперименте по моделированию развития патологического процесса гепатита Е.

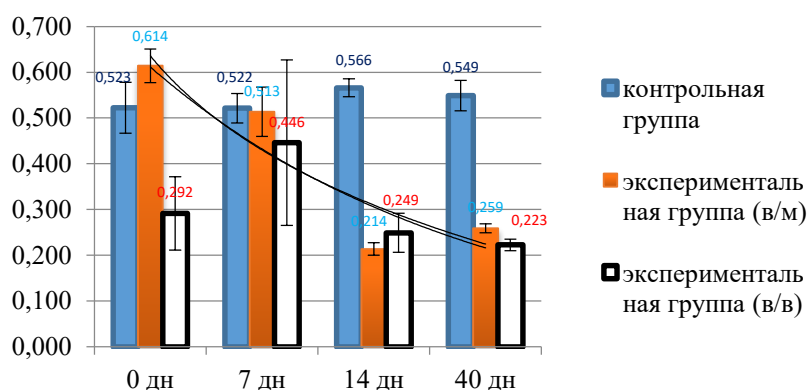


Рисунок 1. Динамика изменения средних значений концентрации МДА на фоне введения препарата в группе пожилых животных (мкмоль/л)

Полученные данные позволяют оценить возможность разработки систем экспресс индикаторов диагностики антиоксидантной защитной системы организма при возникновении, развитии и коррекции патологического состояния.

ПОДБОР МЕТОДИКИ ЭКСТРАКЦИИ ФЕРМЕНТОВ ИЗ ВОДОРОСЛИ РОДА *DUNALIELLA* Selection of Methods for Extraction of Enzymes from the Algae of the Genus *Dunaliella*

Шаповалова В.Е.¹, Дубовицкая А.Н.², Редько Ю.А.², Лантушенко А.О.¹, Холявка М.Г.²

¹ ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», г. Севастополь, veshapovalova@sevsu.ru

² ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», г. Воронеж

Dunaliella salina, один из представителей рода *Dunaliella* (*Chlorophyceae*, *Volvocales*) – чрезвычайно галотолерантные, одноклеточные, зеленые и подвижные водоросли. Род *Dunaliella* уникален своей способностью выживать в средах, содержащих широкий диапазон концентраций NaCl, от 0,05 М до 5,5 М, сохраняя при этом относительно низкую внутриклеточную концентрацию натрия [1]. Кроме того, в условиях сильного солевого стресса *D. salina* может накапливать в клетках большое количество β-каротина, что делает его одним из лучших природных источников данного каротиноида. [2].

Клетки микроводоросли используют различные адаптивные механизмы в ответ на различные абиотические стрессы, такие как высокая соленость, обезвоживание, холод, жара и чрезмерное осмотическое давление, которые в конечном итоге влияют на рост и продуктивность. Адаптация к этим стрессам у клеток микроводоросли происходит с помощью изменения в морфологии, структуре клетки, а также изменений в физиологических и биохимических процессах.

Распространенным последствием абиотического стресса является увеличение количества активных форм кислорода (АФК), а именно супероксидного радикала, перекиси водорода и гидроксильных радикалов. Растения защищают свои клеточные и субклеточные системы от этого окислительного стресса путем

производства/увеличения количества антиоксидантных ферментов, удаляющих АФК, таких как супероксиддисмутаза (SOD), аскорбатпероксидаза (APX) и каталаза (CAT) и т. д. [3].

В работе использовали водоросль из коллекции ИнБИОМ IBSS, выращенной при солености 2М. Для экстракции ферментов считали клетки водоросли в камере Горяева и отбирали 4 мл суспензии с концентрацией клеток $4 \cdot 10^6$, полученную суспензию центрифугировали 6 тыс. об/мин, осадок заливали растворителем и гомогенизировали, полученный гомогенат центрифугировали при 13000 об/мин, отбирали супернатант в отдельную пробирку, а осадок заливали фосфатным буфером. Для анализа использовали различные растворители, а именно: дистиллированную воду, фосфатный буфер (0,05М рН 7,5), гексан, ацетон, этанол и изопропанол. Содержание белка определяли по методу Лоури. Активность CAT и SOD определяли согласно методическим указаниям [4].

В результате проведенных экспериментов была проведена оценка содержания белка во фракциях, полученных путем экстрагирования из клеток *Dunaliella salina*. Количество белка незначительно варьируется во фракциях супернатанта и осадка при использовании воды и натрий-фосфатного буфера в качестве экстрагирующих сред. В присутствии этанола белок преимущественно регистрируется в осадке. Белок наблюдается во фракции осадка при использовании в качестве растворителей гексана и ацетона, соответственно. Однако, при экстракции белка в среду данные растворители неэффективны. Изопропанол демонстрирует слабую экстрагирующую способность в отношении клеток *Dunaliella salina*.

Использование растворителей ацетона, этанола и изопропанола ведет к снижению значений активности СОД по сравнению с активностью, проявляемой ферментами при использовании воды, натрий-фосфатного буфера и гексана в качестве экстрагентов. Подобное падение каталитической активности может объясняться частичной инактивацией фермента под действием полярных растворителей. При исследовании каталазной активности была зарегистрирована способность данных растворителей вызывать активный окислительный стресс, наиболее ярко проявляющийся во фракции супернатанта при использовании ацетона в качестве экстракционного раствора.

На основе проведенных экспериментов был установлен факт неполной экстракции белков в жидкую фазу при использовании большинства растворителей, что ведет к необходимости использования как жидкой (супернатант), так и твердой (осадок) фаз при проведении исследований в области протеомного анализа. Наилучшие результаты удалось получить при экстракции белка с помощью воды, натрий-фосфатного буфера и этанола. Тем не менее, анализ ферментативной активности накладывает определенные ограничения на диапазон возможных экстрагирующих сред вследствие необходимости соблюдения условий микроокружения энзима, в связи с чем оптимальной экстрагирующей средой является 0,05М натрий-фосфатный буфер со значением рН 7,5.

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

1. Fraser P.D., Bramley P.M. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids // Progress in lipid research, 2004, vol. 43, no. 3, pp. 228-265.

2. Highfield A., Ward A., Pipe R., Schroeder D. Molecular and phylogenetic analysis reveals new diversity of *Dunaliella salina* from hypersaline environments // Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 2021, vol. 101 (1), pp. 27-37.

3. Asada K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons // Annual review of plant biology, 1999, vol. 50, no. 1, pp. 601-639.

4. Артюхов В.Г., Наквасина М.А. Биологические мембраны: структурная организация, функции, модификация физико-химическими агентами. Воронеж, 2000, 296 с.

О ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА ГАЗОРАЗРЯДНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

On the Possibility of Using the Gas-discharge Visualization Method to Assess the Structural Organization of Aqueous Solutions of Drugs

Шипко М.Н.¹, Сибирев А.Л.², Масленникова О.М.³, Степович М.А.⁴

¹ Ивановский государственный энергетический университет им. В.И. Ленина, г. Иваново, РФ, michael-1946@mail.ru

² Ивановский государственный химико-технологический университет, г. Иваново, РФ, alsibirev@mail.ru

³ Центральная государственная медицинская академия Управления делами Президента Российской Федерации, г. Москва, РФ, o.m.maslennikova@gmail.com

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

Изучены возможности использования метода газоразрядной визуализации (ГРВ, [1]) для оценки структурной организации водных растворов лекарственных средств [2-5]. Картины углового распределения электронов, прошедших через исследованные жидкие среды и вышедших в воздух, изучались по вызванному ими в воздухе и регистрируемому в ГРВ камере скользящему газовому разряду. ГРВ-изображения представляли собой совокупность максимумов, соответствующих направлениям (каналам) облегченного движения электронов. Для интерпретации данных об угловом и энергетическом распределении киловольтных электронов, прошедших через такие среды и обеспечивающих визуализацию структурной организации растворов, использованы данные по каналированию электронов через жидкости с различным типом упорядочения мицеллярных ассоциатов.

Результаты исследования 1) использованы для оценки биологического эффекта, обеспечивающегося агонистами и антагонистами калиевых и кальциевых каналов эритроцитов а также на изменение ближнего порядка в упорядочивающихся растворах; 2) свидетельствуют о сохранении в растворах таблетированных образцов с антителами к интерферону водных ассоциатов, сформированных в процессе разведения лекарственных средств.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда и Правительства Калужской области № 23-21-10069, <https://rscf.ru/project/23-21-10069/>.

1. Коротков К.Г., Орлов Д.В., Величко Е.Н. // Известия высших учебных заведений. Приборостроение, 2011, т. 54, № 12, с. 40.

2. Шипко М.Н., Усольцева Н.В., Сибирев А.Л. и др. // Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования, 2019, № 8, с. 102.

3. Масленникова О.М., Шипко М.Н., Сибирев А.А. и др. // Кремлевская медицина. Клинический вестник, 2021, № 4, с. 91.

4. Shipko M.N., Sibirev A.L., Maslennikova O.M. et al. // Journal of Physics: Conference Series, 2021, vol. 1942, art. no. 012032, doi: 10.1088/1742-6596/1942/1/012032.

5. Масленникова О.М., Сибирев А.Л., Шипко М.Н., Степович М.А. // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2023, т. 8, № 1, с. 84, doi: 10.29039/rusjbpс.2023.0593.

ФОРМИРОВАНИЕ ПОСЛЕДСТВИЙ ВОЗДЕЙСТВИЯ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ЛИПОСОМЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ И СОСТАВА ЛИПИДОВ ЛЕЦИТИНА

Formation of Consequences of the X-ray Action on Liposomes depending on the Physicochemical Properties and Composition of the Lecithin Lipids

Шишкина Л.Н.¹, Белецкая П.Д.¹, Машукова А.В.¹, Фенин А.А.²

¹ Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва, РФ, shishkina@sky.chph.ras.ru

² Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, г. Москва, РФ

Рентгеновское излучение широко используется в медицинской практике, однако изучение механизма формирования последствий его воздействия на биологические объекты, несмотря на достаточно обширную литературу в этой области, в зависимости от тяжести лучевого поражения требует проведения дальнейших исследований. До сих пор является дискуссионным и вопрос о влиянии мощности дозы излучения на формирование радиационно-индуцированных эффектов в биологических системах. Высокая чувствительность параметров физико-химической системы регуляции перекисного окисления липидов (ПОЛ) и обратная зависимость интенсивности ПОЛ от дозы облучения и ее мощности, установленная в лабораторных экспериментах и на природных популяциях грызунов, позволяет рассматривать параметры данной системы

регуляции в качестве перспективных тестов для исследования механизма воздействия излучений. При этом, однотипность функционирования системы регуляции ПОЛ на разных уровнях организации биологических объектов [1] обуславливает возможность использования различных биологических систем.

Цель работы – проанализировать влияние исходного состояния параметров системы регуляции перекисного окисления липидов липосом, сформированных из соевого лецитина, на формирование последствий воздействия рентгеновского излучения в зависимости от дозы излучения и ее мощности.

Дисперсию четырех партий лецитина ($4,3 \times 10^{-5}$ М) готовили в дистиллированной воде. Как и у любых природных объектов, состав и свойства разных партий лецитина чрезвычайно лабильны, поэтому анализ количественного соотношения фракций фосфолипидов (ФЛ) и обобщенные показатели состава липидов лецитина осуществляли методами ТСХ и УФ-спектрометрии. Так, доля ФЛ в составе общих липидов лецитина варьировала от 40,3% до 93,0%, что существенно влияет на интенсивность ПОЛ, поскольку ФЛ являются основными субстратами окисления в биологических системах. Содержание пероксидов в липидах определяли методом йодометрии, определяя концентрацию выделившегося йода спектрофотометрически при $\lambda=350$ нм. Содержание диеновых конъюгатов (ДК) и кетодиенов (КД) в липидах липосом рассчитывали из отношений оптической плотности (D) максимумов полос поглощения в областях 228-234 нм и 268-275 нм соответственно к величине D максимума основной полосы поглощения липидов в области 195-200 нм. Длины волн максимумов и их оптическую плотность определяли, используя математическую обработку УФ-спектров дисперсий лецитина в водной среде по методу Гаусса.

Фракционное рентгеновское облучение проводили с помощью рентгеновской трубки БХВ6 с вольфрамовым катодом (сила тока 5 мА, напряжение 40 кВ) в диапазоне доз 1–5 Гр при мощности дозы 0,001 Гр/с и в диапазоне доз 1–90 Гр при мощностях дозы 0,03, 0,3 и 3 Гр/с.

Установлено, что линейное увеличение концентрации пероксидов в липосомах лецитина с ростом дозы облучения от 30 до 90 Гр существенно зависит от доли ФЛ в составе общих липидов лецитина и способности его липидов к окислению, а также мощности дозы излучения (рис. 1).

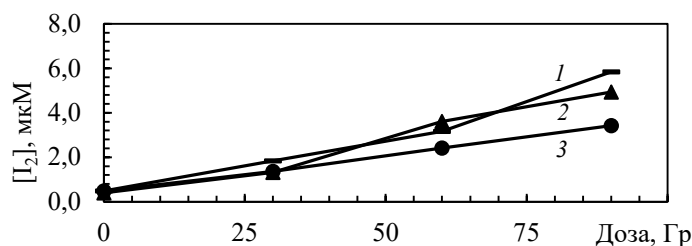


Рисунок 1. Зависимость концентрации йода от дозы излучения лецитина при мощности дозы: 1 – 0,3 Гр/с, %ФЛ=40,3; 2 – 3 Гр/с, %ФЛ=40,3%; 3 – 0,3 Гр/с, %ФЛ= 73,6%.

Однако выявлено, что сдвиги длины волн и изменения оптических плотностей максимумов полос поглощения лецитина, характеризующие общее содержание липидов, ДК и КД в их составе, не имеют линейной зависимости от дозы облучения. Это соответствует ранее полученным результатам о неодинаковой чувствительности разных параметров системы регуляции ПОЛ к действию рентгеновского излучения в зависимости от его дозы и мощности дозы.

1. Shishkina L.N., Klimovich M.A., Kozlov M.V. Functioning similarity of the physicochemical regulatory system parameters of the lipid peroxidation on the membrane and organ levels. In: Pharmaceutical and Medical Biotechnology: New Perspectives. N.Y.: Nova Science Publishers Ltd., 2013, pp. 151-157.

ВЛИЯНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ДЕЙТЕРИЯ В ОРГАНИЗМЕ НА ФОРМИРОВАНИЕ ИОНОБМЕННЫХ КАНАЛОВ, ТРАНСПОРТИРУЮЩИХ ЙОДИДЫ

Changes in Production of Ion-exchanging Proteins with Increased Deuterium Body Content

Яглова Н.В., Обернихин С.С., Тимохина Е.П., Назимова С.В., Яглов В.В.

НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», г. Москва, РФ; e-mail: yaglova@mail.ru

Йод относится к жизненно важным микроэлементам, содержание которого в организме является мощным регуляторным фактором в первую очередь морфогенетических процессов [1]. Йод поступает в организм в молекулярном виде, в виде неорганических солей и в составе органических соединений. Основным депо йода в организме является щитовидная железа, функционирование которой имеет непосредственную связь с обменом йода в организме. Поступление йода в клетки опосредуется мембранным белком натрий-йодным симпортером (НИС), который осуществляет совместный транспорт в клетку натрия и йода против электрохимического

градиента [2]. Для включения в молекулу тироглобулина в полости фолликулов йодида должны проникнуть через апикальную мембрану фолликулярных тироцитов. Этот процесс осуществляет натрий-независимый йодид/хлоридный транспортер пендрин [3]. Экспрессия этих двух белков чрезвычайно важна для гормоногенеза в щитовидной железе, однако механизмы ее регуляции остаются малоизвестными. По нашим данным, щитовидная железа проявляет высокую чувствительность к изменению в балансе стабильных изотопов водорода протия и дейтерия в организме. Содержание последнего в организме достаточно велико и влияет не только на скорость метаболических процессов, но и регулирует деление клеток. Целью настоящего исследования было выявление изменений в содержании НИС и пендрина в системном кровотоке и связи этих изменений с параметрами продукции тиреоидных гормонов при длительном увеличении содержания дейтерия в организме.

Эксперимент выполнен на 60 половозрелых самцах крыс Вистар массой тела 340-370 г. Крысы содержались в стандартных условиях вивария и получали сухой корм для лабораторных грызунов. Животные контрольной группы (n=30) потребляли водопроводную питьевую воду с содержанием дейтерия 146 ppm. Для повышения содержания дейтерия крысам опытной группы (n=30) водопроводная вода была заменена на воду с увеличенным до 500000 ppm содержанием дейтерия (ФГБУ «ПНЦ им. Б.П. Константинова» НИЦ «Курчатовский институт»). Исследование проводили на 1-е, 3-и, 7-е, 14-е и 21-е сутки.

Через сутки после начала эксперимента в группе крыс, потреблявших воду с повышенным содержанием дейтерия выявлено статистически значимое повышение концентрации НИС в среднем на 30%, а пендрина – более, чем на 200%. В продукции тиреоидных гормонов также были выявлены изменения в виде повышения концентрации Т4 и снижения уровня ТТГ по принципу обратной связи. Через трое суток отмечали прогрессивное увеличение содержания ионнообменных белков. Концентрация НИС в сыворотке крови превышала значения контрольной группы в 1,5 раза, пендрина – в 4 раза. Наряду с этими изменениями были выявлены повышенный уровень как Т4, так и Т3 в сыворотке крови и пониженное содержание ТТГ. Через неделю после начала эксперимента регистрировали повышенную в среднем на 40% концентрацию НИС и не отличающуюся от значений контроля концентрацию пендрина в сыворотке крови. В тиреоидном статусе отмечены изменения, связанные со снижением уровня Т3 при нормальном содержании Т4 в системном кровотоке и значительно пониженный ТТГ. Через 14 суток в экспериментальной группе концентрации НИС превышали значения контрольной группы на четверть, а пендрина – статистически значимо не отличались от значений контрольной группы. В тиреоидном статусе отмечено пониженное содержание Т4, Т3 и ТТГ. Через 21 сутки выявлено значительное увеличение концентрации НИС, в среднем на 70% по сравнению с контролем, и отсутствие каких-либо значимых отличий в уровне пендрина. Концентрации Т4 и Т3 повысились до уровня контрольной группы, а ТТГ значительно снизился.

Увеличение содержания дейтерия в организме влияет на продукцию как натрий-йодного симпортера, так и пендрина. Накопление дейтерия в организме стимулирует продукцию обоих ионообменных белков, но наибольший по продолжительности стимулирующий эффект оказывает на натрий-йодный симпортер. Увеличение продукции пендрина происходит только на ранних этапах дейтерирования параллельно с увеличением секреции тироксина щитовидной железой. При этом, уровень натрий-йодного симпортера не демонстрирует связи с продукцией тиреоидных гормонов. Полученные данные показывают, что содержание дейтерия в организме может рассматриваться как потенциальный модулятор транспорта йодидов в клетки.

Исследование выполнено по госзаданию FGFZ-2022-0035.

1. Aceves C., Mendieta I., Anguiano B., Delgado-González E. Molecular iodine has Extrathyroidal effects as an antioxidant, differentiator, and Immunomodulator // *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, vol. 22, 1228, doi: 10.3390/ijms22031228.
2. Portulano C., Paroder-Belenitsky M., Carrasco N. The Na⁺/I⁻ Symporter (NIS): Mechanism and Medical Impact // *Endocr Rev.*, 2014, vol. 35, pp. 106-149, doi: 10.1210/er.2012-1036.
3. Twyffels L., Massart C., Golstein P.E. et al. Pendrin: the thyrocyte apical membrane iodide transporter? // *Cell Physiol Biochem.*, 2011, vol. 28, no. 3, pp. 491-496, doi: 10.1159/000335110.

СЕКЦИЯ 4. БИОФИЗИЧЕСКАЯ ЭКОЛОГИЯ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ

ИЗМЕНЕНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ЭКОСИСТЕМАХ ИСКУССТВЕННЫХ ОЗЕР ПУСТЫННОЙ ДЕПРЕССИИ ВАДИ-ЭЛЬ-РАЙАН (ЕГИПЕТ) В ПЕРИОД С 1984 ПО 2022 г.

Changes in Abiotic Parameters in Artificial Lake Ecosystems of the Desert Depression of Wadi el-Rayan (Egypt) from 1984 to 2022

Ануфриева Е.В.¹, Гохер М.Е.², Григорьев М.Н.^{1,3}, Шадрин Н.В.¹

¹ ФИЦ «Институт биологии южных морей РАН им. А.О. Ковалевского», г. Севастополь, РФ

² Национальный институт океанографии и рыболовства, г. Каир, Египет

³ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, *misha79788961008@gmail.com*

Количество искусственных водоемов на планете, в аридных зонах, таких, например, как Крым их роль в жизни людей постоянно увеличивается, в частности, для развития различных форм аквакультуры. Вначале водоемы создаются как пресноводные, но в аридном климате практически сразу начинается в них рост солености и вызванные этим изменения других параметров среды. Подобное отмечается во многих работах, однако количественные закономерности этих изменений изучены очень слабо. Знание этих закономерностей необходимо для долговременного устойчивого использования этих водоемов, в том числе для продуцирования биологических ресурсов. Чтобы в какой-то степени восполнить этот пробел, авторы проанализировали ход изменений 6 абиотических параметров за более чем тридцатилетний период в двух озерах в пустынном регионе Египта, которые были получены египетским коллегами. При анализе рядов данных использованы методы статистического анализа. Модельными озерами были два связанных между собой искусственных озера. Озёра располагаются в Фаюмской пустынной впадине Wadi El-Rayan (1759 km², 29°170N, 30°230E), 42-60 м ниже уровня моря, они созданы для сброса дренажных вод с орошаемых полей [1].

Вследствие аридности климата солёность экспоненциально увеличивалась в обоих озёрах, в первом (проточном) медленнее ($R = 0,849$, $p = 0,0001$):

$$S_1 = 1,3442e^{0,0089t},$$

во втором озере быстрее ($R = 0,988$, $p = 0,0001$):

$$S_2 = 2,2585e^{0,0697t},$$

где S_1 и S_2 – солёность в первом и втором озёрах в момент времени t , год со дня создания озера.

Прозрачность в первом озере медленно росла, почти линейно, во втором такой закономерности не найдено. Содержание растворённого кислорода в обоих озёрах падало примерно с одинаковой скоростью. Однозначных закономерностей в изменении других факторов не установлено.

Между изменчивостью различных параметров существуют сложные взаимосвязи, которые по-разному реализовывались в двух озерах. Сравнение изменений солености и других параметров показало, что географическое положение, т.е. приход солнечной радиации, не могут рассматриваться как единственный детерминант этих изменений. Каждое озеро в определенной степени уникально в тенденциях временной изменчивости, эта индивидуальность должна учитываться при их моделировании и прогнозировании дальнейших изменений.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-66-00001.

1. Anufrieva E.V., Goher M.E., Hussian A.M. et al. Ecosystems of artificial saline lakes. A case of Lake Magic in Wadi El-Rayan depression (Egypt) // *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 2020, no. 421, article no. 31, (13 p.), doi: org/10.1051/kmae/2020024.

ВОЗДЕЙСТВИЕ ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ НА ЭКТОПИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ СЕРДЦА ЧЕЛОВЕКА

Impact of Environmental Factors on Ectopic Activity of the Human Heart

Бер К.И., Бородин А.С., Тужилкин Д.А.

Томский государственный университет, г. Томск, РФ, *tda@mail.tsu.ru*

Исследованию влияния условий окружающей среды на человека на индивидуальном и популяционном уровне посвящено множество научно-исследовательских работ. При этом наиболее изученным фактором является набор метеорологических состояний, а термин «метеочувствительность» в наши дни является весьма

известным и широко употребляемым в повседневной жизни. Фактор «космической погоды» рассматривается в качестве одного из основных естественных физических факторов еще с 20-х годов прошлого века. При этом практически не существует работ, исследующих комплексный набор состояний естественных физических полей среды обитания различной (в том числе электромагнитной) природы на человека, ввиду сложности учета одновременно большого числа факторов, а также по причине отсутствия технической возможности проведения синхронных мониторинговых исследований с участием человека. Кроме того, исследования именно эктопической активности сердца человека в качестве индикатора влияния на организм условий внешней среды эпизодичны, и представлены в основном в исследованиях по влиянию на человека космических полетов и условий невесомости [1].

Эктопическая активность сердца, или экстрасистолия, представляет собой внеочередное преждевременное сердечное сокращение, либо деполяризация и сокращение сердца или отдельных его камер. Является наиболее часто регистрируемым видом аритмий – экстрасистолы можно обнаружить у 60-70% людей. В основном они носят функциональный характер, обусловлены в первую очередь внутренними причинами, а также их появление связывают со стрессом, употреблением алкоголя, курением и т.д.

В работе анализировались суточные записи электрокардиограммы волонтера мужского пола без диагностированных отклонений в состоянии здоровья (всего 68 записей). Для данного волонтера характерным являлось среднесуточное количество желудочковых экстрасистол 152, наджелудочковых 34, что соответствует физиологической норме. В качестве действующих факторов внешней среды рассматривались такие метеофакторы, как температура (Т), давление на уровне станции (Р₀), влажность (U), а также числа Вольфа (рис. 1), Кр- и Ар-индексы в качестве факторов «космической погоды».

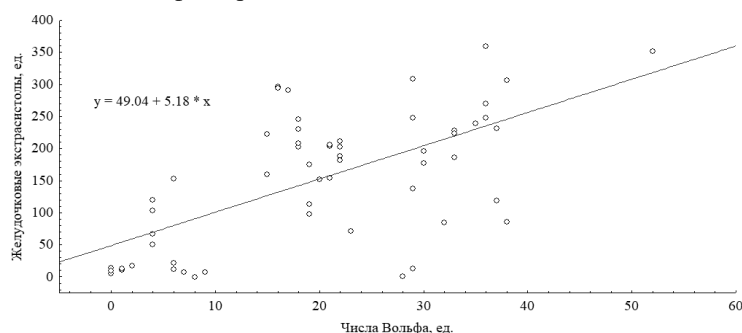


Рисунок 1. Регрессионная оценка количества случаев желудочковых экстрасистол числами Вольфа

Коэффициенты корреляции (табл. 1) подтверждают хорошую сопряженность количества эпизодов желудочковых экстрасистол с интегральной солнечной активностью, что выражается в высоком положительном значении линейной корреляции Пирсона. Сопряженность с температурой окружающего воздуха можно воспринимать как проявление сезонности в динамике числа экстрасистол. Геомагнитная возмущенность также демонстрирует хорошую корреляцию с желудочковыми экстрасистолами, до 10% их вариаций могут быть обусловлены ее изменчивостью.

Таблица 1. Коэффициенты корреляции параметров сердечно-сосудистой деятельности и факторов окружающей среды, достоверные ($p < 0.05$) коэффициенты выделены жирным шрифтом

	Числа Вольфа	Кр-индекс	Температура	Давление	Влажность	Ар-индекс
Надж.экс.	0.08	-0.11	-0.06	0.09	-0.09	0.00
Жел.экс.	0.53	0.24	-0.27	0.18	0.13	0.31

Таким образом, естественные физические факторы внешней среды способны оказывать значительное влияние на эктопическую активность сердца.

1. Khine H.W., Steding-Ehrenborg K., Hastings J.L. et al. Effects of prolonged spaceflight on atrial size, atrial electrophysiology, and risk of atrial fibrillation // *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2018, vol. 11, e005959.

ИННОВАЦИОННЫЕ МЕТОДЫ ПЕРЕРАБОТКИ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ЛЬНА В ЦЕЛЛЮЛОЗУ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЕМЫ ЕГО ПРЕДПОСЕВНОЙ СТИМУЛИРУЮЩЕЙ ОБРАБОТКИ

Innovative Methods for Processing Domestic Flax into Cellulose and Biotechnological Methods for its Pre-Sowing Stimulating Treatment

Будник М.И.¹, Апашева Л.М.², Барнашова Е.К.³, Ведутенко В.В.², Вертикова Е.А.³, Грудзинский А.В.¹, Касаикина О.Т.², Круговов Д.А.², Овчаренко Е.Н.², Пролетова Н.В.⁴, Ростовцев Р.А.⁴, Савранский В.В.⁵, Симагин А.³, Смурова Л.А.², Тараскин К.А.⁶, Ущановский И.В.⁴

¹ Российская академия ракетных и артиллерийских наук, г. Москва, РФ, ziraf@mail.ru

² ФИЦ химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН, г. Москва, РФ

³ Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, г. Москва, РФ

⁴ Федеральный научный центр лубяных культур, г. Тверь, РФ

⁵ ФИЦ «Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН», г. Москва, РФ

⁶ НИИ прикладной акустики, г. Дубна, РФ

Россия на протяжении многих столетий является основным мировым производителем льна – ценной технической и масличной культуры. Волокно и целлюлоза, получаемые из отечественного льна по экологически безопасным технологиям, могут частично стать заменой продуктам из хлопка, что позволит обеспечить импортозамещение сырья в большой и специальной химии [1].

В данной работе испытана новая технология предпосевной обработки семян льна, направленная на стимулирование всхожести, роста, развития и повышения стрессовой устойчивости растений. Установлено, что обработка семян лазерным импульсным облучением, которое осуществляется лазером на парах меди при генерации двух длин волн, соответствующих зеленому (510,6 нм) и желтому (578,2 нм) свету, ускоряет прорастание семян и повышает выживание растений в стрессовых условиях с минимальным увлажнением в культуральных сосудах. Эта технология хорошо сочетается с новым научно-методическим подходом к экологической обработке семян, повышающей всхожесть и предотвращающей слипание посевного материала, характерное для льна [2].

Проведено сопоставление двух способов извлечения целлюлозы из льна:

а) экологическая модификация традиционного способа варки исходного растительного сырья с использованием растворов гидроксида и бисульфита натрия (при атмосферном давлении и температуре ниже 100°C) с последующим отбеливанием раствором пероксида водорода [3];

б) практически безотходный природоподобный окислительно-каталитический способ освобождения целлюлозы от лигнина, гемицеллюлозы и других органических сопутствующих компонентов с использованием гетерогенного катализатора на основе оксидов железа (3), получаемых путем гидролиза соли Fe(III) в воде, и пероксида водорода.

Качество выделяемой целлюлозы зависит от соотношения концентраций реагентов (биомасса, катализатор, пероксид водорода) и времени проведения обработки; жидкая фракция продуктов окислительного крекинга растительного сырья представляет собой водный раствор низкомолекулярных продуктов окисления лигнина, гемицеллюлозы, липопротеидов и сахаров, может быть использована в качестве удобрения для стимуляции роста и развития растений.

1. *Лён в пороховой промышленности*. 3-е изд., доп. и перераб. Под ред. И.Н. Торгуна. М.: ФГУП «ЦНИИХМ», 2021, 392 с.

2. Будник М.И., Сергеев С.Н., Тараскин К.А. и др. Новый научно-методический подход к экологической обработке семян льна, повышающей всхожесть и предотвращающей слипание посевного материала // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2023, т. 8, № 3, с. 347-352.

3. Сергеев С.Н., Тараскин К.А., Орлов Д.С. и др. Выбор экологически безопасного метода получения целлюлозы из биомассы льна (*linum usitatissimum linaceae*), выращенного в различных регионах Поволжья // Вестник российской сельскохозяйственной науки, 2024, № 5 (сентябрь-октябрь), принята к публикации.

**ВЛИЯНИЕ АТМОСФЕРНЫХ ОСАДКОВ, ВОЛНОВОГО ПЕРЕМЕШИВАНИЯ,
ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ УСЛОВИЙ НА ЧИСЛЕННОСТЬ
АНАЭРОБНЫХ БАКТЕРИЙ В ПРИБРЕЖНЫХ НАНОСАХ АКВАТОРИИ СЕВАСТОПОЛЯ
(ЧЁРНОЕ МОРЕ)**

The Effect of Atmospheric Precipitation, Wave Mixing, Redox Conditions on the Number of Anaerobic Bacteria in Coastal Sediments of the Sevastopol Water Area (Black SEA)

Бурдиян Н.В.

ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ,
burdiyan@mail.ru

Контактная зона «суша – море» с глубинами 1,5–2 м в сторону моря и до района заплеска волн в сторону берега представляет значительный интерес в санитарно-биологическом плане [1]. Эта зона особенно уязвима при аварийных ситуациях, когда в море сбрасываются тысячи кубических метров сточных вод или происходят разливы нефти и нефтепродуктов. Изучение прибрежных наносов существенно дополняет характеристику экологического состояния контактной зоны «суша – море». Подвижность прибрежных наносов в результате волнового воздействия создаёт смену аэробных и анаэробных условий, а поскольку значительная доля в процессе анаэробной деструкции принадлежит сульфатредуцирующим, тионовым и денитрифицирующим бактериям, то в этой связи получение более подробной характеристики физических параметров, влияющих на количественный состав данных групп бактерий, обитающих на линии уреза воды в прибрежных наносах, представляет интерес, позволяя в определенной степени судить об энергии микробиологических процессов в данной экосистеме и подойти, в дальнейшем, к оценке её самоочищения.

Целью работы было оценить влияние температуры морской воды и воздуха, атмосферных осадков, волнового перемешивания, окислительно-восстановительных условий на численность анаэробных бактерий в прибрежных наносах акватории Севастополя.

Наблюдения проводили на станциях, расположенных в бухтах Севастопольская и Круглая и на участке открытого побережья – пляже Учкеевка. Пробы отбирали ежемесячно, в течение полутора лет, в утренние часы в один день, что предполагало равнозначное воздействие на рост микроорганизмов таких факторов, как температура воздуха, морской воды, осадков. Различное положение станций относительно направления ветра определяло разницу в интенсивности волнового перемешивания прибрежных наносов на каждой станции. В момент отбора проб проводили измерение температуры воздуха и морской воды (ртутным термометром), окислительно-восстановительного потенциала (ионометром И-102, в трех повторностях), учитывали атмосферные осадки, волновое перемешивание. Количество микроорганизмов в пробе определяли методом предельных разведений с последующим посевом 1 мл из каждого разведения в селективные среды [2]. Наиболее вероятное число микроорганизмов в единице объёма рассчитывали по таблице Мак-Креди, основанной на методе вариационной статистики [2].

За период наблюдений диапазон температуры составлял: воды от +8⁰ до +26⁰ С, воздуха от -1⁰ до +30⁰ С. Формирование как сравнительно высокой, так и низкой численности исследуемых групп бактерий происходило при широком диапазоне полученных температурных значений. Максимумы численности также выделялись при различном температурном диапазоне и не были приурочены к тёплым месяцам. Таким образом, прямой зависимости между численностью бактерий и температурой воды и воздуха повсеместно не наблюдалось и для указанных групп бактерий данный фактор не является основным, ограничивающим их рост.

Выяснено, что в прибрежных наносах сульфатредуцирующие, тионовые и денитрифицирующие бактерии развиваются при окислительных условиях среды: от +30 до +480 (мВ). Волновое перемешивание, атмосферные осадки, температура воздуха и морской воды оказывают определённое влияние на численность указанных бактерий, однако более существенным фактором для последних являются наличие органических соединений и процессов, приводящих к созданию анаэробных условий.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ: 1023032000047-8-1.6.19, «Изучение биогеохимических закономерностей радиоэкологических и хемозоологических процессов в экосистемах водоемов Азово-Черноморского бассейна в сравнении с другими акваториями Мирового океана и отдельными водными экосистемами их водосборных бассейнов для обеспечения устойчивого развития на южных морях России»

1. Практикум по микробиологии / Под ред. А.И. Нетрусова. М.: Изд. центр «Академия», 2005, 608 с.
2. Миронов О.Г. Санитарно-биологические аспекты экологии севастопольских бухт в XX веке / О.Г. Миронов, Л.Н. Кирюхина, С.В. Алёмов. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2003, 185 с.

КОМПЛЕКСНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕРАКЛЕЙСКОГО ПОЛУОСТРОВА: ОТ
МЕТЕОРОЛОГИЧЕСКИХ ДАННЫХ ДО ВЛИЯНИЯ КАТАСТРОФ
A comprehensive study of the Heracleean Peninsula: from meteorological data to the impact of catastrophes

Гладыш М.А.¹, Курченко В.М.¹, Подкидышева Ю.К.², Кузнецов А.В.^{1,2,3}

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

² Центр дополнительного образования «Малая академия наук», г. Севастополь, РФ

³ Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ

Исследование морского микропланктона в районе г. Севастополь выявило увеличение биоразнообразия от станции Альбатрос к станции Форос, что связано с изменением ландшафта. Анализ данных показал, что содержание хлорофилла в воде увеличивается зимой и снижается летом, вероятно, из-за апвеллинга. Ветер со скоростью 22 м/с привёл 27 ноября 2023 года к волнам высотой 6,5 м, вызвав повреждения береговой линии, пирсов и пляжной инфраструктуры. В то время как песчаные пляжи пострадали незначительно, галечные оказались загрязнены пластиковыми отходами. Количество осадков в районе Тороповой дачи и Кадыковского карьера достигало 2,5 мм/ч, что привело к повышению уровня воды в пруду и карьере. На Большой Севастопольской тропе поток воды повредил пешеходный мостик. Полученные результаты демонстрируют влияние катастрофических событий на окружающую среду, подчёркивая необходимость принятия мер по защите инфраструктуры и экологической стабильности региона.

Полуостров Крым, расположенный на стыке тектонических плит, подвержен различным природным катастрофам, в том числе землетрясениям, штормам и ураганам. Так, в 1927 г. было отмечено сильнейшее землетрясение в Крыму за последние 100 лет. Его магнитуда составила 6,7 балла по шкале Рихтера. Эпицентр находился в районе г. Ялты. Землетрясение вызвало значительные разрушения, особенно на Южном берегу Крыма. Сильное землетрясение зафиксировано 22 июня 2023 г. Магнитуда составила 4,6, эпицентр располагался в 59 километрах от Севастополя и в 51 километре от Балаклавы на глубине 10 километров. Штормы и ураганы бывают частыми в Крыму, особенно в осенне-зимний период. Например, в 1969 г. мощный шторм, вызвал сильные волны, которые разрушили набережные, порты и жилые дома. В 2007 г. сильный шторм затопил часть побережья Крыма. В 2012 г. ураган, обрушившийся на Крым, принёс сильный ветер и ливни.

Данная работа посвящена комплексному исследованию Гераклейского полуострова, включая сбор метеорологических и экологических данных, оценку влияния катастрофических событий, таких как ураганы, на окружающую среду и инфраструктуру. В качестве объекта исследования была выбрана территория г. Севастополь, его окрестности и прилегающие акватории. Целью было собрать метеорологические и экологические данные, провести первичную обработку и оценить влияние катастроф на территорию.

Материалы и методы. Использовали 2 морские станции, соответствующие отдельным подмножествам спутниковых данных Sentinel-2, в Учкюевке (44.637 N, 33.520 E) и в Форосе (44.389 N, 33.778 E), а также 2 пресноводные станции на Тороповой даче (44.511 N, 33.680 E) и в Кадыковском карьере (44.516 N, 33.568 E). Наблюдения проводили с конца лета 2023 до середины весны 2024 гг. Исследовали загрязнение пляжей пластиковыми отходами. Оценили ущерб после урагана 27.11.23 и ливня 19.01.24. Использовали наукометрическую базу данных Copernicus Marine Service для станций Альбатрос и Форос, данные сервиса ArhivPogodi.ru для станций Торопов пруд и Кадыковское водохранилище, а также наблюдения на месте. Прибрежный микропланктон из поверхностного слоя воды изучали комбинированно. Собранный биологический материал с фильтров различной пористости, фиксировали 2,5% глутаровым альдегидом. Образцы исследовали с помощью световой и сканирующей электронной микроскопии как описано ранее [1,2]. Результаты измерений заносили в электронные таблицы для дальнейшего анализа и систематизации.

Результаты и обсуждение. Идентифицированы различные виды диатомей и динофлагеллят в сообществах морского микропланктона: *Amphora arcus*, *Ceratium furca*, *Coscinodiscus gigas*, *Cocconeis placentula*, *Cocconeis scutellum*, *Licmofora gracilis*, *Proteperidium steinii*, *Thalassionema costatum*. Построена пирамида разнообразия морфотипов для одной станции. Обнаружено, что биоразнообразие увеличивается от станции Альбатрос к станции Форос, что обусловлено изменением ландшафта. Представлены сводные таблицы наблюдений для 4 станций за год, включая спутниковые данные, информацию с автоматических метеорологических станций из интернета и собственные измерения. Отмечено увеличение содержания хлорофилла зимой и снижение летом, что вероятно связано с апвеллингом. Записана динамика высоты волн и скорости ветра до и после разрушительного шторма 2023 г. Высота волн в разгар шторма 27 ноября была 6,5 м, скорость ветра составляла 22 м/с. Документально подтверждён ущерб береговой линии, пирсам и пляжной инфраструктуре. Интересно отметить, что песчаные части пляжей заметно не пострадали, в то время как галечные части пляжей были существенно загрязнены пластиковыми отходами. В отдельных местах с 1 м² пляжа собирали 1 ведро пластикового мусора. Таким образом, пляжи оказались не пригодны для отдыха, пока не будут проведены ремонтные работы и их очистка.

Количество осадков в районе Тороповой дачи и Кадыковского карьера 27.11.23 и 19.01.24 составило до 2,5 мм/ч. Высокий уровень воды в пруду на Тороповой даче едва не разрушил плотину. В Кадыковском карьере вода поднялась на 2 м. На Большой Севастопольской тропе возле Балаклавы, поток воды сбросил на пешеходный мостик 3 валуна, что привело к его повреждению. Обнаружено, что в Кадыковском карьере преобладает

динофитовая водоросль *Ceratium hirundinella*. Полученные результаты переданы в Центр развития туризма города Севастополь и в Аэрокосмический центр имени Антона Шкаплерова. Накопленные данные могут иметь практическое применение для развития туризма в регионе.

Благодарности: Рябушко Л.И. за неоценимую помощь в видовой идентификации микроводорослей, Рождественской И.А., Богданович В.А. и Хавронюку И.С. за содействие.

1. Гладыш М.А., Хавронюк И.С., Таран Н.А. и др. Сравнение микропланктона возле базы Мокроусова и в Форосе (Крым): объединение данных из разных источников // Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2023: материалы XVIII Междунар. науч. конф., г. Севастополь, 11-15 сентября 2023 г. Севастополь, 2023, с. 118-119.

2. Гунькова А.К., Тихонов С.Ю., Курченко В.М. и др. От баз данных к экспериментам на модели Кадыковского карьера // Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2023: материалы XVIII Междунар. науч. конф., г. Севастополь, 11-15 сентября 2023 г. Севастополь, 2023, с. 119-120.

БИОТИЧЕСКИЙ ПИРИТО-ТОПЛИВНЫЙ КОТЕЛ САМОНАГРЕВАЮЩЕГОСЯ УГЛЕПОРОДНОГО ОТВАЛА ДОНБАССА Biotic Pyrite-Fuel Boiler of Coal Rock Dump of Donbass

Гузев О.А., Понамарева Е.А.

Институт физики горных процессов, г. Донецк, РФ, oleg.coin@mail.ru

В Донбассе сформировано свыше тысячи углепородных отвалов, из которых более трехсот являются самонагревающимися. Возникновение процесса самонагревания складированных отходов угледобычи обусловлено рядом внешних и внутренних факторов. В частности, к внешним факторам самонагревания относят размещение отвала в геодинамической зоне, а к внутренним факторам – генетическую структуру отвала, жизнедеятельность тионовых бактерий и окислительные реакции [1].

Для снижения негативного воздействия самонагревающихся углепородных отвалов на окружающую среду и повышения эффективности освоения угольных месторождений Донбасса целесообразно разработать технологию извлечения тепловой энергии из самонагревающихся отходов угледобычи, включающую выбор углепородных отвалов, склонных к длительной генерации тепла. Для установления поисковых критериев и признаков пригодного к извлечению теплоты углепородного отвала необходимо сформировать представления о благоприятной геолого-экологической обстановке, при которой данное техногенное образование может использоваться в качестве генератора теплоты.

В основу таких представлений предлагается положить концепцию природно-техногенной самоорганизации биотического пирито-топливного котла углепородного отвала. Суть концепции заключается в том, что возникновение очага самонагревания (сборка биотического котла) в трещиновато-пористом массиве складированных отходов угледобычи детерминировано контаминацией такого массива тионовыми бактериями и наличием в структуре отвала минералов пирита, выступающих субстратом для таких микроорганизмов. При этом длительность и интенсивность функционирования возникшего очага самонагревания (длительность функционирования и тепловая мощность биотического котла) определяются плотностью популяции тионовых бактерий, содержаниями в отвале минералов пирита, углистых пород и угольных включений, а также поступлениями в отвальный массив воздуха и паров воды из геодинамической зоны.

Самонагревающийся углепородный отвал может находиться в различных тепловых состояниях. Такой отвал может быть теплым, горячим, предельно-горячим, горящим и потухшим. Теплый отвал отличается сборкой, адаптацией (настройкой) и функционированием биотического пирито-топливного котла, а горячий отвал – адаптацией, функционированием и наращиванием тепловой мощности такого гибридного котла. Предельно-нагретый отвал характеризуется адаптацией, функционированием и значительным наращиванием тепловой мощности биотического пирито-топливного котла за счет расширения и интенсификации теплогенерирующего процесса окисления углистых пород и угля в условиях аэрации. Горящий отвал отличается «котельным пожаром», а потухший отвал – приостановкой или разрушением биотического пирито-топливного котла.

Учитывая сказанное, дадим характеристику самонагревающемуся углепородному отвалу, пригодному в качестве генератора теплоты, в свете предлагаемой концепции (табл. 1).

Таблица 1. Характеристика самонагревающегося углепородного отвала, пригодного для использования в качестве генератора теплоты, в свете концепции самоорганизации биотического пирито-топливного котла

Тепловое состояние углепородного отвала	Основные признаки процесса отвальной самоорганизации биотического пирито-топливного котла	Стадии жизненного цикла биотического пирито-топливного котла
теплый	контаминация отвала тионовыми бактериями, бактериальное выщелачивание пирита	сборка, адаптация и функционирование
горячий	бактериальное выщелачивание пирита, значительный рост плотности популяции тионовых бактерий в условиях аэрации	адаптация, функционирование и наращивание мощности
предельно-горячий	бактериальное выщелачивание пирита и окисление нагретых углистых пород и угля кислородом воздуха в условиях аэрации	адаптация, функционирование и значительное наращивание мощности

Таким образом, благоприятная геолого-экологическая обстановка для извлечения тепловой энергии из самонагреваемого углепородного отвала Донбасса возникает, в соответствии с предлагаемой концепцией, в условиях природно-техногенной самоорганизации отвального биотического пирито-топливного котла.

1. Гузев О.А., Корвякова Н.П. О классификации и обусловленности факторов самонагревания углепородного отвала Донбасса // Изв. вузов. Сев.-Кавк. регион. Естеств. науки, 2024, № 2, с. 84-91.

СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОЛИЧЕСТВА СЦИНТИЛЛОНОВ У ЧЕРНОМОРСКОЙ ДИНОФЛАГЕЛЛЯТЫ *NOCTILUCA SCINTILLANS* A Way of Scintillon Count in the Black Sea Dinoflagellates *Noctiluca Scintillans*

Дегтяр И.В., Дегтярёв М.В., Евстигнеев В.П., Кузнецов П.Н.

ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», г. Севастополь, РФ, ivdegyar@mail.sevsu.ru

У большинства организмов биологические процессы регулируются ежедневно, и максимальная активность приходится на одно время суток. Такие ритмы продолжают возникать и после того, как организм находится в постоянных условиях (например, свет и температура), но продолжительность цикла, как правило, не составляет ровно 24 часа. Это указывает на то, что ритмический механизм является эндогенным и называется циркадными часами. Циркадный ритм у динофлагеллят отличается от большинства других организмов тем, что ритмы регулируются на трансляционном уровне [1]. Наиболее ярким проявлением циркадного ритма динофлагеллят является биолюминесценция, и большая часть знаний о биолюминесценции динофлагеллят получено при детальном изучении вида *Lingulodinium polyedra* (ранее *Gonyaulax polyedra*) [2]. Источником светового излучения клеток динофлагеллят служат сцинтиллоны - органеллы, распределенные по периферической цитоплазме и содержащие люциферин (субстрат), люциферазу (фермент) и люциферин-связывающий белок (LBP). Как правило вспышки света вызываются механической стимуляцией клетки, что приводит к распространению потенциала действия через мембрану вакуоли, который, в свою очередь, активируют протонные каналы. Возникший поток протонов из вакуоли в сцинтиллон приводит к снижению pH и, как следствие, к диссоциации комплекса люциферин-LBP и активизации люциферазы [5]. Последующая реакция окисления люциферина сопровождается высвобождением энергии в виде видимого света. Реакция биолюминесценции регулируется путем *de novo* синтеза и деградации трех компонентов и самой органеллы [3]. Известно, что сцинтиллоны *Pyrocystis* перемещаются в центр клетки в течение дня и мигрируют к периферии клетки на следующий вечер [4].

Таким образом, одной из причин формирования циркадного ритма биолюминесценции динофлагеллят может являться периодическое изменение числа сцинтиллонов на периферии клетки. Для подтверждения данной гипотезы и параметризации этого процесса в рамках математической модели биолюминесцентной вспышки светящихся динофлагеллят требуется разработка способа оперативной оценки поверхностной плотности числа сцинтиллонов в клетке.

Для достижения данной цели объектом исследования в настоящей работе были определены клетки *Noctiluca scintillans*. В среднем в клетках *N. scintillans* насчитывается порядка 10^4 сцинтиллонов диаметром 0,5-1,5 мкм, расположенных в цитоплазматическом слое, толщина которого может достигать 0,11 мкм [5]. Отбор проб *N. scintillans* был выполнен в прибрежных водах Севастопольской бухты в июне 2024 года. Суть способа подсчета числа сцинтиллонов в клетках заключается в использовании лазерного сканирующего конфокального микроскопа и применения методов компьютерного зрения при последующей обработке массивов изображений.

Клетки *Noctiluca scintillans* собирали по отдельности с помощью пластиковой пипетки Пастера и помещали на предметное стекло. Визуализацию клеток проводили с помощью лазерного сканирующего конфокального микроскопа Leica TCS SP5 (Leica Microsystems, США). Были получены оптические срезы размером 4 мкм.

Автофлуоресценцию люциферина индуцировали УФ-лазером с длиной волны возбуждения 405 нм, регистрировали и визуализировали на длине волны 416–520 нм. На присутствие сцинтиллонов указывает синяя автофлуоресценция динофлагеллярного люциферина в ответ на возбуждение ультрафиолетовым светом [5]. Клетки биолюминесцентного штамма демонстрировали синие флуоресцентные источники по периферии клетки, что согласуется с присутствием люциферина в сцинтиллонах. Количество сцинтиллонов в каждой клетке было достаточно большим. Поскольку сцинтиллоны малы по сравнению с крупными размерами клеток, определить их количество по изображениям конфокального микроскопа не представлялось возможным.

Для подсчета количества сцинтиллонов на каждом срезе была разработана программа на языке Python с использованием библиотек PyQt5, OpenCV, NumPy и Matplotlib. Основные методы, используемые в программе, включают преобразование изображений в оттенки серого, регулировку яркости изображения, бинаризацию изображения с помощью порогового значения, подсчет кластеров из белых пикселей на бинарном изображении, визуализацию результатов с помощью наложения маски, экспорт результатов в CSV-файл.

В данном исследовании рассматривались 10 клеток *N. scintillans* со средним диаметром 600 ± 50 мкм. В разработанной программе была выставлена яркость изображения 2. В результате количество сцинтиллонов варьировалась от 1,5 до $2,5 \cdot 10^4$, что соответствует литературным данным.

1. Hastings J. W. Circadian rhythms in dinoflagellates: What is the purpose of synthesis and destruction of proteins? // *Microorganisms*, 2013, vol. 1, no. 1, pp. 26-32.

2. Seo K.S., Fritz L. Cell ultrastructural changes correlate with circadian rhythms in *Pyrocystis lunula* (Pyrrophyta) // *Journal of Phycology*, 2000, vol. 36, no. 2, pp. 351-358.

3. Fajardo C. et al. New perspectives related to the bioluminescent system in dinoflagellates: *Pyrocystis lunula*, a case study // *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, vol. 21, no. 5, p. 1784.

4. Letendre F. et al. Using bioluminescence as a tool for studying diversity in marine zooplankton and dinoflagellates: an initial assessment // *PeerJ*, 2024, vol. 12, p. e17516.

5. Valiadi M. et al. Molecular and biochemical basis for the loss of bioluminescence in the dinoflagellate *Noctiluca scintillans* along the west coast of the USA // *Limnology and oceanography*, 2019, T. 64, №. 6, C. 2709-2724.

БИОСИНТЕЗ β -КАРОТИНА У *DUNALIELLA SALINA* ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СТРЕССОВЫХ УСЛОВИЯХ β – Carotene Biosynthesis in *Dunaliella Salina* under Various Stress Conditions

Дегтяр И.В.¹, Лангушенко А.О.¹, Шаповалова В.Е.¹, Боровков А.Б.²

¹ ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», г. Севастополь, РФ, ivdegtyar@mail.sevsu.ru

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

Свет является неотъемлемым компонентом фотосинтеза в высших растениях и микроводорослях, но избыточная световая энергия способна вызывать окислительный стресс в клетках [1]. Одним из хорошо известных защитных механизмов от фотоокислительного стресса в фотосинтезирующих организмах является накопление каротиноидов [2]. Каротиноиды, желтые и/или оранжевые пигменты, служат антенными пигментами в фотосинтетических комплексах и предотвращают серьезные фотоповреждения, удаляя активные формы кислорода или фильтруя избыточный свет [3].

Dunaliella salina, галофильная каротиногенная зеленая микроводоросль, накапливает огромное количество β -каротина в условиях стресса [4]. Накопление β -каротина считается защитным механизмом *D. salina* от окислительного повреждения, возникающего под воздействием различных стрессовых факторов [5]. Показано, что каротиноиды, такие как β -каротин, ликопин, лютеин и зеаксантин, способствуют предотвращению таких дегенеративных заболеваний, как сердечно-сосудистые заболевания, диабет и некоторые виды рака [6]. Считается, что использование β -каротина полезно для здоровья, поскольку он обладает протекторными, противораковыми и антиоксидантными свойствами [7].

Данное исследование проводилось на культуре зелёной микроводоросли *Dunaliella salina* штамм IBSS-1 из ЦКП «Коллекция гидробионтов мирового океана» ФИЦ ИнБЮМ, а также из озера Ойбургское Сакского района. Первоначально культуру *D. salina* выращивали в накопительном режиме в климатической камере ВРС300Н на модифицированной питательной среде Ven-Amotz [8] с концентрацией соли в растворе 120 г/л. Первый этап длился до стационарной фазы роста и истощения в среде элементов минерального питания. На этом этапе освещенность составляла $90 \text{ мкмоль м}^{-2} \text{ с}^{-1}$, при температуре 25°C . В течение дня колбы встряхивали. После достижения стационарной фазы роста создавались стрессовые условия. Культуру разделили на 3 колбы по 50 мл. Для одной увеличивали поверхностную освещенность культуры ($1000 \text{ мкмоль м}^{-2} \text{ с}^{-1}$) и соленость среды (до 240 г дм^{-3}), а для другой освещенность культуры ($1000 \text{ мкмоль м}^{-2} \text{ с}^{-1}$) и добавляли по 140 мкл перекиси водорода (H_2O_2) (2,5 мМ). Третья колба находилась в обычных условиях для культивирования и рассматривалась в качестве контроля. В течение двух недель водоросль накапливала каротины и приобретала оранжевый цвет. Для определения количества каротиноидов пробы осаждали на центрифуге, а затем промывали от соли дистиллированной водой. Далее экстракцию осуществляли с помощью 95% этанола. Содержание каротиноидов

определялось спектрофотометрическим методом. Оптическую плотность экстракта измеряли на длинах волн 470 нм, 648 нм и 664 нм и пересчитывали на массу сухого вещества.

В результате данного исследования показано, что наибольшее накопление каротиноидов для штамма *Dunaliella salina* характерно при стрессовых условиях «Свет + H₂O₂», а для водоросли из озера Ойбургское при условиях «Свет + Соль».

1. Foyer C.H., Shigeoka S. Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis // Plant physiology, 2011, vol. 155, no. 1, pp. 93-100.
2. Young A.J. The photoprotective role of carotenoids in higher plants // Physiologia Plantarum, 1991, vol. 83, no. 4, pp. 702-708.
3. Stahl W., Sies H. Antioxidant activity of carotenoids // Molecular aspects of medicine, 2003, vol. 24, no. 6, pp. 345-351.
4. Hosseini Tafreshi A., Shariati M. Dunaliella biotechnology: methods and applications // Journal of applied microbiology, 2009, vol. 107, no. 1, pp. 14-35.
5. Salguero A. et al. Carotenoids as protective response against oxidative damage in *Dunaliella bardawil* // Biomolecular Engineering, 2003, vol. 20, no. 4-6, pp. 249-253.
6. Singh P., Goyal G.K. Dietary lycopene: Its properties and anticarcinogenic effects // Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2008, vol. 7, no. 3, pp. 255-270.
7. Gul K. et al. Chemistry, encapsulation, and health benefits of β -carotene-A review // Cogent Food & Agriculture, 2015, vol. 1, no. 1, pp. 1018696.
8. Borovkov A.B., Gudvilovich I.N., Avsiyan A.L. Scale-up of *Dunaliella salina* cultivation: From strain selection to open ponds // Journal of Applied Phycology, 2020, vol. 32, no. 3, pp. 1545-1558.

АЛГОРИТМИЗАЦИЯ И ПРОТИТИПИРОВАНИЕ УСТРОЙСТВА ДЛЯ РЕГИСТРАЦИИ БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ МИКРОПЛАНКТОНА НА ПРИМЕРЕ *NOCTILUCA SCINTILLANS* Algorithmization and Prototyping of Devices for Recording Microplankton Bioluminescence using the Example of *Noctiluca Scintillans*

Дегтярёв М.В., Дегтяр И.В., Евстигнеев В.П., Кузнецов П.Н.

ФГАО ВО «Севастопольский государственный университет», г. Севастополь, РФ, keepsboy@yandex.ru

Биолюминесценция, как природное явление, играет важную роль в морских экосистемах и может быть использована в качестве индикатора в ходе экологического мониторинга окружающей среды, который становится все более актуальным в связи с интенсификацией освоения Мирового океана, глобальными климатическими изменениями и последствиями возрастающего загрязнения. Динофлагеллята *Noctiluca scintillans* (Macartney) Kofoid and Swezy, 1921 является доминирующим видом (по биомассе и численности) в планктонном сообществе многих регионов Мирового океана [1]. При этом *Noctiluca* имеет хорошо выраженное искрящееся свечение с длительностью вспышек 100-150 мс и интенсивностью свечения в среднем более $40 \cdot 10^{-3}$ мквт·см⁻² (на расстоянии 1 см от фотокатода ФЭУ), что делает этот светящийся гидробионт одним из самых ярких планктонных биолюминесцентных [2]. В тех регионах, где вклад *Noctiluca* в биомассу планктона значителен (около 90%) интегральная биолюминесценция вод может служить экспресс-индикатором развития цветения фитопланктона и особенно таких негативных событий как «красные приливы» [1]. Регистрация вспышек единичной клетки *Noctiluca scintillans* может открыть пути для разработки универсальных способов экспресс-индикации и математических моделей биолюминесценции.

В рамках исследования биолюминесценции динофлагеллят вида *Noctiluca scintillans* был разработан и собран прототип автономного регистрирующего прибора на базе микроконтроллерной платформы Arduino Uno. Детектирование индивидуальных биолюминесцентных вспышек осуществлялось посредством высокочувствительного фотодатчика TSL-237 LF, характеризующегося широким динамическим диапазоном и низким энергопотреблением (10 мВт при номинальном напряжении питания 5 В).

Принцип функционирования TSL-237 LF основан на преобразовании интенсивности падающего света в частоту выходного сигнала с линейной зависимостью, что обеспечивает прецизионные измерения освещенности. Цифровой выходной сигнал датчика, представляющий собой последовательность импульсов с частотой, пропорциональной освещенности, обрабатывался микроконтроллером с использованием механизма аппаратных прерываний по переднему фронту сигнала. Данный метод позволил оптимизировать использование вычислительных ресурсов микроконтроллера и обеспечил эффективную регистрацию событий.

Программное обеспечение прибора состоит из двух компонентов: программы на языке C++ для Arduino, обеспечивающей взаимодействие с фотодатчиком и первичную обработку данных, и программы на языке Python для компьютера, осуществляющей получение измеренных данных, их визуализацию в режиме реального времени и сохранение в формате CSV. Такая архитектура позволяет проводить как автономные измерения, так и осуществлять мониторинг процесса в реальном времени.

В экспериментах изучалась биолюминесцентные вспышки *N. scintillans*, стимулируемые при помощи механического воздействия, а также при помощи соляной кислоты.

Датчик был откалиброван перед интеграцией в прибор. Для калибровки использовалась классическая модель вспышки клеток *Noctiluca scintillans* [3], с режимом в 5 мс – свет, 300 мс – темнота.

Прибор был собран и протестирован на живых клетках организма. Разработанный прибор предполагается к использованию в экспедиционных исследованиях морской биолюминесценции морских прибрежных вод Крыма с целью развития математических моделей биолюминесценции как на уровне одной клетки, так и биолюминесцентного поля в естественных условиях. Полученные результаты вспышек соответствуют теоретическим представлениям о распределении интенсивности одиночной вспышки клетки *Noctiluca scintillans*. Формы индуцированных вспышек геометрически не отличается от спонтанных вспышек. Единственное отличие в количестве микроимпульсов – у стимулированных клеток их больше в несколько раз.

1. Piontkovski S.A., Serikova I.M., Evstigneev V.P. et al. Seasonal blooms of the dinoflagellate algae *Noctiluca scintillans*: Regional and global scale aspects // *Regional Studies in Marine Science*, 2021, vol. 44., p. 101771, doi: org/10.1016/j.rsma.2021.101771.

2. Токарев Ю.Н., Евстигнеев П.В., Машукова О.В. Планктонные биолюминесцентные Мирового океана: видовое разнообразие, характеристики светоизлучения в норме и при антропогенном воздействии, Н. Орианда, Симферополь, 2016, 340 с.

3. Евстигнеев В.П., Папкина А.С. Фронт спада биолюминесцентной вспышки клетки *Noctiluca scintillans* // *Актуальные вопросы биологической физики и химии*, 2017, т. 2, № 1, с. 170-174.

РОЛЬ МИКРООРГАНИЗМОВ В ПРОЦЕССЕ САМООЧИЩЕНИЯ ОТ НЕФТЯНЫХ УГЛЕВОДОРОДОВ (НА ПРИМЕРЕ КУТОВОЙ ЧАСТИ СТРЕЛЕЦКОЙ БУХТЫ, СЕВАСТОПОЛЬ, ЧЁРНОЕ МОРЕ)

The Role of Microorganisms in the Process of Self-Purification from Hydrocarbons (Based on the Example of the Aul Part of Streletskaia Bay, Sevastopol, Black Sea)

Дорошенко Ю.В.

ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН», Севастополь, РФ,
julia_doroshenko@mail.ru

В последние десятилетия возрос интерес к исследованию прибрежных участков моря. Это связано с тем, что они относятся к наиболее динамичным зонам, поэтому обитающие здесь организмы нередко испытывают неблагоприятные воздействия природных и антропогенных факторов. Нефть и её производные остаются основными загрязнителями прибрежных акваторий. Нефтяные углеводороды являясь неконсервативными загрязнителями в отсутствии дефицита кислорода могут минерализоваться до CO₂ и H₂O при участии бактериальной микрофлоры.

Цель работы – определить численность микроорганизмов в донных отложениях и их роль в процессе самоочищения от нефтяных углеводородов.

Материалом для исследования послужили пробы донных отложений, отобранные в кутовой части Стрелецкой бухты (Севастополь, Чёрное море) в 2013-2014 и 2021 гг. Образцы отбирали дночерпателем Петерсона с глубин 0,5-1,5 м. Численность общего количества гетеротрофов и углеводородокисляющих бактерий определяли методом предельных разведений на соответствующих средах [1].

Численность гетеротрофных бактерий составляла от $9,5 \cdot 10^3$ до $1,5 \cdot 10^6$ кл./г, а углеводородокисляющих – от 45 до 950 кл./г. По сравнению с 2008 г. [2] произошло снижение численности углеводородокисляющих бактерий на 1-2 порядка, при этом численность гетеротрофов была сопоставима. За счёт этого наблюдается некоторое снижение бактериальной биодegradации нефтяных углеводородов (потока самоочищения). Если в 2008 г. численность углеводородокисляющих бактерий составляла от 0,2 до 60 % от общей численности гетеротрофов, то в последующих исследованиях это соотношение не превышало 2,6 %. Это свидетельствует об ухудшении экологических условий в донных отложениях Стрелецкой бухты.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по теме “Изучение биогеохимических закономерностей радиэкологических и хемэкологических процессов в экосистемах водоёмов Азово-Черноморского бассейна в сравнении с другими акваториями Мирового океана и отдельными водными экосистемами их водосборных бассейнов для обеспечения устойчивого развития на южных морях России” (№ гос. регистрации 124030100127-7)

1. Нетрусов А.И. Практикум по микробиологии: учеб. пособие. М.: Академия, 2005, 603 с.

2. Тихонова Е.А. Роль микроорганизмов в передаче нефтяных углеводородов по цепи: донные осадки – *Abra Segmentum* // *Экология моря*, 2009, вып. 79, с. 85-89.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МЕДУЗ *AURELIA AURITA* С ИЗМЕЛЬЧЕННЫМИ ПОЛИМЕРАМИ: ПИЛОТНЫЕ ОПЫТЫ И СИМУЛЯЦИЯ
Aurelia Aurita Jellyfish Interactions with Crushed Polymers: Pilot Studies and Simulation

Иванова С.Ю., Макарова В.В., Онникова А.Д., Губанов В.В., Аннинский Б.Е., Кузнецов А.В.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

Малая Академия Наук «Искатель», г. Севастополь, РФ

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ

Загрязнение пластиком стало одной из глобальных проблем современности, и борьба с ним приобретает особую актуальность наряду с вопросами, связанными с производством изделий из пластика и их утилизацией [1]. Частицы разного происхождения и размеров попадают с суши в океан, где они включаются в пищевые цепи. Фрагменты пластика находят в пищеварительном тракте морских млекопитающих, птиц, рыб и других гидробионтов, где они депонируются, что защищает их от разрушения, например, под действием солнечной радиации. Дрейф пластикового мусора соответствует течениям в океанах и морях и приводит к накоплению отходов в отдельных регионах, вызывая там экологические катастрофы. Поиск модельных организмов для изучения проблем, связанных с пластиковым загрязнением, является актуальным. Мы проводили эксперименты на прозрачном желетелом организме – ушастой медузе *Aurelia aurita*.

Методика. Аурелий ловили с набережной г. Севастополь от причала №149 до конца пляжа «Хрустальный» с помощью сачка с длинной телескопической ручкой, помещали в ведро с водой и доставляли в лабораторию. Отбирали медуз с диаметром зонтика около 7 см, способных к активному движению. Животных содержали по 4 особи в аквариумах с 25 л морской воды при температуре не выше 20°C. Использовали либо фильтрованную воду, либо воду с добавлением микропланктона, который собирали с помощью установки последовательной фильтрации «Vibeg». Аквариумы подсвечивали лампой GLF-600-8BT-FITO с полным спектром. В зависимости от сезона медузы могли жить в контрольных аквариумах от нескольких недель до нескольких дней, постепенно уменьшаясь в размере. В опытные аквариумы добавляли измельчённый пластик до концентрации 5 мг/л и наблюдали за изменением размера зонтика медуз и частотой его сокращений. Через разные промежутки времени медуз аккуратно переносили в чашки Петри и исследовали под микроскопом Микромед МС-4 при увеличении до 50 раз. Моделирование проводили в среде Python.

Результаты. В первой серии экспериментов изучали действие полимера в составе фильтра EN14683 из медицинских масок. Фильтр сначала измельчили ножницами, а затем в кофемолке. Однако после погружения пластиковой стружки в воду, большинство частиц полимера сбилось в хлопья, а медузы неохотно аккумулировали пластик в профильтрованной воде при отсутствии корма.

Во второй серии опытов использовали «забортную» морскую воду и три типа пластика: I – полиэтилентерефталат (PET), II – полиэтилен высокой плотности (HDPE) и III – поливинилхлорид (PVC). По истечению 3 недель медузы из аквариумов с пластиком типов I и II не отличались от контрольных, тогда как в аквариуме с пластиком типа III (PVC) наблюдалось относительное уменьшение размеров медуз и замедление сокращений зонтика. Микроскопический анализ показал, что в опытных медузах присутствуют тёмные частицы, чего не обнаружено в контроле.

В третьей серии, в аквариумы снова залили фильтрованную воду, но провели подкормку медуз микропланктоном и использовали искусственное освещение. В этот раз вместо пластика добавили чёрную тушь «Гамма» в количестве 5 мл. Через сутки, после 3-кратной промывки, исследовали контрольных и опытных животных. Оказалось, что пути трафика пищевых частиц на реснитчатом эпителии аурелии контрастированы коллоидными частицами туши. Ротовые лопасти и часть органов окрасились в чёрный цвет. Большое количество частиц туши было депонировано в специфичных отделах и органах *A. aurita* (рис. 1).

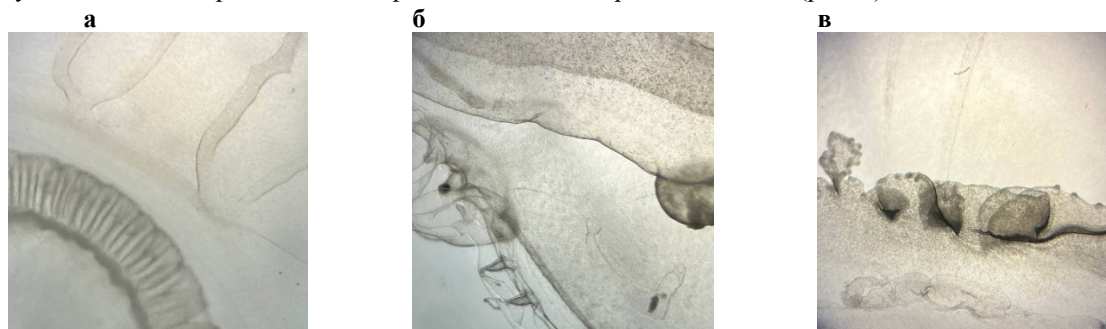


Рисунок 1. Структуры медузы *A. aurita*, связавшие частицы туши: а) гонады, б) периметр купола, в) внешний край ротовой лопасти, увеличение 50 раз

Для того чтобы получить представление о динамических событиях, связанных с поглощением микропластика медузами и его распространением в экосистемах были рассмотрены разные сценарии. Использовали агентно-ориентированное программирование. Классы определяли агентов, а их конструкторы – свойства и отношения между агентами. События носили вероятностный характер. Значения вероятностей подбирались эмпирически, так чтобы симуляция походила на реальный сценарий, постепенно увеличивая разнообразие агентов.

Симуляция, состоящая из двух агентов – медуз и пластика, реализуется с помощью программы `microplasticABM2A.py`, где взаимодействия между агентами описаны следующим образом: микропластик и медузы случайно перемещаются по полю. Если медуза находится в пределах расстояния 1 от микропластика, она может «съесть» его. Поедание микропластика приводит к его удалению из симуляции, т.е. медузы могут депонировать микропластик. С помощью программы `microplasticABM2Atime.py` построен график зависимости времени жизни медуз от количества пластика, напоминающий экспоненциальную гибель живых организмов в зависимости от концентрации токсиканта.

Сценарий, состоящий из трех агентов – медуз, пластика и рыб (рис. 2), реализован в программе `microplasticABM3A.py`, где добавлен еще один агент – рыбы. Они также случайно перемещаются по полю и, если рыба находится в пределах расстояния 1 от медузы, она может «съесть» медузу. Поедание медузы приводит к удалению медузы из симуляции. Если рыба съела медузу, содержащую частицу пластика, это приводит к гибели рыбы и удалению ее из симуляции. При гибели «отравленных» пластиком медуз и рыб, пластик возвращается обратно в окружающую среду. Стоит отметить, что в этой реализации не учитываются такие факторы, как рождение или смерть агентов, а также более сложные экологические взаимосвязи.

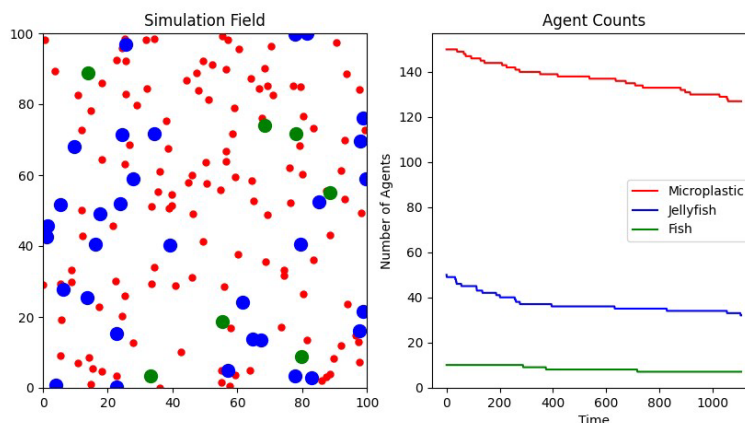


Рисунок 2. Симуляция с тремя агентами, параметры: 150 частиц пластика, 50 медуз и 10 рыб

Обсуждение. Ранее было показано, что поглощение микропластика медузой *A. aurita* происходит во время питания [2], что согласуется с нашими экспериментами. Также подтвердилось, что поливинилхлорид является более вредным из всех рассматриваемых пластиков в этом исследовании. Тушь – это мелкодисперсные частицы сажи в воде, которые для предотвращения расслаивания суспензии покрываются шеллаком (природная смола) или желатином, что необходимо учитывать при интерпретации результатов. Использование туши позволяет наглядно наблюдать и отслеживать перемещение частиц в организме медуз. В ходе эксперимента оказалось возможным изучить как частицы туши взаимодействуют с тканями медуз, включая процессы перемещения и поглощения частиц. Для визуализации трафика также перспективно использовать флуоресцирующие частицы. С целью создания более реалистичных компьютерных моделей, необходимо провести дополнительные исследования и собрать данные о фактической смертности медуз и динамике высвобождения микропластика из их тел. Тогда можно будет подобрать более достоверные параметры вероятностей для моделей. Например, известно, что в Черном море ласкиры *D. annularis* питаются аурелиями *A. aurita*.

Выводы. 1. Художественная тушь может быть моделью пластикового загрязнения, в особенности при изучении паттернов поглощения и распределения коллоидных частиц в органах медузы *Aurelia aurita* при питании.

2. Компьютерное моделирование позволяет проиграть разные ситуации в экосистеме, варьируя агентами, их отношениями и количеством. Такие исследования (при соответствующей доработке программ) могут помочь оценивать экологические риски, связанные с загрязнением пластиком. Симуляции позволяют изучать, как пластик перемещается по пищевым цепям в экосистеме. Полученные данные могут быть использованы для разработки стратегий по борьбе с пластиковым загрязнением.

1. Ершова А.А., Ерёмина Т.Р. Пластиковое загрязнение Мирового океана. Учебное пособие. – Санкт-Петербург: РГГМУ, 2022. – 170 с.

2. Romero-Kutzner V., Tari J., Herrera A. et al. Ingestion of polyethylene microspheres occur only in presence of prey in the jellyfish *Aurelia aurita* // *Marine Pollution Bulletin*, 2022, vpl. 175, 113269.

СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ОКИСЛЕНИЯ НИТРОВАННЫХ ПОЛИМЕРОВ ХИМИЧЕСКИМИ СПОСОБАМИ И С ПОМОЩЬЮ МИКРООРГАНИЗМОВ

Comparison of the Effectiveness of Oxidation of Nitrated Polymers by Chemical Methods and With the Help of Microorganisms

Куликова А.А., Габрин В.А., Саратовских Е.А., Голосов Е.В., Яруллин Р.Н.
ФИЦ Проблем химической физики и медицинской химии РАН, г. Черногловка, РФ
Ивановский государственный химико-технологический университет, г. Иваново, РФ
Казанский (Поволжский) государственный университет, г. Казань, РФ, a.kulikova@icp.ac.ru

Объёмы производства нитрованных полимеров (НП) в мире весьма значительны. Производство фильтрующих материалов, лаков, красок, искусственных кож, целлюлоида, порохов тесно связано с НП. Считается, что отходы производства НП являются нетоксичными [1]. Однако, в больших объёмах приравниваются к веществам с выраженным мутагенным действием [2]. Существует несколько способов обработки отходов производства НП, их варианты и сочетания, но каждый из них имеет свои недостатки. Физико-химические методы: мембранная фильтрация с применением коагулирующих агентов, химический гидролиз, сжигание [3] – дороги и экологически небезопасны. Компостирование и захоронение отходов [4], в силу непредсказуемости биохимических процессов, вызываемых случайной микрофлорой, не дают точного прогноза результатов её ферментативной активности в отношении как самой НП, так и продуктов её разложения. В последние годы весьма популярными стали биологические методы обработки отходов различных промышленных производств. Следует помнить, что работа с биологическими объектами – микробами, бактериями и пр. требует соблюдения техники безопасности. Важно, предотвратить попадание патогенных микроорганизмов в окружающую среду, и не вызвать бактериального поражения населения.

В настоящем исследовании нами была проведена обработка НП с помощью гидроксида калия (КОН). Далее полученный гидролизат утилизировался с помощью активного ила (АИ) очистных сооружений. Для контроля эффективности разложения НП проводили определение ХПК и БПК растворов из лабораторного аэротенка. ХПК начальная составляла 2696,4 г/дм³, после выдержки 5 суток на АИ 342,6 г/дм³. БПК₅ так же уменьшалось.

Параллельно проверяли эффективность разложения данного вида НП с помощью сульфатредуцирующих бактерий *Desulfovibrio desulfuricans* 1388. Исследовано действие *D. desulfuricans* на НП с содержанием азота 10,7 и 13,38 мас%. Инкубация НП на бактериях проводилась до 65 суток. Степень биоразложения не превысила 16,0%.

Полученные результаты показывают, что с точки зрения технологического применения возможно сочетание предварительной обработки стока с помощью гидроксида калия. Последующей стадией, может быть весьма эффективным применение биологического метода обработки с помощью, в частности, бактерий *D. desulfuricans*.

Работа выполнена в соответствии с темой № FFSG-2024-0012 Государственного задания (№ государственной регистрации 124020500019-2).

1. Wang L.K., Pressman M., Shuster W.W. et al. Separation of nitrocellulose fine particles from industrial effluent with organic polymers // The Canadian Journal of Chemical Engineering, 1982, vol. 60, no. 1, doi: 10.1002/cjce.5450600120

2. Петрова О.Е., Тарасова Н.Б., Давыдова М.Н. Трансформация нитроэфира целлюлозы сульфатредуцирующей бактерией *D. Desulfuricans* // Микробиология, 2002, т. 71, № 3.

3. Wendt T.M., Kaplan A.M. A Chemical biological treatment process for cellulose nitrate disposal // Journal Water Pollution Control Federation, 1976, vol. 48, no. 4.

4. White G.F., Snape J.R., Microbial cleavage of nitrate esters; defusing the environment // The Journal of General Microbiology, 1993, vol. 139, doi: 10.1099/00221287-139-9-1947.

МОНИТОРИНГ ИЗМЕНЕНИЙ ПРОТОТИПОВ АНТИОБРАСТАЮЩИХ ПОКРЫТИЙ В ХОДЕ ЭКСПОНИРОВАНИЯ В МОРСКОЙ СРЕДЕ

Monitoring of Changes in Anti-Fouling Coating Prototypes during Exposure in the Marine Environment

Мутовкин П.А., Мосунов А.А.
Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, pasha.mutovkin2001@mail.ru

Морской транспорт играет ключевую роль в мировой экономике, обеспечивая перевозку грузов и пассажиров. Однако одной из его основных проблем является биологическое обрастание. Этот процесс включает начальное образование биопленок, состоящих из микробов и микроводорослей, а затем заселение бактерий, грибов, водорослей и др. Биообрастание имеет серьезные последствия для судоходства, морской аквакультуры и

прибрежной промышленности [1]. Использование судов с чистыми корпусами может снизить выбросы CO_2 на одну пятую и расходы на топливо на 19%, что позволит сэкономить до 6,5 миллионов долларов на топливе [2].

В данной работе впервые исследованы физико-механические свойства антиобрастающей краски, содержащей в качестве основного антиобрастающего агента наночастицы металлов и их оксидов оригинальной формы, методами атомно-силовой микроскопии. В качестве органической матрицы покрытия использовались различные составы, изготовленные на основе акрилатной и эпоксидной смол, канифоли и др., а также органической основы эмали РК-Marine с заменой антиобрастающих компонентов на исследуемые наночастицы. В качестве противообрастающих агентов использовались следующие наночастицы: ZnO-FeZnO , CuO-FeCuO , $\text{ZnTi}_2\text{O}_4\text{-ZnO}$, $\text{ZnTi}_2\text{O}_4\text{-TiO}_2$ и Ag-TiO_2 . Их процентное содержание составляло 10-20%.

Методом атомно-силовой микроскопии проведены исследования шероховатости антиобрастающих покрытий. Сканирование поверхности осуществлялось в полуконтактном режиме сканирования. В качестве измерительного зонда использовались консоли HA_FM/W₂C. Это микромеханические кремниевые устройства, состоящие из прямоугольного кремниевого основания размером $3,6 \times 1,6$ мм с толщиной верхнего края 0,4 мм. В центре меньшей стороны формируется балка длиной 223 мкм, шириной 34 мкм и толщиной 3 мкм. Верхняя поверхность балки покрыта отражающим золотым покрытием. На свободном конце нижней стороны балки сформирован наконечник высотой 12 мкм, с углом при вершине около 22° и радиусом кривизны 5 нм. Этот наконечник служит в качестве измерительного зонда. Область сканирования была выбрана 50×50 мкм, число точек – 1000, скорость – 0,5 Гц. Далее полученные данные были загружены в написанный код на языке R, позволяющий получить среднее арифметическое отклонение профиля шероховатости значение Ra с абсолютной погрешностью. Сканы всех поверхностей приведены на рисунках 1 и 2.

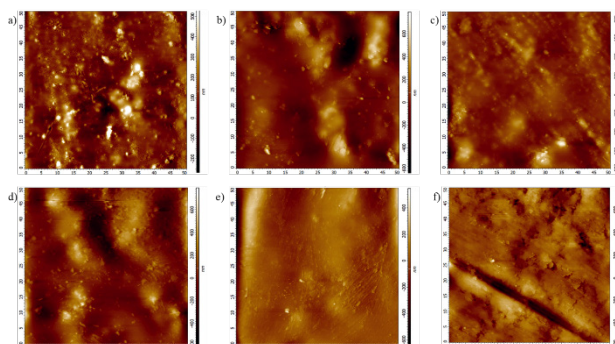


Рисунок 1 - Сканы поверхности образцов: а) Ag-TiO_2 ; б) CuO-FeCuO ; в) ZnO-FeZnO ; д) $\text{ZnTi}_2\text{O}_4\text{-TiO}_2$; е) $\text{ZnTi}_2\text{O}_4\text{-ZnO}$; ф) Bioplast-52

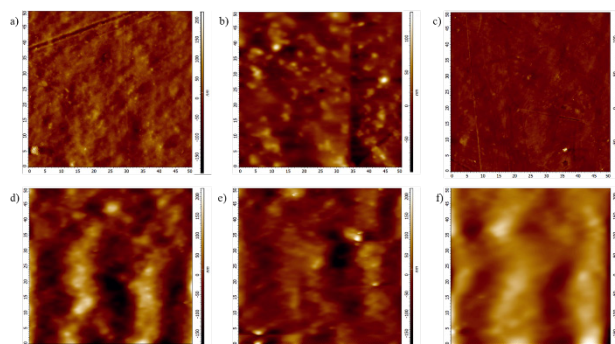


Рисунок 2 - Сканы поверхности образцов: а) Bioplast-52; б) Основа «Bioplast-52» + Ag-TiO_2 ; в) Основа «Bioplast-52» + $\text{CuO-Cu}_2\text{O-CuFe}_2\text{O}_4$; д) РК-Marine; е) РК-Marine + Ag-TiO_2

Исследование шероховатости антиобрастающих покрытий с использованием АСМ показало, что внедрение наночастиц Ag-TiO_2 снижает среднее арифметическое отклонение профиля шероховатости (Ra) по сравнению с эмалью Bioplast-52 и РК-Marine, что улучшает физико-механические свойства краски. Для других исследованных наночастиц результаты оказались менее успешными, чем у эталонных образцов (коммерческих красок Bioplast-52 и РК-Marine). Также были получены значения статического и динамического коэффициентов трения (статья в процессе публикации), которые показали, что минимальные значения наблюдаются для образца, покрытого краской Bioplast-52 ($0,128 \pm 0,009$; $0,073 \pm 0,004$ соответственно), в то время как максимальные значения зарегистрированы для образца с добавлением наночастиц $\text{ZnTi}_2\text{O}_4\text{-ZnO}$ ($0,183 \pm 0,010$; $0,170 \pm 0,008$). Краски с наночастицами CuO-FeCuO и Ag-TiO_2 показали результаты, близкие к покрытию Bioplast-52.

1. Gu Y.Q., Yu S.W., Mou J.G. et al. // Materials, 2020, vol. 13, p. 444.

2. Callow M.E., Callow J.E. // Biologist, 2002, vol. 49, pp. 10-14.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В ЖАБРАХ МОРСКОГО ЕРША *SCORPAENA PORCUS* L. ИЗ РАЗНЫХ АКВАТОРИЙ Г.СЕВАСТОПОЛЯ

Comparative Analysis of the Prooxidant-Antioxidant System Parameters in the Gills of Black Scorpionfish *Scorpaena Porcus* L. from Different Water Areas of Sevastopol

Скуратовская Е.Н.¹, Чекмарева Т.М.¹, Левина Н.А.²

¹ Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ, chekmareva@ibss-ras.ru

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

В современных экотоксикологических исследованиях для оценки состояния водной среды широко используются показатели гидробионтов различного биологического уровня – популяционные, морфофизиологические, биохимические (молекулярные). Последние, в свою очередь, являются наиболее информативными и чувствительными. К ним относятся показатели прооксидантно-антиоксидантной системы (ПАС) [1-3].

Цель работы – сравнительный анализ показателей прооксидантно-антиоксидантной системы в жабрах морского ерша *Scorpaena porcus* L. из прибрежных акваторий г. Севастополя с разным уровнем загрязнения. Рыб отлавливали в трех севастопольских бухтах – Ласпи, Карантинная, Стрелецкая в июне 2023 г., проводили их полный биологический анализ. Для биохимических исследований отбирали жабры экземпляров в возрасте 3-х лет, преобладающих в уловах. В жабрах анализировали активность антиоксидантных ферментов каталазы (КАТ), супероксиддисмутазы (СОД), пероксидазы (ПЕР), показатели окислительного стресса - уровень перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков.

В результате исследований установлено достоверное увеличение уровня окислительной модификации белков и перекисного окисления липидов, активности КАТ, существенное снижение активности ПЕР при неизменных значениях СОД в жабрах рыб из Стрелецкой бухты по сравнению с другими акваториями. Полученные результаты свидетельствуют о смещении прооксидантно-антиоксидантных реакций в сторону интенсификации процессов окислительной модификации белков и перекисного окисления липидов у рыб из Стрелецкой бухты, а также о высоком уровне загрязнения и менее благоприятных условиях обитания гидробионтов в данной акватории. Исследованные в жабрах морского ерша показатели ПАС можно рекомендовать в качестве биомаркеров для оценки качества морской среды. Результаты работы могут представлять интерес для разработки мониторинговых программ, в частности для биоиндикации водных объектов с использованием параметров прооксидантно-антиоксидантной системы жабр морского ерша.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по теме «Биоразнообразие как основа устойчивого функционирования морских экосистем, критерии и научные принципы его сохранения» (№ гос. Регистрации 124022400148-4).

1. Лукьянова О.Н., Корчагин В.П. Интегральный биохимический индекс состояния водных организмов в условиях загрязнения // Известия Российской академии наук. Серия биологическая, 2017, № 2, с. 174-180.

2. Малахова Л.В., Скуратовская Е.Н., Малахова Т.В., Лобко В.В. Связь интегрального биохимического индекса и содержания хлороорганических ксенобиотиков в печени морского ерша *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758 в севастопольской морской акватории // Журнал Сибирского федерального университета. Серия: Биология, 2020, т. 13, № 4, с. 387-409, doi: 10.17516/1997-1389-0335.

3. Немова Н.Н., Мещерякова О.В., Лысенко Л.А., Фокина Н.Н. Оценка состояния водных организмов по биохимическому статусу // Труды КарНЦ, 2014, № 5, с. 18-29.

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗА КРЫМСКИХ МОЖЖЕВЕЛЬНИКОВ СЕКЦИИ *JUNIPERUS*

Chromatographic Analysis of Crimean Junipers of the *Juniperus* Section

Сыровец А.А.¹, Лантушенко А.О.¹, Зиновьева Е.В.¹, Шевчук О.М.²

¹ ФГАУ ВО «Севастопольский государственный университет», г. Севастополь, РФ, n.sirovets@yandex.com

² ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН»

Род *Juniperus* широко распространен во всем средиземноморье и является вторым по разнообразию среди хвойных деревьев [1]. Все части растения содержат эфирные масла с высокоароматическими компонентами имеющие высокую антибактериальную активность. Целью данного исследования была разработка методики хроматографического анализа эфирного масла 4 дикорастущих видов рода *Juniperus*.

Для данного исследования использовалась хвоя можжевельника, взятая весной. Эфирное масло получено методом гидродистилляции, выход эфирного масла варьировалась от 0,0255 мл/100 г сухого сырья (*J. foetidissima*) до 0,2746 мл/100 г сухого сырья (*J. sabina*). качественный и количественный анализ образцов осуществлялся при помощи газовой хроматографии на приборе Хроматек 5000. Были выставлены следующие условия: масс-спектрометр с ионной ловушкой; – газ-носитель: гелий, поток 0,7 мл/мин; – температура испарителя: 300°C; – температура термостата: 50-250°C, скорость нагрева 8°C/мин. Идентификация выполнялась на основе сравнения полученных масс-спектров с данными библиотеки NIST 14 (Национальный Институт Стандартов и Технологий, США). Программа поиска и идентификации спектров MS Search (США).

Также были выделены компоненты, представленные у большинства видов: sabinene, β -myrcene, γ -terpinene, α -cadinol, гермасцен d-4-ol, t-thurolool. Как основной компонент во всех выделяется sabinene (бициклический монотерпен). Вид с наибольшим количеством масел является *J. communis*, получилось выделить 54 компонента.

Сабинен представляет собой природный бициклический монотерпен с молекулярной формулой C₁₀H₁₆. Его выделяют из эфирного масла различных растений, включая майоран, дуб каменный (*Quercus ilex*) и ель обыкновенную (*Picea abies*). Он имеет напряженную кольцевую систему с циклопентановым кольцом, сплавленным с циклопропановым кольцом. Благодаря своей гидрофобности эфирные масла способствуют разрушению фосфолипидов клеточной мембраны, что приводит к повышению ее проницаемости, поэтому они оказывают высокий антимикробный и антибактериальный эффект, а также обнаружено, что sabinene оказывает ангиостатическое и антиангиогенное действие [2].

1. Мацкевич И.В., Невзоров В.Н., Кох Ж.А. Совершенствование технологии производства эфирного масла из можжевельника // Ползуновский вестник, 2022, № 3, с. 186-193.

2. Sharma S. et al. Phytochemical repurposing of natural molecule: Sabinene for identification of novel therapeutic benefits using in silico and in vitro approaches // Assay and Drug Development Technologies, 2019, vol. 17, no. 8, pp. 339-351.

МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЗЕЛеноЙ КАРОТИНОГЕННОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ *COELASTRELLA* SP. В УСЛОВИЯХ ЛАБОРАТОРНОЙ НАКОПИТЕЛЬНОЙ КУЛЬТУРЫ

Morphophysiological Characteristics of the Green Carotenogenic Microalgae *Coelastrella* sp. in the Conditions of Laboratorial Storage Culture

Челебиева Э.С., Чубчикова И.Н., Данцюк Н.В., Дробецкая И.В., Минюк Г.С.

ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ,
elina.chelebieva@gmail.com

В работе рассматриваются фенотипические и физиолого-биохимические характеристики клеток малоизученной каротиногенной микроводоросли *Coelastrella* sp (ранее *Pseudospongiococcum protococcoides* Gromov et Mamkaeva 1974 (Chlamydomonadales, Chlorococcaceae)) в условиях лабораторной накопительной культуры. Объектом исследования служил штамм CALU-221 (= IBSS-10), выделенный профессором Б.В. Громовым в 1962 году из поверхностного слоя почвы в окрестностях Севастополя [1]. Сведения о нахождении данного вида ограничиваются Крымским регионом и побережьем Азовского моря [1,2]. Наиболее важной в теоретическом и практическом аспектах особенностью данного вида является выраженная способность к вторичному каротиногенезу – ключевому физиолого-биохимическому механизму адаптации обитателей экологически проблемных биотопов к абиотическому стрессу (действию высоких и низких температур, жесткого УФ-излучения, обезвоживания и др.). Исследования особенностей биологии и метаболизма редких каротиногенных видов с узким географическим ареалом распространения представляет интерес не только плане углубления представлений об эколого-физиологической специфике стресс-толерантности микроводорослей, но и в плане выявления новых объектов промышленного культивирования для получения высокоценных кетокаротиноидов семейства астаксантина (Аст).

Данная работа является начальным этапом исследований морфофизиологических характеристик *Coelastrella* sp. в условиях лабораторной культуры при выращивании на универсальной для зеленых микроводорослей питательной среде Болда (BBM 3N). Выбор питательной среды и метода культивирования основывался на их широком распространении в альгологической практике и, следовательно, потенциальной возможности анализа полученных данных в сравнительном аспекте. Все остальные физико-химические параметры внешней среды (освещенность, фотопериод, температура, барботаж снабжение CO₂ и др.), контролируемые морфо-физиологические показатели и методы их анализа соответствовали «зеленой» стадии универсальной схемы двухстадийного культивирования продуцентов Аст, принятой в нашей лаборатории [3,4].

Анализ полученных результатов показал, что, несмотря на длительное (более 60-ти лет) коллекционное хранение штамма CALU-221 (= IBSS-10) на агаризированной среде BBM в коллекции СПбГУ и ИнБИОМ [5,6], его морфометрические характеристики полностью соответствуют первоописанию вида. Данные,

характеризующие среднюю удельную скорость роста водоросли по численности клеток (0,16 сут⁻¹) и продуктивность по сухой биомассе (0,166 ± 0,004 мг/(л сут), динамике содержания в культурах фотосинтетических пигментов, отношения суммарные каротиноиды/хлорофилл а и изменения объемов клеток адекватно отражают состояние накопительных культур *Coelastrella* sp и удовлетворяют задачам исследования вида как продуцента Аст..

1. Gromov B.M., Mamkaeva K.A. Morphology and ultrastructure of some chlorococcal algae from the collection of algae strain in Leningrad University. I. Pseudospongiococcum protococcooides gen. nov, sp. nov. / *Algol. Stud.* // *Arch. Hydrobiol.*, 1974. vol. 46, no. 10.

2. Solonenko A.M. Algae of different biotopes of the Arabat Spit, Azov Sea (Ukraine) // *International Journal on Algae*, 2016, vol. 18, no. 3, doi: 10.1615/InterJAlgae.v18.i3.40

3. Минюк Г.С., Дробецкая И.В., Чубчикова И.Н. и др. Скрининг зелёных микроводорослей как потенциальных источников природных кетокаротиноидов. Актуальность, стратегия и тактика исследований // *Экология моря*, 2010, т. 80.

4. Chelebieva E.S., Dantsyuk N.V., Chekanov K.A. et al. Identification and Morphological-Physiological Characterization of Astaxanthin Producer Strains of *Haematococcus pluvialis* from the Black Sea Region // *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2018, vol. 54, no. 6, doi: 10.1134/S0003683818060078.

5. Громов Б.В., Титова Н.Н. CALU-коллекция культур водорослей лаборатории микробиологии Биологического института Санкт-Петербургского университета. Каталог культур микроводорослей в коллекциях СССР. М: РАН, ИФР, 1991, с. 76-125.

6. Данцюк Н.В., Челебиева Э.С., Минюк Г.С. Рабочая коллекция живых культур каротиногенных микроводорослей Института биологии южных морей имени А.О. Ковалевского // *Морской биологический журнал*, 2021, т. 6, № 4, doi: 10.21072/mbj.2021.06.4.01.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЗЕЛЕННЫХ НИТЧАТЫХ ВОДОРОСЛЕЙ *CLADOPHORA* В ЖИВОТНОВОДСТВЕ

Prospects for the Use of Green Filamentous Algae *Cladophora* in Animal Husbandry

Шадрин Н.В.¹, Празукин А.В.¹, Гассиев Д.Д.^{1,2}, Ануфриева Е.В.¹

¹ ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ

² Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, 536619@gmail.com

Проблема кормов и кормовых добавок стоит в животноводстве очень остро, во многих странах дефицит полноценных кормов для выращиваемых животных колеблется от 10 до 25%. В настоящее время для выращивания кормовых культур в мире используется 40% всей пашни, для производства кормов идет более 30% производимого урожая зерновых и около 23% всей выловленной рыбы. Такой путь решения проблемы способствует росту дефицита пресной воды и разрушению природных экосистем. И это все равно не решает проблему, ее не решить таким подходом. Мощный резерв ее решения лежит в интенсификации использования для этих целей непищевых водных биологических ресурсов. Одни из перспективнейших для этого многоклеточные водоросли. Водоросли рода *Cladophora* широко распространены в водоемах, имеющих разную соленость, имеют очень высокую продуктивность. Перспективны их использования в сельском хозяйстве рассмотрены в обзоре [1]. Исследования по использованию добавок кладофоры в корма ведутся в разных странах, есть положительные результаты, которые суммированы в таблице 1.

Таблица 1

Животные получавшие подкормку	Добавка кладофоры, % от рациона	Эффект использования добавки	Авторы
Куры	15%	улучшился цвет желтка, увеличилась масса яйца и толщина его скорлупы, живая масса цыплят	Chojnacka, 2008; Michalak et al. 2011
Кролики	до 10% в рацион	Повысились уровни белка, незаменимых аминокислот, ПНЖК, уровень иммунитета, приросты	Messyas et al., 2015; Abu Hafsa et al. 2021; Nutautaitė et al. 2024; Shadrin et al., 2024
Коровы	16%	Снизилось выделение метана	Machado et al., 2014
Креветки	до 30%	Увеличились скорость	Anh et al., 2018

Животные получавшие подкормку	Добавка кладофоры, % от рациона	Эффект использования добавки	Авторы
		роста и стрессоустойчивость	
Свиньи	15%	Увеличение массы	Chojnacka, 2008
Сом	5%	повышения уровня каротиноидов в мясе	Promya and Chitmanat 2011

Даже эти небольшие еще результаты свидетельствуют о перспективности использования кладофоры как кормовой добавки в рацион различных культивируемых животных. В Институте биологии южных морей созданы и успешно испытаны кормовые гранулы из кладофоры. Есть и еще одно направление использования ее в животноводстве. В биомассе кладофоры содержится довольно много нанокристаллической целлюлозы, которая перспективна для создания ранозаживляющих гелей и перевязочных материалов, которые можно использовать в ветеринарии.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-66-00001.

1. Prazukin A.V., Anufrieva E.V., Shadrin N.V. Biomass of Cladophora (Chlorophyta, Cladophorales) is a promising resource for agriculture with high benefits for economics and the environment // Aquaculture International, 2024, vol. 23, iss. 3, pp. 3637-3673, doi: 10.1007/s10499-023-01342-x.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ОКЕАНИЧЕСКОГО ЗООПЛАНКТОНА

Distribution of Oceanic Zooplankton

Мегер Я.В., Пионтковский С.А.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ,
megeer_yakov@mail.ru, spiontkovski@mail.ru

Термин «зоопланктон» объединяет разнообразную группу организмов с гетеротрофным типом питания. В мировом океане зоопланктон представлен сотнями видов, размер которых варьирует от долей миллиметра до десятков сантиметров. В аспекте прикладных исследований выделяют кормовую и некормовую (желетелую) фракции этой группы. Основу кормового зоопланктона, входящего в рацион мелких пелагических рыб, формируют ракообразные (Copepoda) размерного диапазона 0,2-2,0 мм.

Цель исследований состояла в анализе закономерностей крупномасштабного пространственного распределения кормового и желетелого зоопланктона, а также в анализе соотношения биомассы этих фракций. Для этого был выполнен анализ 5-градусных квадратов мирового океана. Значения биомассы были извлечены из международных баз данных и литературных источников. Соотношение биомассы желетелого и кормового зоопланктона было рассчитано для 393 5-градусных квадратов. Расчеты показали уменьшение биомассы желетелого зоопланктона в направлении от шельфа в открытые воды. Медиана биомассы в водах северного полушария Мирового океана десятикратно превышала таковую в южном. Медиана соотношения биомассы желетелого и кормового зоопланктона в северном полушарии также оказалась выше.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-24- 00007).