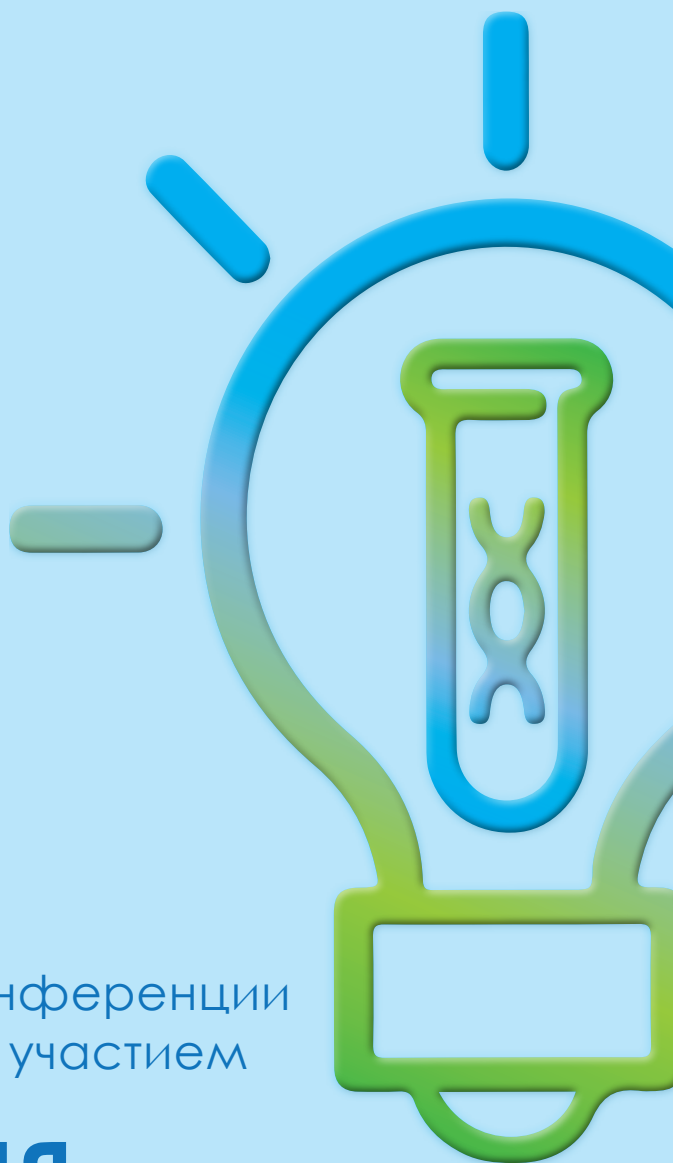




Материалы
Всероссийской конференции
с международным участием

БИОХИМИЯ ЧЕЛОВЕКА

17-19 октября 2024
Москва

#berëzov2024

Материалы
Всероссийской конференции
с международным участием

ПЕВОВАКА PNOXNWNR



Всероссийская
конференция
с международным
участием

БИОХИМИЯ ЧЕЛОВЕКА

17-19 октября 2024
Москва

#berëzov2024

УДК 612.015(063)
ББК 28.707.2я43
Б63

Б63 **Биохимия человека:** материалы всероссийской конференция с международным участием, 17–19 октября 2024 г. / под общей редакцией В.С. Покровского. — М.: Е-нот, 2024. — 448 с. — Авторы указаны в содержании

ISBN 978-5-906023-40-7

В сборнике представлены материалы конференции «Биохимия человека 2024», посвящённой 100-летию со дня рождения акад. Темирболата Берёзова (17–19 октября, Москва). В сборник вошли отобранные тезисы по 26 научным секциям в области биохимии и смежных дисциплин. Предназначено для исследователей в области биомедицинских наук, преподавателей биохимии и смежных дисциплин в высшей школе, врачей клинической лабораторной диагностики, эндокринологов, онкологов и широкого круга специалистов, интересующихся фундаментальными исследованиями в области медицины: механизмами действия лекарственных препаратов, патогенезом патологических состояний и современными возможностями диагностики заболеваний.

УДК 612.015(063)
ББК 28.707.2я43
Б63

ISBN 978-5-906023-40-7

© 000 «Е-нот»

СЕКЦИИ

● Биосенсоры и молекулярная диагностика	9
● Научный редактор: Анна Кичкайло, д.б.н.	
● Биохимические и молекулярные основы сосудистой патологии	21
● Научный редактор: Анна Костарева, д.м.н.	
● Биохимические аспекты острого повреждения почек и нефропротекции	25
● Научный редактор: Егор Плотников, д.б.н., проф. РАН	
● Биохимия воспаления и возрастных изменений	30
● Научный редактор: Владимир Баклаушев, д.б.н., проф.	
● Биохимия мозга	53
● Научный редактор: Всеволод Белоусов, д.б.н., чл.-кор. РАН	
● Биохимия питания	80
● Научный редактор: Владимир Шипелин, к.м.н.	
● Биохимия регенерации	92
● Научный редактор: Тимур Фатхудинов, д.м.н., проф.	
● Генетические технологии в создании лекарственных препаратов и диагностических систем	100
● Научный редактор: Дмитрий Костюшев, к.б.н.	
● Геномика опухолевых клеток	110
● Научный редактор: Елена Зеркаленкова, к.б.н.	
● Клиническая биохимия и биомаркёры	123
● Научный редактор: Николай Кушлинский, д.м.н., проф., акад. РАН	
● Компьютерное конструирование лекарств	152
● Научный редактор: Владимир Поройков, д.б.н., проф., чл.-кор. РАН	
● Математическое моделирование в биохимии и фармакологии	161
● Научный редактор: Кирилл Песков, к.б.н.	
● Материалы биомедицинского назначения и их воздействие на человека	172
● Научные редакторы: Константин Семенов, д.х.н., Владимир Шаройко, д.х.н.	

● Медицинская химия	201
● <i>Научный редактор: Константин Балакин, д.х.н., проф.</i>	
● Метаболическая, энергетическая и транскриптомная пластичность миокарда человека	221
● <i>Научный редактор: Анна Костарева, д.м.н.</i>	
● Молекулярная диагностика инфекционных заболеваний человека	230
● <i>Научный редактор: Герман Шипулин, к.м.н.</i>	
● Молекулярная онкология	236
● <i>Научные редакторы: Кирилл Кирсанов, д.б.н., Михаил Красильников, д.б.н., проф.</i>	
● Молекулярная фармакология (мишени и механизмы действия лекарственных препаратов)	269
● <i>Научный редактор: Андрей Замятнин, д.б.н.</i>	
● Молекулярная эндокринология	311
● <i>Научные редакторы: Александр Шапов, д.б.н., проф., Мария Воронцова, к.м.н.</i>	
● Нанотехнологии в онкологии	333
● <i>Научный редактор: Виктория Шипунова, к.б.н.</i>	
● Протеомика человека	347
● <i>Научный редактор: Виктор Згода, д.б.н., проф. РАН</i>	
● Роль различных сигнальных молекул в метаболизме «суперорганизма»	355
● <i>Научный редактор: Александр Шестопалов, д.м.н., проф.</i>	
● Свободно-радикальные процессы в норме и при патологии	363
● <i>Научные редакторы: Алексей Соколов, д.б.н., Олег Панасенко, д.б.н., чл.-кор. РАН</i>	
● Системы доставки лекарственных препаратов	401
● <i>Научный редактор: Максим Абакумов, к.х.н.</i>	
● Структурная биология мембранных белков	418
● <i>Научный редактор: Алексей Мишин, к.ф.-м.н.</i>	
● Энзимология (исследования ферментов человека)	425
● <i>Научный редактор: Виктория Буник, д.б.н.</i>	
● Указатель авторов	437

Информационные стратегические партнёры



Научные партнёры



Генеральные партнёры



Партнёры



Спонсоры

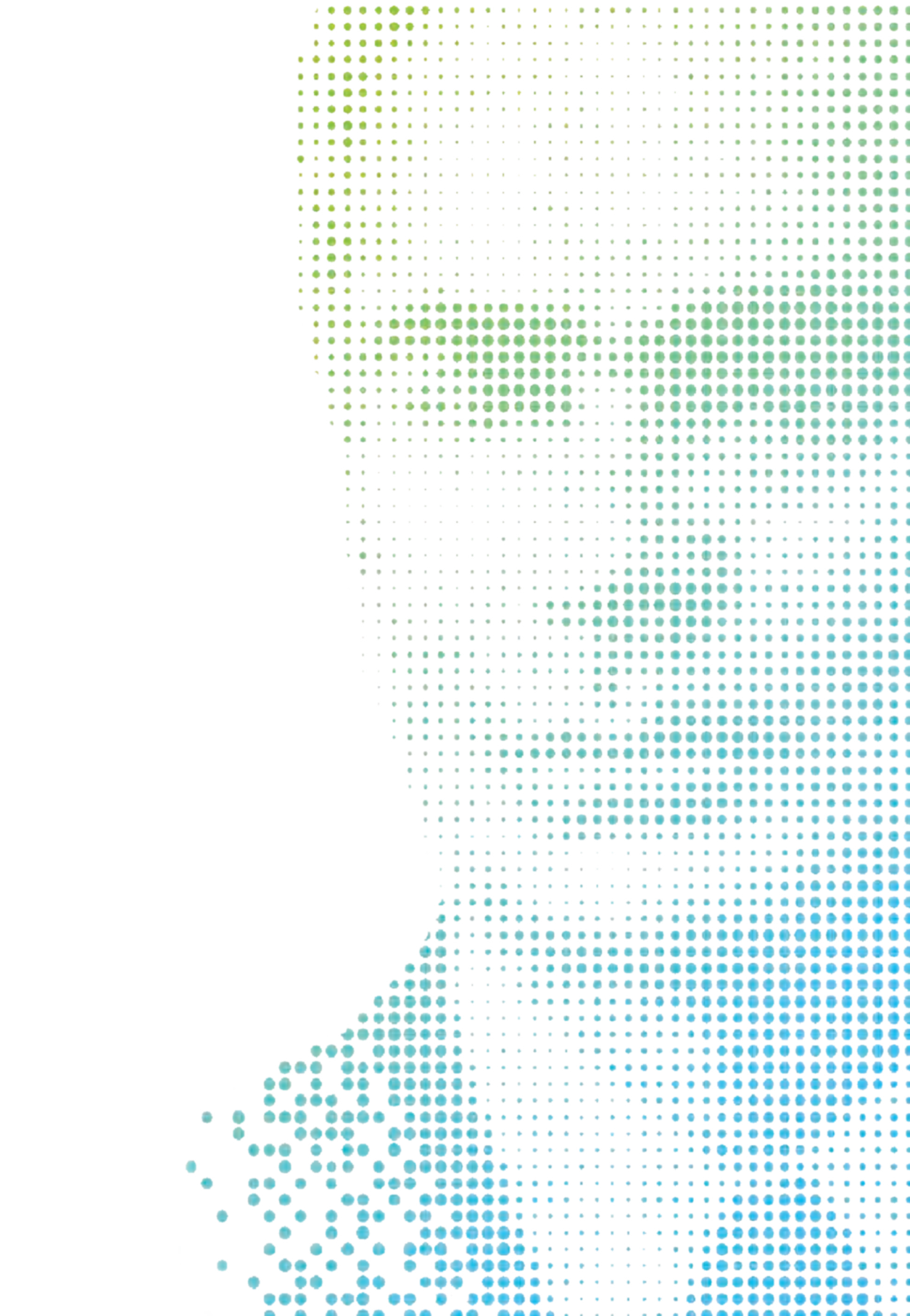


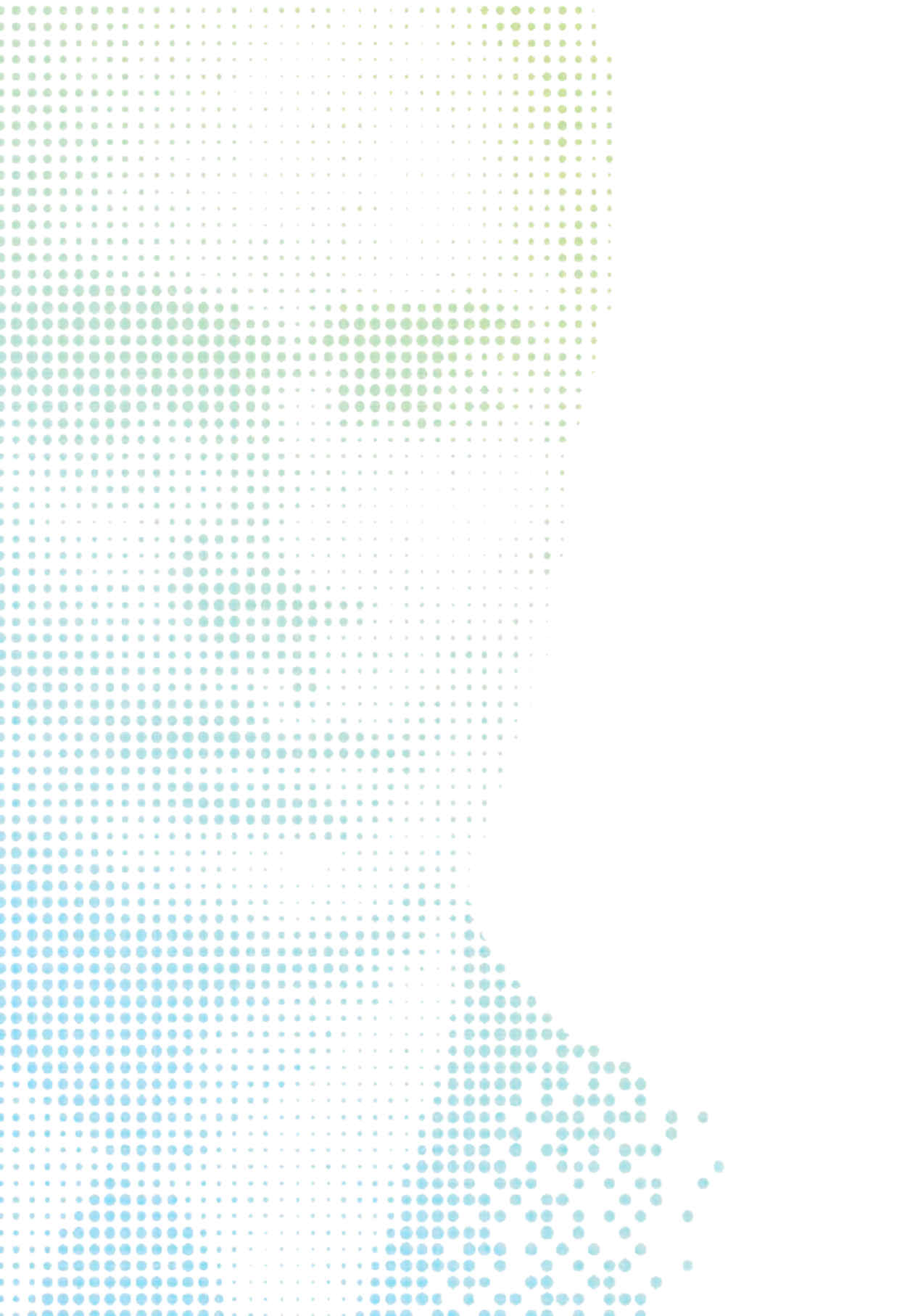
19 октября 2024 года исполняется 100 лет со дня рождения академика Темирболата Берёзова, создателя кафедры биохимии РУДН. Им была основана студенческая учебная лаборатория, сформирована команда первых преподавателей и написан учебник, по которому около 30 лет учились все советские студенты-медики. Научные исследования Темирболата Берёзова были связаны с особенностями обмена аминокислот при различных патологических состояниях, прежде всего, при злокачественных новообразованиях, и сочетали в себе фундаментальную науку и применение её результатов врачами. Ученики академика Темирболата Берёзова и сейчас работают в научных учреждениях нашей большой страны, продолжая проводить исследования, учить студентов и развивать его идеи.

Наша кафедра придерживается тезиса, что биохимия является основой, царицей медицинских наук. Именно на биохимию опираются физиология — нормальная и патологическая, фармакология и клиническая лабораторная диагностика, а целый ряд врачебных специальностей (например, эндокринология, медицинская генетика и гепатология) фактически представляют собой прикладное воплощение биохимии. Конференция «Биохимия человека 2024», которую мы организуем в честь 100-летия со дня рождения Темирболата Берёзова, в полной мере отражает это видение. Нам хотелось бы, чтобы она стала площадкой, объединяющей исследователей в области «мокрой биологии» (биохимии в широком понимании) и врачей различных специальностей, интересующихся фундаментальными аспектами патогенеза заболеваний, механизмами действия лекарственных препаратов, прикладными аспектами молекулярной диагностики. Особый фокус мы уделили эндокринологии, онкологии и клинической лабораторной диагностике.

В процессе подготовки к конференции мы получили более 500 тезисов докладов, из которых отобрали лучшие и опубликовали в этом сборнике. Избранные нами материалы отражают высокий уровень научных исследований в области фундаментальной и прикладной биохимии, демонстрируют, что биохимия помогает решать важнейшую задачу сохранения здоровья людей. Уверен, что опубликованные в сборнике тезисы будут интересны и исследователям, и специалистам практического здравоохранения.

Вадим Покровский,
доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой биохимии им. Т.Т. Берёзова РУДН
заведующий лабораторией биохимических основ фармакологии
и опухолевых моделей НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина МЗ РФ





ВЛИЯНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО РАЗОБЩЕНИЯ НА УРОВЕНЬ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В ПРЕАДИПОЦИТАХ

Бойченко С.С., Бондарук А.А., Егоров А.Д.

Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Сочи

Недрожательный термогенез является одним из важных эволюционных приспособлений млекопитающих к холодовому стрессу. Процесс недрожательного термогенеза основан на выделении тепла за счет расщепления свободных жирных кислот и контролируется белком UCP1 (uncoupling protein 1, также известным как термогенин). Этот белок снижает протонный градиент в матриксе митохондрий, перенося протоны из межмембранного пространства в матрикс в обход АТФазы, что приводит к выделению тепла.

UCP1 высоко экспрессируется в бурой жировой ткани, однако исследования показывают, что при стимуляции экспрессии UCP1 в прогениторах белой жировой ткани белые адипоциты также приобретают способность к термогенезу, что может быть использовано в терапевтических целях для решения актуальных задач здравоохранения. Например, успешная стимуляция недрожательного термогенеза у пациентов с висцеральным ожирением, метаболическим синдромом или диабетом 2-го типа может способствовать уменьшению избыточного объема белой жировой ткани за счет генерации тепла. Однако с изменением протонного градиента в митохондриях существует риск изменения уровня окислительного стресса, связанного с изменением уровня генерации активных форм кислорода (АФК).

Нами был проведен эксперимент, в котором с использованием биосенсоров сравнивалась динамика изменений уровня АФК в преадипоцитах мыши 3T3-L1, в которых экспрессия UCP1 была стимулирована аденоассоциированными вирусными векторами (AAB), кодирующими различные транскрипционные регуляторы. Для сравнительного анализа был использован положительный контроль, представляющий собой клетки преадипоцитов, трансдуцированные AAB, экспрессирующими непосредственно UCP1. Следующим этапом была трансфекция клеток

3T3-L1 плазмидами, кодирующими биосенсоры го-GFP-Mito (для анализа динамики изменений АФК в митохондриях) и го-GFP (АФК в цитоплазме).

Нами было продемонстрировано, что повышение экспрессии UCP1 вследствие индукции PRDM16 и FOXP4 приводит к увеличению интенсивности флуоресценции го-GFP-Mito и сравнительному снижению интенсивности флуоресценции го-GFP. Из этого можно предположить, что процесс митохондриального разобщения приводит к росту уровня АФК в митохондриях и снижению уровня АФК в цитоплазме.

Источники финансирования: грант ОНГ Российского научного фонда и Кубанского научного фонда 22-14-20046. Исследование выполнено на базе Центра трансляционной медицины Университета Сириус.

АПТАСЕНСОР ДЛЯ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

Замай Г.С., Замай Т.Н., Лукьяненко К.А.

ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск

ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр СО РАН», Красноярск

Рак легкого — ведущая причина смертности от рака в мире как у мужчин [28%], так и у женщин [26%]. У подавляющего большинства пациентов с раком легкого диагноз ставится на поздних стадиях из-за отсутствия простых методов скрининга заболевания для ранней диагностики, что подтверждает важность выявления этого заболевания на ранних стадиях. Датчики на основе электрохимии зарекомендовали себя в качестве привлекательных инструментов для чувствительного определения белков и, следовательно, обладают потенциалом успешного применения для обнаружения биомаркеров опухоли в клинических образцах плазмы крови. Прямоугольная вольтамперометрия считается одним из самых передовых вольтамперометрических методов, она объединяет преимущества импульсных методов, циклической вольтамперометрии и импедансных методов; подходит для аналитических применений, механистического изучения электродных процессов и электрокинетических измерений.

В работе представлен электрохимический сенсор на основе аптамера для выявления биомаркеров рака легкого. Для получения аптасенсора высокоспецифичный ДНК-аптамер LC-18, отобранный к послеоперационным тканям рака легкого, был иммобилизован на золотом микроэлектроде. Электрохимические измерения проводились в растворе, содержащем окислительно-восстановительный маркер ферроцианид. Белковые мишени аптамера были получены из плазмы крови онкологических больных с помощью парамагнитных стрептавидиновых шариков. Для повышения чувствительности аптасенсора в методе сэндвич-детекции использовали магнитные шарики из оксида железа, покрытые кремнеземом, с привитыми гидрофобными алкильными группами C8 и C4. Добавление гидрофобных гранул увеличило предел

обнаружения в 100 раз. Предел обнаружения аптасенсора LC-18 с помощью гранул составил 0,023 нг/мл. Формирование сэндвича аптамер-белок-шарики на поверхности электрода было визуализировано с помощью электронной микроскопии.

Исследования показали, что электрохимический аптасенсор на основе аптамера LC-18 потенциально применим для обнаружения биомаркеров рака легкого в плазме крови у больных раком легкого.

Источники финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке Краевого государственного автономного учреждения «Красноярский краевой фонд поддержки научной и научно-технической деятельности», грант «Создание электрохимического аптасенсора для диагностики инфекционных и онкологических заболеваний» № 2023091509842 и при поддержке компании-партнера АО «НПП «Радиосвязь»».

МЕМБРАННЫЕ ТЕСТЫ: РАСШИРЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ИММУНОХИМИЧЕСКОЙ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ И КОНТРОЛЯ ДЛЯ ВНЕЛАБОРАТОРНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Жердев А.В., Сафенкова И.В., Дзантиев Б.Б.

ФГУ «ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Институт биохимии им. А.Н. Баха, Москва

Современное развитие диагностических средств характеризуется направленностью на децентрализацию тестирования, получение информации о наличии и уровне контролируемых соединений непосредственно на месте отбора проб, без обращения в специализированные лаборатории. Однако переход от отдельных успешных биосенсоров к массовому контролю широкого ряда анализов требует новых аналитических подходов. В докладе на примерах наших разработок рассмотрены возможности такого развития применительно к мембранным тест-полоскам, которые благодаря предварительной иммобилизации реагентов в определенных участках мультимембранных композитов и инициации всех аналитических взаимодействий движением проб вдоль мембран под действием капиллярных сил обеспечивают нетрудоемкое быстрое тестирование.

Применительно к иммунохимическому тестированию рассмотрены сочетания тест-систем с портативными фотометрическими детекторами для количественных измерений. Показаны возможности снижения пределов обнаружения при варьировании размеров и формы наночастиц-маркеров, переходе от окрашенных наночастиц (таких как коллоидное золото) к флуоресцентным (квантовые точки). Разработаны методики усиления с помощью агрегации функционализированных наночастиц, наращивания их размеров после комплексообразования, каталитической трансформации хромогенных субстратов. Высококочувствительное выявление специфических иммунных комплексов позволяет внелабораторно контролировать большое число диагностически значимых анализов в неинвазивно отбираемых пробах.

Применительно к молекулярно-генетическому тестированию предложены способы сочетания изотермических амплификаций (рекомбиназной и петлевой) с выявлением

образующихся ампликонов посредством их мечения наночастицами и формирования контролируемых окрашенных зон на тест-полосках. Разработаны методики мультитеплексного тестирования, сочетания амплификационных процессов с высокоселективным выявлением целевых нуклеотидных последовательностей с помощью CRISPR/Cas системы.

Наряду с контролем патогенов и биомаркеров заболеваний в организме человека мембранные тест-системы обеспечивают мониторинг безопасности продуктов питания, выявление в них токсичных и патогенных загрязнителей. Так, разработанные способы усиления сигнала позволяют снижать пределы обнаружения антибиотиков и их метаболитов в мясных продуктах на 1–2 порядка по сравнению с традиционной иммунохроматографией на основе коллоидного золота при 30–40-минутном полном цикле тестирования, включая пробоподготовку.

Источники финансирования. Работы выполняются при финансовой поддержке Российского научного Фонда, грант 24-16-00273.

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ АПТАСЕНСОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ И ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Кичкайло А.С.^{1,2}, Замай С.С.¹, Березовский М.В.³

¹ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр СО РАН», Красноярск

²ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск

³Университет Оттавы, Оттава, Канада

Электрохимические биосенсоры, сочетающие в себе высокую специфичность, чувствительность, оперативность и простоту применения, являются одним из наиболее простых методов диагностики. Они могут быть с успехом использованы для определения возбудителей инфекций, биомаркеров злокачественных новообразований, мониторинга противоопухолевого лечения и др. Наиболее перспективными и быстро развивающимися в настоящее время электрохимическими сенсорами становятся аптасенсоры, в которых роль молекулярных распознающих элементов обеспечивают аптамеры. Аптамеры — одноцепочечные ДНК/РНК олигонуклеотиды, связывающиеся с различными молекулярными мишенями с высокой аффинностью и специфичностью. Уникальные химические свойства аптамеров обусловлены высокой степенью гибкости короткоцепочечных нуклеотидов, формирующих структуры: петли, стебли, псевдоузлы, G-квадроплексы и шпильки, которые затем складываются с образованием более сложных третичных структур. Сложный фолдинг позволяет аптамерам специфически распознавать свои мишени, в том числе органические молекулы, белки, нуклеотиды, клетки, бактерии, токсины и вирусы. В работе исследована возможность электрохимического детектирования онколитических вирусов (вирус везикулярного стоматита, VSV), нейтрализующих их антител (nAbs), возбудителей сальмонеллеза *Salmonella enteritidis* и *S. typhimurium* и биомаркеров рака легкого. Для получения каждого аптасенсора использовали специфичные для детектируемой мишени аптамеры, выбранные методом SELEX. Для электрохимических измерений использовали электрохимическую станцию CH-660E (CH Instruments, Austin, TX, USA) и трехэлек-

тродную ячейку (золотой рабочий электрод, платиновый вспомогательный электрод и Ag/AgCl электрод сравнения). Регистрацию сигнала осуществляли методами циклической вольтамперометрии и дифференциальной импульсной вольтамперометрии.

Исследования показали, что аптасенсоры с различными распознающими элементами способны отличать интактные вирусы и микроорганизмы от инактивированных, различать *S. enteritidis* и *S. typhimurium* и определять их в биологических жидкостях, находить в крови онколитические вирусы и нейтрализующие их антитела (nAbs), а также выявлять биомаркеры немелкоклеточного рака легкого в плазме крови онкологических больных.

Таким образом, в работе принципиально показано, что электрохимический аптасенсор на основе высокоспецифичных к своим мишеням аптамеров является высокочувствительной платформой для диагностики инфекционных и онкологических заболеваний.

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЙ АПТАСЕНСОР ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ COVID-19

Коловская О.С.^{1,2}, Шабалина А.В.³, Светличный В.А.³, Замай С.С.¹

¹ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр СО РАН»

²ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск

³ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск

Введение. Пандемия COVID-19 подтвердила важность оперативного выявления вирусных возбудителей инфекций с высокой достоверностью и селективностью, что необходимо для мониторинга и предотвращения распространения инфекционных заболеваний. Одним из наиболее приемлемых для диагностики «у постели больного» инструментарием определения возбудителей инфекций являются электрохимические биосенсоры, которые сочетают в себе высокую специфичность, чувствительность, оперативность и простоту применения. Кроме того, их проще адаптировать к диагностическим устройствам и медицинским технологиям, уже применяемым по месту оказания медицинской помощи. Одним из наиболее перспективных и быстро развивающихся в настоящее время видов электрохимических биосенсоров являются аптасенсоры, в которых роль молекулярных распознающих элементов обеспечивают ДНК/РНК аптамеры.

Цель исследования. Оценить возможность электрохимического детектирования возбудителей COVID-19 в биологических образцах биосенсорами на основе ДНК-аптамеров и создать электрохимический аптасенсор данного заболевания на их основе.

Материалы и методы. Объектом исследования стали шиповидный S-белок RBD-домена коронавируса, искусственная слюна, мазки со слизистой оболочки ротоглотки здоровых людей и инфицированных COVID-19. Создание аптасенсора осуществляли путем формирования на золотой поверхности электрода монослоя из аптамеров Apt31. В качестве основных электрохимических методов были использованы циклическая вольтамперометрия и дифференциально-импульсная вольтамперометрия.

Результаты. Изучено изменение электрохимического сигнала аптасенсора на основе

аффинного к возбудителям коронавируса COVID-19 ДНК-аптамера Apt31 при связывании целевого S-белка RBD-домена. Проведена апробация аптасенсора на клинических образцах мазков со слизистой оболочки ротоглотки здоровых людей и инфицированных COVID-19. Наличие возбудителей COVID-19 в пробах подтверждено с помощью ПЦР-теста. Результаты исследований показали, что электрохимический аптасенсор на основе золотого электрода с активным сенсорным слоем на основе аптамера Apt31, специфичного к белку RBD уханьского штамма SARS-CoV-2, позволяет дифференцировать пробы мазков здоровых и больных COVID-19 пациентов в режиме дифференциальной импульсной вольтамперометрии.

Заключение. Электрохимический аптасенсор потенциально применим для определения возбудителей COVID-19 в биологических образцах (мазках со слизистой оболочки ротоглотки).

ЭЛЕКТРОКАТАЛИТИЧЕСКИЕ ЦИТОХРОМ Р450-СИСТЕМЫ: БИОСЕНСОРЫ И БИОРЕАКТОРЫ

Королёва П.И., Шумянцева В.В.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва

ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Цитохромы Р450 (Р450) — обширный класс гемопротеинов, относящихся к классу ферментов оксидоредуктаз и участвующих в первой фазе биотрансформации ксенобиотиков. Р450 также участвуют в биотрансформации стероидных гормонов, жирных кислот и других эндогенных соединений. Разнообразие субстратов и типов реакций, катализируемых Р450, делает их перспективными для создания биокатализаторов.

Электрохимические системы позволяют исследовать каталитические свойства цитохромов Р450 в режиме биосенсоров и биореакторов, исключая необходимость в воссоздании сложной электрон-транспортной цепи, состоящей из нескольких белков редокс-партнеров цитохрома Р450, поскольку электроны в электрохимических системах поступают с электрода непосредственно на активный центр фермента. Кроме того, использование графитовых электродов, производимых методом трафаретной печати («печатные электроды») обеспечивает взаимозаменяемость и миниатюризацию определения каталитической активности фермента. Биохимические процессы в клетке протекают в высоко концентрированной среде, содержащей белки, нуклеиновые кислоты, полисахариды и низкомолекулярные соединения. Моделирование клеточного окружения цитохрома Р450 может быть реализовано за счет помещения белка в ограниченное пространство, моделирующее молекулярный краудинг, для этого могут быть использованы краудинг-реагенты, или материалы, содержащие нанопоры. Также для иммобилизации на электроде могут быть использованы биотехнологические аналоги микросом — бактосомы, содержащие цитохром Р450 и его белки редокс-партнеры — НАДФН-зависимую цитохром Р450-редуктазу и цитохром b_5 .

Разработан метод иммобилизации бактосом, содержащих цитохром Р450 3А4, на печатном графитовом электроде (ПГЭ), модифицированным липидоподобным веществом дидодецилдиметиаммоний бромидом (ДДАБ), образующем на поверхности электрода пленку, схожую по структуре с биологическими мембранами.

Для исследования эффективности электрокаталитического процесса система с бактосомами, содержащими цитохром Р450 3А4, была протестирована на субстрате — макролидном антибиотике эритромицине, участвующем в реакции цитохром Р450 3А4-зависимого N-деметилирования.

Использование данного подхода позволило повысить каталитическую константу реакции цитохром Р450 3А4-зависимого N-деметилирования эритромицина с $0,28 \pm 0,06$ до $0,88 \pm 0,18$ мин⁻¹ при переходе от иммобилизации рекомбинантного фермента к бактосомам.

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период 2021–2030 годы (№122030100168-2).

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЙ СЕНСОР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АММИАКА ВО ВЛАЖНОМ ВОЗДУХЕ

Матьяш Е.В., Семенова Е.А., Приходько И.В., Ермаков С.С.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Институт химии, Санкт-Петербург

Основной проблемой, возникающей при использовании полупроводниковых сенсоров при определении аммиака во влажном, в том числе в выдыхаемом воздухе, является их перекрестная чувствительность к парам воды. С другой стороны, содержание аммиака в выдыхаемом воздухе служит важным диагностическим критерием для выявления целого ряда тяжелых заболеваний, таких, как хроническая почечная недостаточность и цирроз печени.

Для решения этой задачи предложен вольтамперометрический сенсор на основе сульфата меди(II), нанесенного на углеродный печатный электрод, покрытый полимером ЛФ-4ск. Работа сенсора основана на изменении тока осаждения — растворения меди на электроде при наложении циклической развертки потенциала за счет протекания реакции комплексообразования ионов меди(II) с аммиаком. При контакте продуваемого воздуха над поверхностью сенсора аммиак переходит в каплю воды, нанесенную на поверхность сенсора, и затем взаимодействует с ионами меди, что обуславливает получение аналитического сигнала.

Для физико-химического моделирования этой системы были проведены расчеты на основе равновесной модели жидкость-пар, а также найдены коэффициенты межфазного распределения аммиака в этой системе. Проведением вольтамперометрических и ионно-хроматографических измерений показано, что сенсор позволяет определять концентрации аммиака в воздухе на уровне 1,5 ppm.

КРЕМНИЕВЫЕ МИКРОИГЛЫ, ДЕКОРИРОВАННЫЕ НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА, ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ КЛЕТОК МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ ГИГАНТСКОГО КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ

Осминкина Л.А., Собина И.О., Первушин Н.В., Кудрявцев А.А., Елисеев А.А., Тюрин-Кузьмин П.А.
ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Москва

Введение. Современные биохимические исследования предъявляют все более высокие требования к точности и чувствительности методов анализа молекулярного состава клеток человека. Одним из перспективных подходов в этом направлении является использование для анализа метода спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния света (ГКР, SERS).

Цель исследования. В представленном исследовании основное внимание уделено разработке композитных материалов — кремниевых микроигл, декорированных наночастицами золота, для изучения биологических процессов на молекулярном уровне в отдельных раковых клетках с использованием метода ГКР.

Методика. Кремниевые микроиглы (SiMNs) изготавливали методом глубокого реактивного ионного травления на кремниевых подложках (c-Si), наночастицы золота восстанавливали из AuCl_3 на микроиглах для активации их ГКР-свойств.

Результаты. Раковые клетки MDA231 демонстрируют хорошую адгезию на $\text{Au}@\text{SiMNs}$. Электронные и оптические методы микроскопии показывают, что микроиглы прокалывают клетки, обеспечивая их надежную иммобилизацию. При этом клетки на микроиглах сохраняют жизнеспособность, что подтверждается анализом Live-Dead.

Спектры ГКР клеток, иммобилизованных на $\text{Au}@\text{SiMNs}$, позволяет изучать молекулярный состав клеточных структур на микроуровне. В спектрах наблюдаются характеристические пики, которые соответствуют колебательным и вращательным модам молекул в клетке. Показано, что использование спектроскопии ГКР позволяет также изучать изменения в спектрах клеток в ответ на различные биологические процессы или воздействия.

Заключение. Полученные в данном исследовании результаты могут стать решающими

в разработке инновационных методов для персонализированной медицины, позволяющих выбирать оптимальную диагностическую и терапевтическую стратегию для каждого пациента на основе анализа молекулярного состава и его изменений в клетках с помощью кремниевых микроигл и метода спектроскопии ГКР.

Источники финансирования. Исследование выполнено при поддержке программы развития Междисциплинарной научно-образовательной школы МГУ имени М.В.Ломоносова «Фотоника и квантовые технологии. Цифровая медицина».

ДНК БИОСЕНСОРЫ С ПРИМЕНЕНИЕМ НАНОМАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ С ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ПРЕПАРАТАМИ И БЕЛКАМИ

Пронина В.В.¹, Шумянцева В.В.^{1,2}

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Изучение особенностей и механизмов взаимодействия лекарственных средств и ДНК — важная часть рационального конструирования новых более эффективных лекарственных средств. Исследование взаимодействий ДНК-белок имеет решающее значение для понимания большинства биологических процессов, выявления белковых биомаркеров или мутаций ДНК, ответственных за развитие нарушений и заболеваний, а также для разработки передовых биоинженерных и биоаналитических методов. Доксорибуцин (DOX) — противоопухолевый антибиотик с широкой фармакологической активностью, используемый для лечения различных раковых заболеваний.

В работе исследован механизм взаимодействия двухцепочечной ДНК с новыми производными доксорибуцина (DOX, встроенный в фосфолипидные наночастицы NPh — DOX-NPh, модифицированный пептидом NGR) для адресной доставки лекарственных средств. На примере взаимодействия ДНК, выделенной из молок осетровых рыб, и бычьего сывороточного альбумина разрабатывается электрохимический метод исследования ДНК и белка. Электрохимические измерения проводили методом дифференциально-импульсной вольтамперометрии (ДИВА) в диапазоне потенциалов $+ (0,2 \div 1,2)$ В, регистрируя снижение пиковой интенсивности электроокисления гуанина (G), аденина (A) и тимина (T) ДНК в присутствии лекарства или белка. В работе используется печатный графитовый электрод, модифицированный углеродными нанотрубками. Электрохимическая активность белков связана с электроокислением их аминокислот. В диапазоне потенциалов $+ (0,5 \div 0,7)$ В происходит одновременное электроокисление гуанина, тирозина, триптофана

и цистеина, что отражается в увеличении и пиковой интенсивности гуанина. На основании изменения таких параметров, как смещение потенциалов окисления G, A, T и значений констант связывания был сделан вывод о механизме взаимодействия ДНК и лекарств. Влияние доксорибуцина и наноконпозиции доксорибуцина на ДНК подтверждает интеркаляционный способ связывания. Пептид NGR изменил способ взаимодействия в комплексах ДНК-лекарство с интеркаляцией на электростатический. Расчёт ДНК-опосредованного электрохимического коэффициента токсического действия показал, что DOX, NPh-DOX и NPh-DOX-NGR являются умеренно токсичными в диапазоне концентраций 0,5–290 мкМ.

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках проекта по созданию и развитию научных центров мирового уровня «Цифровой биодизайн и персонализированное здравоохранение» при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (соглашение № 075-15-2022-305).

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ДЕТЕКЦИИ РЕПЛИКАТИВНО-КОМПЕТЕНТНЫХ ВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ПЦР

Сироткина А.А., Коломийцева Д.Ю., Литвинова Н.А.

АО «Генериум», Владимирская обл., Петушинский район, пос. Вольгинский

С развитием технологий производства векторов для генной терапии требуется разработка более точных методик контроля качества. Один из важных критериев — биобезопасность. Несмотря на то, что аденоассоциированные вирусные частицы не являются патогенными, FDA [1] рекомендует проводить анализ препаратов на наличие реплицирующихся частиц. RCAAV представляют серьезный риск для безопасности препаратов генной терапии. Существующие методы детекции трудоемкие, имеют ограниченную чувствительность или не применимы для некоторых видов вирусов.

Разработанная нами методика основана на клеточном тесте с последующей детекцией продукта методом количественной ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ). Методика позволяет избирательно детектировать вирусные геномы, содержащие последовательности, необходимые для репликации вируса. Возможная репликация может происходить между плазмидами, необходимыми для сборки вируса, образуя структуру ITR-REP-CAP-ITR. Такая структура позволяет вирусу реплицироваться и собираться в вирусную частицу.

Цель работы — определить наличие рекомбинации, содержащей участок ITR-REP, как одну из значимых областей. Клеточный тест включает со-культивирование испытуемого образца (гААВ) с аденовирусом дикого типа в клетках НЕК293. На данном этапе происходит амплификация только RCAAV. По окончании инкубации клетки лизируют 3 циклами заморозки (–80°C) и нагрева (37°C). Выделенную ДНК из клеточных лизатов анализируют ПЦР-РВ по участку ITR-REP. Нами был разработан положительный контроль, содержащий фрагменты участка ITR-REP для детекции частиц с рекомбинацией.

Предлагаемая методика позволяет детектировать единичные частицы, образованные в результате негомологичной рекомбинации. Разработанная методика является количе-

ственной и достаточно чувствительной, что делает её перспективной для обеспечения безопасности биологических продуктов и мониторинга вирусной контаминации.

Литература

1. Research C for BE and. Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) Information for Human Gene Therapy Investigational New Drug Applications (INDs) [Internet]. FDA; 2020 [cited 2024 Jun 14]. Available from: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/chemistry-manufacturing-and-control-cmc-information-human-gene-therapy-investigation>

Источники финансирования: АО Генериум.

СОЗДАНИЕ РЕПОРТЕРНОЙ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ МСК ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ PIP3-СИГНАЛИНГА В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ

Федоровский А.П.¹, Волошин Н.С.¹, Карагяур М.Н.^{1,2}, Кулебякин К.Ю.^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биохимии и регенеративной биомедицины, Москва

²ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Институт регенеративной медицины, Медицинский научно-образовательный центр, Москва

Сигнальный путь фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) контролирует функционирование мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (МСК) посредством регуляции выживания, пролиферации, дифференцировки, миграции и секреции паракринных факторов. Однако в настоящее время не хватает удобных репортерных клеточных линий для изучения этого сигнального пути.

В данном исследовании мы получили иммортализованную теломеразой клеточную линию МСК человека, экспрессирующую генетически кодируемый флуоресцентный биосенсор на фосфатидилинозитол-3,4,5-трисфосфат (PIP3 — мембранный интермедиат PI3K сигнального пути). Этот сенсор сконструирован на основе домена плекстриновой гомологии тирозинкиназы Брутона и GFP (BTK-GFP). В базальном состоянии наибольшая интенсивность флуоресценции наблюдается в околоядерных областях клетки. При активации PIP3-сигналинга BTK-GFP связывается с PIP3, расположенным на мембране. Это приводит к значительному изменению флуоресцентной картины на более диффузную за счёт перераспределения сенсора. Для удобства регистрации сигнальных событий можно применять метод главных компонент к признакам текстуры и распределения интенсивности флуоресценции, извлечённым из последовательностей изображений клеток до и после гормональной стимуляции. Сравнивая полученные графики, можно сделать вывод о наличии или отсутствии активации PIP3-сигналинга.

Данная клеточная линия (МСК BTK-GFP) позволяет выявлять субпопуляции МСК со значительными различиями в гормональной чувствительности, регистрировать PIP3-сигналинг и его изменения как в базальном состоянии, так и при длительных процессах, таких как клеточная дифференцировка.

Стоит отметить, что BTK-GFP конкурирует за сайты связывания PIP3 с нижестоящими сигнальными эффекторами, что приводит к снижению адипогенному потенциалу МСК BTK-GFP, в то время как её остеогенный потенциал остается неизменным. Эту особенность можно использовать, чтобы избирательно выключить клеточный PIP3-сигналинг, избежав ограничений, присущих ингибиторному анализу и РНК-интерференции. В то же время, сниженный адипогенный потенциал может быть успешно восстановлен добавлением в культуральную среду индометацина.

Для экспериментов, направленных на изучение PIP3 сигналинга, мы рекомендуем использовать эту клеточную линию с относительно низким уровнем экспрессии BTK-GFP, чтобы свести к минимуму ослабление передачи сигналов от PIP3.

Источники финансирования. Программа НОШ МГУ имени М.В.Ломоносова, проект №23-SCH04-11

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКА МИКРОДИСТРОФИНА В ОТВЕТ НА ВНУТРИВЕННОЕ ВВЕДЕНИЕ ГЕНОТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ПРОТИВ МИОДИСТРОФИИ ДЮШЕННА

Юрченко Т.С., Коломийцева Д.Ю., Туркин А.В., Сироткина А.А., Казаров А.А., Борзов А.А., Овсепян А.А.

АО «Генериум», Владимирская обл., Петушинский район, пос. Вольгинский

Миодистрофия Дюшенна (МДД) — тяжелое генетически обусловленное заболевание. По разным источникам, заболеваемость МДД оценивается как 1:3500–6000 новорожденных мальчиков. Манифестация наступает в детском возрасте и без своевременного начала терапии приводит к тяжелой инвалидации. В портфеле зарубежной компании Sarepta Therapeutics (США) представлен широкий ассортимент препаратов против данного заболевания. В частности, получивший в июне 2023 г. одобрение FDA по процедуре ускоренной регистрации первый генотерапевтический препарат Элевидис.

Согласно стратегии по развитию фармацевтической промышленности до 2030 г. в России, в частности компанией АО «Генериум», активно ведутся разработки лекарственных препаратов, которые бы обеспечивали фармацевтический суверенитет страны и закрытие медицинских потребностей, в том числе в орфанном сегменте. После внутривенного введения препарата происходит доставка кодирующего белок микродистрофин (miDMD) гена в клетки мышечной ткани.

Основная цель данного исследования заключалась в разработке методики для количественной оценки уровня экспрессии белка miDMD в образцах мышечной ткани мышей mdx.

Мыши линии mdx имеют точечную спонтанную мутацию в экзоне 23 гена дистрофина и являются наиболее распространенной моделью мышечной дистрофии Дюшенна. Самцы мышей mdx были рандомизированы в 4 группы, в одной из которых вводили плацебо, а в трех других — возрастающие дозы лекарственного препарата. Гомогенизированные образцы мышечной ткани из бицепса, сердца и диафрагмы анализировали методом вестерн-блот. С использованием специального программного обеспечения были получены значения интенсивности окрашивания

полос на мембране после гибридизации с конъюгатом антител, специфичных к микродистрофину. Эмпирически данные проверяли на удовлетворение критериям нормальности и логнормальности. Выводы о зависимости содержания микродистрофина от дозы и от времени после инъекции делали на основании таких статистических инструментов как дисперсионный анализ, непараметрический тест Стьюдента.

Источники финансирования: АО «Генериум», 601125, Владимирская обл., Петушинский район, пос. Вольгинский, ул. Владимирская, 14.

ОСОБЕННОСТИ ЦЕРАМИДНОГО ПРОФИЛЯ ЖИРОВОЙ ТКАНИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛА И ВОЗРАСТА ПАЦИЕНТОВ С СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Белик Е.В., Дылева Ю.А., Учасова Е.Г., Груздева О.В.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово

Введение. Пол и возраст входят в большинство шкал оценки кардиоваскулярного риска, используемых в клинической практике. Известно, что мужчины до определенного возраста более предрасположены к развитию сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), чем женщины. Возраст является мощным показателем для прогнозирования риска в целом, но может ограничивать начало лечения у лиц молодого и среднего возраста. В то же время пожилые пациенты, напротив, могут иметь относительно низкий риск ССЗ. Для раннего выявления пациентов высокого риска и своевременной профилактики исследовали взаимосвязь уровней церамидов с полом и возрастом у пациентов с ССЗ.

Цель: изучить взаимосвязь церамидного профиля подкожной, эпикардальной, периваскулярной жировой ткани пациентов с ССЗ с полом и возрастом.

Материалы и методы. Спектр церамидов (Cer) в подкожной, эпикардальной, периваскулярной ЖТ (ПЖТ, ЭЖТ, ПВЖТ соответственно) пациентов с ССЗ [30 пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) и 30 пациентов с дегенеративными неревматическими приобретенными пороками сердца (ППС)] определен с использованием хромато-масс-спектрометрического комплекса высокого разрешения [жидкостной хроматограф серии Agilent 1200 («Agilent Technologies», Германия) с масс-спектрометрическим детектором «maXis impact» (Bruker, Германия)]. Биоптаты ПЖТ, ЭЖТ, ПВЖТ получены во время оперативного вмешательства. Статистический анализ результатов проводили в программе GraphPad Prism 8 (GraphPad Software).

Результаты. Выявлено повышение уровней церамидов с неблагоприятными сердечно-сосудистыми эффектами — Cer d18:1/16:0 в ПВЖТ мужчин и Cer d18:1/18:0 в ЭЖТ и ПВЖТ женщин. Пациенты 50–59 лет характе-

ризовались высокими уровнями Cer d18:1/18:0, 20:0 на фоне низких концентраций Cer d18:1/22:0, 26:0. У лиц более молодого возраста ЖТ подкожной и эпикардальной локализации была менее метаболически активна — наблюдались самые низкие уровни большинства изучаемых Cer. ЭЖТ лиц старше 60 лет характеризовалась увеличением содержания длинно- и очень длинноцепочечных Cer d18:1/22:0, 22:5, 23:0, 24:1 по сравнению с лицами 50–59 лет. Содержание церамидов, в состав которых входит остаток жирных кислот (ЖК) C16:0, C18:0, C20:0, C24:1 с неблагоприятными сердечно-сосудистыми эффектами, положительно коррелировало с возрастом, тогда как содержание церамидов с остатками длинно- и очень длинноцепочечных ЖК (Cer d18:1/22:0, Cer d18:1/24:0, Cer d18:1/26:0), обладающих кардиопротективными свойствами, отрицательно коррелировало с возрастом.

Заключение. Выявлены особенности содержания Cer в ЖТ в зависимости от пола и возраста пациентов с ССЗ. Полученные результаты свидетельствуют о модуляции синтеза церамидов факторами риска и накоплении церамидов преимущественно в ЖТ эпикардальной и периваскулярной локализации при ССЗ. Принимая во внимание широкий спектр их метаболических эффектов, использование церамидов в качестве биомаркеров и мишеней персонализированной терапии перспективно для выявления лиц высокого риска и улучшения лечебно-диагностических стратегий при ССЗ

Исследование выполнено за счет гранта Российской государственной научной программы № 22-15-20007 «Церамидный профиль локальных жировых депо сердца: клинико-патогенетическое значение и терапевтический потенциал» <https://rscf.ru/project/22-15-20007/> и средств Министерства науки и высшего образования Кузбасса.

СТИМУЛЯЦИЯ ПИРИДОСТИГМИНОМ ПАРАСИМПАТИЧЕСКОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ПРЕДОТВРАЩАЕТ РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ СОСУДОВ ЛЕГКИХ И СНИЖАЕТ КОНЦЕНТРАЦИЮ ОСНОВНОГО ФАКТОРА РОСТА ФИБРОБЛАСТОВ В КРОВИ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ТРОМБОЭМБОЛИЧЕСКОЙ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У КРЫС

Вахрушев Н.С., Карпов А.А., Галагудза М.М., Калинина О.В.

ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Введение. Хроническая тромбоэмболическая легочная гипертензия (ХТЭЛГ) — патологическое состояние, характеризующееся увеличением давления в легочной артерии вследствие обструкции легочных артерий и микрососудистого поражения. При этом резидуальная легочная гипертензия формируется у 31% пациентов после хирургического лечения, основной причиной этого считают дистальные поражения сосудов. Патогенез ХТЭЛГ изучен не до конца, определение роли вегетативной нервной системы позволит дополнить понимание патогенеза и определить новые терапевтические мишени.

Цель: исследовать влияние односторонней симпатической и парасимпатической денерваций, а также стимуляции парасимпатической нервной системы пиридостигмином на ремоделирование ветвей легочной артерии при формировании ХТЭЛГ у крыс.

Материалы и методы. Моделирование ХТЭЛГ на крысах линии Wistar было проведено с помощью многократной эмболизации дистальных ветвей легочной артерии микросферами на основе альгината натрия. На следующий день после последнего введения микросфер все животные были разделены на пять групп: здоровые животные, контрольная ХТЭЛГ, ХТЭЛГ+симпатикотомия, ХТЭЛГ+ваготомия, ХТЭЛГ+пиридостигмин (ингибитор ацетилхолинэстеразы). Через 6 нед после хирургического вмешательства производилась катетеризация сердца с манометрией, гистологическое исследование легких и оценка концентрации в плазме крови основного фактора роста фибробластов (FGFb) — профибротического фактора.

Результаты. По данным катетеризации сердца с манометрией систолическое давление в правом желудочке было выше в группе ХТЭЛГ по сравнению с группой здоровых животных.

Значимых различий между опытными группами (ХТЭЛГ, ХТЭЛГ+симпатикотомия, ХТЭЛГ+ваготомия, ХТЭЛГ+пиридостигмин) выявлено не было. В ходе гистологического исследования было проанализировано 439 сосуда, относящихся к ветвям легочной артерии. Индекс гипертрофии сосудистой стенки в группе ХТЭЛГ был значимо выше, чем в группе здоровых животных ($69,3 \pm 14,9$ vs $51,9 \pm 13,5$). При этом симпатикотомия ($47,5 \pm 17,5$) и введение пиридостигмина ($55,6 \pm 19,2$) снижали выраженность ремоделирования сосудистой стенки. Вагусная денервация не имела значимого эффекта на индекс гипертрофии сосудистой стенки. По данным иммуноферментного анализа в плазме крови крыс отмечалось значимое уменьшение уровня FGFb в группах ХТЭЛГ+симпатикотомия и ХТЭЛГ+пиридостигмин по сравнению с группой ХТЭЛГ.

Заключение. Проведенное нами исследование дополняет патогенез ХТЭЛГ, благодаря чему возможно определить новые терапевтические мишени для профилактики и лечения данной патологии. Назначение пиридостигмина пациентам с формирующимся ХТЭЛГ может улучшить исход заболевания и повысить их уровень жизни.

БИОМАРКЕРЫ НИТРОЗАТИВНОГО СТРЕССА ПРИ ВЕНОЗНОМ ТРОМБОЗЕ

Короткова Н.В., Калинин Р.Е., Сучков И.А., Мжаванадзе Н.Д.

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Рязань

Введение. Нитрозативный стресс (НС) является составляющим звеном в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний. В результате выработки избыточных количеств оксида азота (II) образуются токсичные продукты, влияющие на структуру белков, при этом в сыворотке крови можно определить такие показатели, как нитротирозин (НТ), битирозин (БТ), метаболиты оксида азота. Венозный тромбоз является одним из основных осложнений сердечно-сосудистых заболеваний, и по статистике находится на третьем месте после (ИБС) и ишемического инсульта. Высока частота венозных тромбоэмболических осложнений, потенциально опасных для жизни. Венозный тромбоз протекает на фоне гиперкоагуляции, замедления кровотока, поражения венозной стенки и нарушения адгезивной функции белков.

Цель исследования — изучение маркеров нитрозативного стресса — метаболитов оксида азота, НТ, БТ в сыворотке крови пациентов с венозным тромбозом.

Материалы и методы. Объектом исследования стали 30 пациентов с венозным тромбозом, в контрольную группу вошли 30 доноров. Материалом для исследования послужила сыворотка крови. Метаболиты оксида азота определяли по методу В.А. Метельской. Образование БТ регистрировали по интенсивности флуоресценции в фосфатном буфере. Количественное определение НТ проводили с использованием конкурентного ИФА.

Результаты. Выявлено разнонаправленное изменение концентрации маркеров нитрозативного повреждения: статистически значимое увеличение метаболитов оксида азота (II), снижение НТ на 10%, не изменённый уровень БТ по сравнению со здоровыми донорами. Повышение метаболитов NO рядом авторов рассматривается, как компенсаторный процесс в ответ на НС. НТ образуется при реакции пероксинитрита с тирозином, входящим в состав белков, и является мар-

кером генерации активных форм азота при патологии. Большее количество НТ преобразуется в 3,3-дитирозин (БТ), синтез которого превышает синтез НТ при долгосрочном действии активных форм азота (АФА). С другой стороны, НТ может быть показателем изменения адгезивной функции эндотелия в результате модификации белковых молекул. В настоящее время исследователи отмечают как повышение, так и снижение содержания НТ у пациентов с различной патологией по сравнению с контролем.

Выводы. Острый венозный тромбоз ассоциирован с изменением концентрации биомаркеров нитрозативного стресса, что свидетельствует о вовлеченности системы оксида азота в патогенез заболевания. Раскрытие механизмов изменения уровня НТ требует дальнейшего изучения.

Источники финансирования: ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

ИНТЕРЛЕЙКИН-33 КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ МАРКЕР АТЕРОСКЛЕРОЗА

Саранчина Ю.В., Дутова С.В., Килина О.Ю.

ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова», Абакан

Одна из актуальных проблем современной медицины — изучение процесса дестабилизации атеросклеротической бляшки, приводящего к развитию осложнений сердечно-сосудистых заболеваний.

Цель исследования — изучение уровня интерлейкина-33 (ИЛ-33) в разных типах бляшек.

Было обследовано 15 пациентов с диагнозом «облитерирующий атеросклероз брахиоцефальных артерий», проходивших лечение в сосудистом отделении ГБУЗ РХ «Республиканская клиническая больница им. Г.Я. Ремишевской», из них 7 женщин и 8 мужчин. Средний возраст обследуемых — $71,0 \pm 7,2$ года. Верификация диагноза проводилась с помощью УЗИ и СКТ. Бляшки были разделены на два типа: стабильные — гомогенные гиперэхогенные ($n=7$) и нестабильные (осложненные) — гетерогенные гипоехогенные кальцинированные ($n=8$). Всем пациентам была проведена эндартерэктомия. Отбор образцов крови проводился до операции. Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией и получило положительное заключение этического комитета ХГУ им. Н.Ф. Катанова (г. Абакан, 27.01.2017, протокол №5). Уровень ИЛ-33 определяли методом ИФА с помощью наборов фирмы eBioscience (Австрия) в сыворотке крови и ферментном гомогенате бляшки. Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 8.0. Количественные показатели представлены в виде медианы и квартилей. Для сравнения групп использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Коэффициент корреляции рассчитывали с помощью критерия Кендала. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Установлено, что сывороточный уровень ИЛ-33 в крови пациентов со стабильными и нестабильными бляшками не имел статистически значимых различий и составил 8,96 [8,86; 9,39] пг/мл и 9,25 [9,11; 9,34] пг/

мл соответственно ($p=0,575$). Содержание ИЛ-33 в гомогенате нестабильной бляшки было статистически значимо выше, чем в стабильной ($p=0,004$): 233,82 [178,98; 280,45] пг/мл и 19,65 [10,71; 50,87] пг/мл соответственно. Коэффициент корреляции Кендала, рассчитанный для анализа связи между типом бляшки и уровнем ИЛ-33 в сыворотке крови и гомогенате бляшки, составил $r=0,164$ ($p=0,457$) и $r=0,716$ ($p=0,001$) соответственно. Следовательно, между типом бляшки и уровнем ИЛ-33 в ее гомогенате выявлена прямая высокой силы связь.

Таким образом, было выявлено, что уровень ИЛ-33 прямо пропорционально возрастает по мере прогрессирования развития бляшки и может служить маркером ее дестабилизации.

РОЛЬ НЕСТИН-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК В РЕГЕНЕРАТИВНЫХ ПРОЦЕССАХ ПОЧКИ ПРИ ОБСТРУКТИВНОЙ НЕФРОПАТИИ

Абрамичева П.А.¹, Андрианова Н.В.¹, Певзнер И.Б.^{1,2}, Зорова Л.Д.^{1,2}, Соколов И.А.^{1,3}, Зоров Д.Б.^{1,2}, Плотников Е.Ю.^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Москва

²ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва

³ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева», Москва

Исследование регенерации почки за счет резидентных прогениторных клеток и процесса дедифференцировки клеток нефрона является активно развивающейся областью фундаментальной медицины в силу сохраняющейся актуальности лечения и предотвращения почечных патологий. Изучение различий в регенеративном потенциале почки, обусловленных полом, также представляет интерес для разработки адекватной терапии нефропатий. Нестин является одним из конвенциональных маркеров дедифференцировки тубулярного эпителия.

Цель работы — выяснение роли нестин-положительных клеток в регенеративных процессах почки в модели унилатеральной обструкции мочеточника.

Исследование было проведено на самцах и самках трансгенных мышей, несущих GFP под промотором гена нестина. Мыши были подвергнуты обструкции левого мочеточника продолжительностью 3 и 7 сут. Распределение нестин+ клеток было проанализировано с помощью конфокальной микроскопии срезов почки, а тотальное количество GFP и экспрессирующих его клеток — с помощью ПААГ-электрофореза и *in vivo* имаджинга.

Наблюдалось увеличение содержания нестин+ клеток в коре почки при моделировании обструкции, которое было прямо пропорционально длительности пережатия мочеточника. При разных сроках обструкции у самок увеличение количества нестин+ клеток в коре почки происходило более интенсивно, чем у самцов. Кроме того, содержание нестин+ клеток в почке было изначально выше у интактных самок по сравнению с самцами. Аналогичные результаты были получены и для тотальной экспрессии GFP. С помощью *in vivo* имаджинга было показа-

но значительное увеличение экспрессии нестин+ клеток в обструктивных почках по сравнению с контралатеральными у одних и тех же животных.

Таким образом, мы впервые продемонстрировали особенности распределения нестин+ клеток в различных зонах обструктивной почки и более высокий регенеративный потенциал почек самок.

Источники финансирования. Грант РНФ 21-75-30009.

ИЗУЧЕНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ГИДРОКСИЦИТРАТА ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ И ГЕНТАМИЦИН-ИНДУЦИРОВАННОМ ОСТРОМ ПОЧЕЧНОМ ПОВРЕЖДЕНИИ

Андрианова Н.В.¹, Ляо С.², Брезгунова А.А.¹, Черкесова К.С.³, Зорова Л.Д.¹, Семенович Д.С.¹, Буян М.И.², Бочарников А.Д.², Певзнер И.Б.¹, Якупова Э.И.¹, Плотников Е.Ю.¹

¹ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Москва

²ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва

³ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Биологический факультет, Москва

Ограничение калорийности питания является терапевтическим подходом, который снижает тяжесть ряда заболеваний, в том числе острого почечного повреждения (ОПП). В связи с этим как перспективная группа веществ для лечения ОПП рассматриваются фармакологические миметики ограничения питания, в частности, гидроксицитрат. Гидроксицитрат является ингибитором АТФ-цитратлиазы, за счет чего воздействует на метаболизм клеток схожим с ограничением питания образом.

Целью данной работы было исследование эффектов гидроксицитрата при ОПП, вызванном разными повреждающими факторами, и выявление возможных молекулярных механизмов действия данного соединения. Поскольку среди причин развития ОПП наиболее частыми являются нефротоксичность, вызванная лекарственными препаратами, и ишемия с последующей реперфузией, моделировались именно данные патологические состояния. Эксперименты проводились как на культурах эпителиальных клеток почки MDCK и NRK-52E, так и на самцах крыс. Анализировалось влияние гидроксицитрата на толерантность клеток почки к ишемическому и токсическому повреждению, а также его эффекты на процессы аутофагии, состояние митохондрий и уровень окислительного стресса.

В ходе экспериментов было показано, что введение крысам гидроксицитрата в течение 6 нед до нефротоксического повреждения гентамицином значительно уменьшала тяжесть ОПП у крыс. Кроме того, применение гидроксицитрата снижало воспалительный ответ в почке, а у эпителиальных клеток почки

in vitro приводило к повышению жизнеспособности. Было показано, что гидроксицитрат активировал процесс аутофагии в клетках почки, улучшал функционирование митохондрий и уменьшал уровень окислительного стресса. Аналогичные эксперименты были проведены при ишемическом повреждении, и выявлено, что гидроксицитрат увеличивает жизнеспособность клеток почки как в нормальных условиях, так и в условиях ишемии. Таким образом, были выявлены защитные эффекты гидроксицитрата как на клетки почки *in vitro*, так и у крыс при ОПП.

Мы предполагаем, что действие гидроксицитрата реализуется, в частности, через активацию процесса аутофагии, биогенез и повышение трансмембранного потенциала митохондрий, а также за счет снижения окислительного стресса.

В ходе дальнейших исследований планируется выявить оптимальные дозы и сроки введения гидроксицитрата для достижения максимальных положительных эффектов на ткань почки и организм в целом, что позволит приблизиться к клиническому применению данного вещества.

Источники финансирования. Работа поддержана грантом РНФ 21-75-30009.

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ СИНАПТАМИДА ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ОСТРОМ ПОЧЕЧНОМ ПОВРЕЖДЕНИИ И ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ GPR110

Брезгунова А.А.^{1,2}, Андрианова Н.В.², Саидова А.А.³, Поташникова Д.М.³, Абрамичева П.А.², Манских В.Н.², Марьясина С.С.^{4,5,6}, Певзнер И.Б.^{2,7}, Зорова Л.Д.^{2,7}, Манжуло И.В.⁸, Зоров Д.Б.^{2,7}, Плотиных Е.Ю.^{2,7}

¹ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва

²ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Москва

³ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Биологический факультет, Москва

⁴ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Химический факультет, Москва

⁵ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Факультет фундаментальной медицины, Москва

⁶ФГАОВУ «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Научно-образовательный ресурсный Центр «Фармация», Москва

⁷ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва

⁸ФГБУН «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» ДВО РАН, Владивосток

Острое почечное повреждение (ОПП) — патологическое состояние, характеризующееся быстрым развитием дисфункции почек и высокой вероятностью осложнений в отдаленном периоде. Поскольку в данный момент отсутствует эффективная патогенетическая терапия данной патологии, ее поиск очень актуален. Так как одним из основных механизмов, вовлеченных как в развитие ОПП, так и в восстановление органа после повреждения, является воспаление, потенциальным терапевтическим подходом считается снижение чрезмерной воспалительной реакции. Одним из веществ, предположительно способных снизить воспаление в ткани почки при повреждении, является производное докозагексаеновой кислоты, синаптамид, который демонстрировал защитные и противовоспалительные свойства при повреждении мозга.

В данной работе самцам крыс проводились подкожные инъекции синаптамида в дозе 10 мг/кг в течение 7 дней, а на 5-й день терапии моделировалась ишемия/реперфузия (И/Р) почки. Оценивались эффекты синаптамида на экспрессию генов, ассоциированных с воспалением, инфильтрацию разных популяций лейкоцитов, тяжесть ОПП, а также экспрессию предполагаемого рецептора синаптамида GPR110.

Было показано, что терапия синаптамидом снижала экспрессию мРНК и уровень провоспалительных цитокинов в ткани почки на фоне

И/Р. Кроме того, лечение синаптамидом снижало И/Р-индуцированное повышение экспрессии маркера лейкоцитов CD45, а также влияло на представленность различных популяций макрофагов в почке. Инфильтрацию лейкоцитов оценивали с помощью гистологического окрашивания и выявили тенденцию к снижению количества нейтрофилов при терапии синаптамидом. На фоне введения синаптамида показано повышение экспрессии рецептора GPR110, через который предположительно действует исследуемое вещество.

Для более точной характеристики мы оценили экспрессию GPR110 и TNF-α в CD11b/c⁺-клетках почки, представленных нейтрофилами и макрофагами, и в мононуклеарах периферической крови. Мы обнаружили, что при И/Р и терапии синаптамидом повышалась экспрессия GPR110 и снижалась экспрессия TNF-α в CD11b/c⁺-клетках.

Таким образом, был выявлен значительный противовоспалительный эффект терапии синаптамидом на фоне ишемического ОПП, который предположительно реализуется через рецептор GPR110 на нейтрофилах. Требуется проведение дополнительных экспериментов по поиску оптимальных схем введения синаптамида, которые будут эффективно снижать тяжесть ОПП.

Источники финансирования. Работа поддержана грантом РНФ 21-75-30009.

КОНЕЧНЫЕ ПРОДУКТЫ ГЛИКИРОВАНИЯ В ОЦЕНКЕ РИСКА СМЕРТИ У ПАЦИЕНТОВ С ТЕРМИНАЛЬНОЙ СТАДИЕЙ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК

Комарова М.В.¹, Коновалова Д.Ю.², Лебедев П.А.², Корнилин Д.В.¹

¹ФГАОУ ВО «Самарский национальный исследовательский университет им. акад. С.П. Королева», Самара

²ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара

Конечные продукты гликирования (КПГ) — соединения, образуемые вследствие неферментативного присоединения углеводов к белкам, жирам, нуклеиновым кислотам. Образование и накопление КПГ в тканях отражает процессы старения и некоторые заболевания, такие как сахарный диабет, ишемическую болезнь сердца, хроническую болезнь почек (ХБП). Элиминация КПГ осуществляется почками, поэтому при их патологии происходит накопление данных продуктов. КПГ аккумулируются в различных тканях, в том числе в коже. Многие из продуктов КПГ способны к флуоресценции. На этом основан подход к изучению аутофлуоресценции кожи (АФК) для оценки содержания в ней КПГ. Метод неинвазивный, быстровыполнимый, не требующий высокой квалификации оператора. Однако коммерческих ридеров АФК в РФ в настоящее время нет.

Оригинальный прибор для оценки АФК (ридер) разработан коллективом кафедры лазерных и биотехнических систем Самарского университета им. академика С.П. Королева.

Цель работы. Определить возможности конечных продуктов гликирования, оцениваемых по АФК, для прогнозирования риска смерти больных ХБП в терминальной стадии.

Объект исследования: 88 больных с терминальной почечной недостаточностью 5-й стадии, находящихся на программном гемодиализе на протяжении $7,7 \pm 5,6$ лет ($M \pm SD$). Средний возраст больных $58,0 \pm 13,8$ лет, от 23 до 80 лет, 47 мужчин и 41 женщина.

Дизайн: проспективное исследование.

Методы: общеклинические, биохимические и оценка АФК с помощью оригинального ридера. Ридер представляет собой флуориметр, соединенный с компьютером. Методика получения параметра АФК состоит в последовательной аппликации внутренней

поверхности предплечья на верхнюю панель прибора с облучением различных локусов трижды и усреднения полученных значений флуоресценции.

Результаты. Период наблюдения от измерения АФК до фиксации исхода составил в среднем $45,1 \pm 13,7$ мес (15–65 мес). Умерло 38 человек. Установлен более высокий базовый уровень АФК у впоследствии умерших пациентов: $6,92 \pm 0,97$ отн.ед. против $5,71 \pm 1,29$ отн.ед. у выживших ($p < 0,001$). Отношение шансов (ОШ) для риска смерти в одномерной логистической регрессии составило 3,80 (95% ДИ: 2,47–5,85) ($p < 0,001$). В многомерной модели, включающей помимо АФК еще три предиктора (концентрацию альбумина и СРБ в сыворотке крови и активность щелочной фосфатазы), ОШ для АФК составило 3,07 (95% ДИ: 1,58–6,00), что отражает вклад КПГ в риск смерти.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ ПОЧКИ К ИШЕМИЧЕСКОМУ ПОВРЕЖДЕНИЮ ПРИ ОГРАНИЧЕНИИ ПИТАНИЯ: ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТА

Плотников Е.Ю., Андрианова Н.В., Певзнер И.Б., Зорова Л.Д., Зоров Д.Б.

ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Москва

Ограничение питания (ОП) является одним из наиболее эффективных подходов, предотвращающих старение и облегчающих возрастные заболевания, в частности ишемическое повреждение почек. Однако в большинстве работ, исследующих нефропротекторные эффекты ОП, в качестве модельных организмов используются молодые животные, хотя больные с почечной недостаточностью, в основном, бывают пожилыми людьми, и молекулярные механизмы повреждения и защиты почечной ткани у таких пациентов могут значительно отличаться.

Целью данной работы было сравнение механизмов повреждения почки при ишемии у старых и молодых крыс и оценка возможности повышения ишемической толерантности почки за счет кратковременного (4–8 недель) ограничения рациона питания крыс.

Главным результатом работы стало доказательство того, что у молодых крыс после ОП повышается ишемическая толерантность почки. После 4-недельного ОП постишемическое повышение креатинина и мочевины у молодых крыс было вдвое ниже, чем у крыс, питавшихся *ad libitum*. Однако у старых крыс достоверного снижения данных маркеров не наблюдалось даже при 8-недельном ОП, что свидетельствует о потере общего нефропротекторного эффекта ОП в процессе старения. Регенерацию почки после повреждения оценивали по количеству маркера пролиферации PCNA, уровень которого у молодых крыс увеличился после ишемии в 19 раз, тогда как у старых — только в 4 раза. Наблюдалось и увеличение содержания в почечной ткани белка Bcl-XL, что может свидетельствовать о повышении толерантности клеток к апоптозу. У молодых крыс после ОП значимо возрастало соотношение LC3 II/LC3 I, характеризующее активность аутофагии, тогда как у старых животных такой активации аутофагии не происходило. При этом ОП приводило

к увеличению числа митохондрий с более высоким мембранным потенциалом, что может указывать на улучшение контроля качества митохондрий. Кроме того, у молодых животных в почках наблюдалось увеличение биогенеза митохондрий и уровня митохондриальной деацетилазы SIRT-3. В почках старых крыс наблюдался более интенсивный окислительный стресс, оцененный по флуоресценции зондов DCF и BODIPY, а также уровню карбонилированных белков. При этом ОП значительно снижало эти показатели и у молодых, и у старых животных.

Таким образом, выявлена связь между снижением нефропротекторных эффектов ОП при старении и ухудшением работы системы ауто- и митофагии, приводящим к дисфункции митохондрий, окислительному стрессу и острому почечному повреждению.

Источники финансирования. Работа поддержана грантом РНФ 21-75-30009.

ПРОТЕАЗНЫЙ ПРОФИЛЬ АТИПИЧНЫХ ТУЧНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ПРИ СИСТЕМНОМ МАСТОЦИТОЗЕ

Атякшин Д.А.¹, Костин А.А.^{1,2}, Гривцова Л.Ю.², Бухвалов И.Б.^{1,3}, Тиманн М.³

¹ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, Обнинск

³Институт гематопатологии Гамбурга, Гамбург, Германия

Тучные клетки (ТК) — уникальные иммунокомпетентные клетки, обладающие обширным потенциалом к биогенезу и таргетной секреции медиаторов с высокой биологической активностью к различным клеточным и экстрацеллюлярным мишеням. Одним из ключевых компонентов секреторного фенотипа ТК являются специфические протеазы — триптаза (Tr), химаза (Ch) и карбоксипептидаза АЗ (CPA3), выполняющие многогранные функции в регуляции как иммунного, так и стромального ландшафта тканевого микроокружения. Протеазный профиль ТК служит информативным критерием, отражающим биологические особенности органоспецифической популяции. Хотя повышение количества ТК в костном мозге представляет один из объективных признаков мастоцитоза, детальная оценка механизмов биогенеза и секреторных путей протеаз до сих пор не проводилась.

В настоящем исследовании впервые выполнен анализ экспрессии протеаз ТК костного мозга у пациентов с системным мастоцитозом с помощью различных дизайнов мультиплексного иммуногистохимического окрашивания, позволяющих реализовать пространственное профилирование ТК с фенотипами Tr⁺Ch⁺CPA3⁺, Tr⁺Ch⁺CPA3⁺, Tr⁺Ch⁺CPA3⁻, Tr⁺Ch⁺CPA3⁻, Tr⁺Ch⁺CPA3⁺, Tr⁺Ch⁺CPA3⁻ и картированием иммунного и стромального ландшафта.

Получены данные о внутриклеточной локализации протеаз в ТК костного мозга человека при системном мастоцитозе. Заболевание в зависимости от течения характеризуется формированием определенных профилей специфических протеаз в морфологических вариантах атипичных ТК. Выявлено экстрагранулярное накопление триптазы, химазы и карбоксипептидазы АЗ в цитоплазме при гипохромном фенотипе

атипичных ТК. Пространственное профилирование специфических протеаз ТК при системном мастоцитозе выявило существенные отличия их интеграции в иммунный и стромальный ландшафт костного мозга, в т.ч. взаимодействие с субпопуляциями Т- и В-лимфоцитов, плазматическими и дендритными клетками, макрофагами 1-го и 2-го типов, CD31- и αSMA-позитивными клетками. Характеристики экспрессии протеаз ТК при мастоцитозе, биоинформационный анализ результатов фенотипирования ферментов в ландшафте тканевого микроокружения и детекция мишеней направленной секреции позволяют раскрыть новые фундаментальные аспекты онкогенеза с учетом данных пространственной протеомики и интерактомики.

Идентификация молекулярных механизмов развития заболевания на основе гистотопографического фенотипирования специфических протеаз ТК может быть использована для уточнения классификации мастоцитоза, повышать объективность прогнозирования течения заболевания и улучшать эффективность проводимой терапии.

ВЗАИМОСВЯЗЬ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ В МИТОХОНДРИЯХ СЕРДЦА КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Бадун Е.Г.

ГП «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси», Гродно, Республика Беларусь

Цель работы: проследить взаимосвязь микроэлементов в митохондриях и ферментов антиоксидантной системы в сердце крыс при хронической алкогольной интоксикации (ХАИ).

Материалы и методы исследования. Эксперименты выполнены на крысах-самках линии Wistar с массой тела в начале эксперимента $182 \pm 1,94$ г, содержащихся в стандартных условиях вивария на стандартном рационе питания. Все животные были разделены на 2 группы: группа контроля, $n=10$ — интактные животные, не подвергавшиеся алкогольной интоксикации, получавшие в качестве питья воду на протяжении всего эксперимента; группа ХАИ, $n=10$ — животные получали в качестве единственного источника питья 20% водный раствор этанола на протяжении 28 недель эксперимента. Элементный анализ митохондрий сердца выполнен методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной (аргоновой) плазмой (NexION2000B, PerkinElmer, США).

Результаты и обсуждение. На фоне ХАИ в митохондриях миокарда установлено повышение содержания кальция в 1,9 раза и значительное увеличение концентрации редокс-активных металлов: железа (на 58,2%) и меди (на 33,5%). Кроме того, избыточное накопление железа в миокарде (на 14,8%) может влиять на концентрацию митохондриального марганца, уровень которого в митохондриях снизился на 26%. Снижение содержания марганца может привести к митохондриальной дисфункции из-за потери активности митохондриальной марганец-зависимой супероксиддисмутазы, фермента, защищающего митохондрии от свободных радикалов. Действительно, активность митохондриальной марганец-зависимой супероксиддисмутазы снизилась на 56,2%. Как следствие, в миокарде при ХАИ наблю-

дается снижение активности цитоплазматической супероксиддисмутазы 1 на 22,2%, глутатионпероксидазы в гомогенате — на 18,9% и повышение содержания продуктов перекисного окисления липидов на 44,1% в сравнении с контрольной группой.

Закключение. Выявленные нарушения уровней отдельных элементов (Ca, Fe, Cu, Mn) в миокарде и митохондриях миокарда при хронической алкогольной интоксикации, вероятно, связаны с дальнейшим развитием каскадов неблагоприятных метаболических эффектов, так как исследованные элементы прямо влияют на работу антиоксидантной защиты, что доказывает их значимость в патогенезе ХАИ и митохондриальной дисфункции.

ОСОБЕННОСТИ АМИНОКИСЛОТНОГО ПРОФИЛЯ ПЛАЗМЫ ПУПОВИННОЙ КРОВИ У НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ С НЕКРОТИЗИРУЮЩИМ ЭНТЕРОКОЛИТОМ

Винель П.К.¹, Синицкий А.И.¹, Шатрова Ю.М.¹, Царева В.В.²

¹ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск

²ГАУЗ «Челябинская областная детская клиническая больница», Челябинск

Некротизирующий энтероколит (НЭК) — тяжелое заболевание новорожденных, поражающее преимущественно глубоко недоношенных детей. Учитывая ряд ограничений при ранней диагностике НЭК, ведется поиск биомаркеров, пригодных для прогноза и ранней диагностики НЭК. Одной из перспективных групп таких биомаркеров является пул свободных аминокислот пуповинной крови.

Цель работы — выявление изменений аминокислотного спектра плазмы пуповинной крови, предшествующих развитию некротизирующего энтероколита у глубоко недоношенных детей.

Методы. Исследование проведено в период с июня 2023 г. по май 2024 г. Пуповинную кровь получали при физиологических и оперативных родах глубоко и крайне недоношенных новорожденных гестационного возраста 32 недели и менее с учетом информированного согласия матери и отсутствия стандартных противопоказаний, а также критериев невключения/исключения. Дети наблюдались от момента рождения до выписки. Диагноз НЭК устанавливался при выявлении лабораторных признаков системного воспалительного ответа в сочетании с клиническими данными и данными инструментальных методов. Определение концентрации аминокислот плазмы пуповинной крови производилось методом капиллярного электрофореза. По результатам наблюдения за пациентами и диагностики НЭК ретроспективно было сформировано 2 группы: группа сравнения — глубоко недоношенные новорожденные, у которых в течение всего периода наблюдения не развивался НЭК ($n=10$), и 2-я — пациенты с НЭК (основная группа, $n=5$).

Результаты. Исследуемые группы были сопоставимы по массе тела, оценке по шкалам

Апгар и Баллард при рождении. В основной группе в течение двух недель от рождения был диагностирован НЭК I–III стадий. Развитию НЭК предшествует снижение общего уровня протеиногенных аминокислот плазмы пуповинной крови на 13,9% ($p=0,019$). Прежде всего, это касается показателей аргинина и пролина (на 36,2 ($p=0,008$) и 32,8% ($p=0,028$) соответственно), лейцина и изолейцина (41,8 ($p=0,030$) и 36,9% ($p=0,005$) соответственно), триптофана (на 35,5% ($p=0,019$)). Менее выраженным, но статистически значимым было снижение содержания метионина (на 28,0% ($p=0,028$)), серина (на 24,1% ($p=0,013$)), фенилаланина (на 15,8% ($p=0,040$)).

Закключение. Сопоставляя полученные данные с результатами других исследователей, можно предположить, что нарушения биосинтеза и/или трансплацентарного переноса аминокислот (прежде всего, аргинина и аминокислот с разветвленным углеводородным радикалом) могут рассматриваться как одно из важных звеньев патогенеза НЭК.

Источники финансирования. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-25-10079, <https://rscf.ru/project/23-25-10079>.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ВОЗРАСТ-АССОЦИИРОВАННОГО КОГНИТИВНОГО СНИЖЕНИЯ И ДЕМЕНЦИИ

Грядун Д.А.¹, Иконникова А.Ю.¹, Федосеева Е.Д.¹, Емельянова М.А.¹, Антонова О.В.¹, Филиппова М.А.¹, Морозова И.О.², Бердалин А.Б.², Ушакова В.М.², Зельцер А.Г.², Сюняков Т.С.², Осипова Н.Г.², Зоркина Я.А.^{2,3}, Абрамова О.В.^{2,3}, Андреев Д.С.², Очнева А.Г.², Павлов К.А.², Савилов В.Б.², Соловьёва К.П.², Курмышев М.В.², Карпенко О.А.², Андрущенко А.В.², Костюк Г.П.², Морозова А.Ю.^{2,3}

¹ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН, Москва

²ГБУЗ «Психиатрическая клиническая больница № 1 им. Н.А. Алексеева» Департамента здравоохранения Москвы, Москва

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России, Москва

Введение. Состояние мягкого когнитивного снижения (МКС) у пожилых лиц характеризуется высоким риском перехода непосредственно в дементную фазу, в частности, в болезнь Альцгеймера. Своевременная диагностика и профилактика нарушений когнитивной сферы может существенно продлить сроки наступления патологических симптомов.

Целью работы была оценка влияния генетических маркеров риска на динамику когнитивных функций пациентов с МКС, а также определение биологических факторов, ассоциированных с когнитивными нарушениями, в трехлетнем проспективном исследовании.

Материалы и методы. В исследование включено 338 пациентов с МКС (284 женщины и 54 мужчины в возрасте $71,2 \pm 7,5$ лет), которым проводили нейропсихологическую оценку, магнитно-резонансную томографию (МРТ), забор крови для общего и биохимического анализа. Оценка когнитивных функций проводили по Монреальской когнитивной шкале (MoCA) и краткой шкале оценки психического статуса (MMSE). Генетическое тестирование выполняли с использованием оригинального гидрогелевого биочипа, определяющего 21 маркер полигенного риска развития (ПГР) деменции и аллели гена *APOE*. Для ряда пациентов проводили измерение концентрации сывороточных маркеров с использованием технологии мультиплексного иммуноанализа. Пациенты проходили когнитивный тренинг и через три года приглашались на повторное

обследование.

Результаты. Установлено, что генотип $\epsilon 4/\epsilon 4$ *APOE* ассоциирован со снижением значения баллов по шкалам оценки когнитивных функций при первичном обследовании, а также с отрицательной когнитивной динамикой. Не было выявлено ассоциаций между когнитивными изменениями и значением ПГР. Прогрессирование когнитивных нарушений было связано с шириной третьего желудочка и гематологическими параметрами, в частности, с гематокритом и уровнем эритроцитов, но не с липидным и углеводным обменом. Выявлено повышение ряда иммунологических маркеров после проведения когнитивного тренинга, таких как EGF, Eotaxin, GRO, IL-8, MCP-1 и MDC ($p < 0,01$). Обнаружена ассоциация концентраций IP-10, FGF-2, TGF α и VEGF с генотипом *APOE*.

Выводы. Предложен комплексный подход на основе оценки модифицируемых и немодифицируемых факторов, влияющих на динамику когнитивного снижения, направленный на профилактику деменции с возможностью превентивной терапии. Отсутствие значимых ассоциаций между динамикой когнитивного снижения и ПГР в течение трех лет может быть связано с предоставлением надлежащей медицинской помощи для профилактики когнитивных нарушений.

Источники финансирования. Исследование выполнено в рамках Соглашения с АНО «Московский центр инновационных технологий в здравоохранении» № 0803-4/23.

СОСТОЯНИЕ БЕЛКОВ И ЛИПИДОВ МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДЕСТРУКТИВНОМ ПАНКРЕАТИТЕ НА ФОНЕ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Долгарева С.А., Бушмина О.Н.

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск

При болезни любая клетка, в частности ее плазматическая мембрана, реагирует молекулярными изменениями, носящими как патологический, так и адаптивный характер. В настоящее время можно говорить о том, что произошло гигантское накопление фактических материалов о структурных изменениях клетки при патологии, но в науке прослеживается желание исследователей выявить специфические изменения разных клеточных структур при том или ином патологическом процессе, и они в меньшей степени отдадут должное поиску универсальных неспецифических изменений клетки. В полной мере подобная ситуация сложилась и в области изучения патологии эритроцита.

В связи с этим очевидна целесообразность изучения состояния белков и липидов мембраны эритроцитов при экспериментальном остром деструктивном панкреатите (ОДП) на фоне алкогольной интоксикации (АИ).

Материал и методы исследования. Исследования проводились на 80 здоровых крысах Вистар массой 120–160 г. АИ проводили принудительным внутрижелудочным введением 20% этанола в дозе 3 мл/кг через 24 ч в течение 30 дней. ОДП вызывали на 25-й день АИ перевязкой протока левой и правой долей поджелудочной железы с последующей стимуляцией прозеринном. Эритроциты выделяли через 24 ч после последней АИ по методу E. Beutler, из них получали мембраны методом G.T. Dodge. Электрофорез белков проводили по методу U.K. Laemmli. Липиды выделяли методом тонкослойной хроматографии.

Результаты и обсуждение. В условиях ОДП установлено снижение содержания α - и β -спектрина, анкирина, анионтранспортного белка, актина, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, глутатион-S-трансферазы, моно- и диглицеридов, триглицеридов, фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина, фосфатидилинозитола, сфингомиелина

и повышение уровня белков полосы 4.1 и 4.5, паллидина, дематина, тропомиозина, холестерина и его эфиров, свободных жирных кислот, лизофосфатидилхолина. При ОДП на фоне АИ по сравнению с острым панкреатитом наблюдаются однотипные, но более выраженные изменения структурно-функциональных свойств эритроцитов, а также значительное изменение соотношений различных фракций липидов и существенное снижение содержания мембранных глицерофосфолипидов и сфингомиелинов, составляющих основу двойного липидного каркаса клеточной мембраны и играющих основную роль в упорядочивании белковых макромолекул и нормальном метаболизме эритроцитов.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют о значительных нарушениях в качественном и количественном отношении представителей белкового и липидного спектра мембраны эритроцитов, ответственных за структурообразование и стабилизацию мембраны эритроцитов, формообразование и гибкость мембраны, внутриклеточный метаболизм. Более значительные повреждения белково-липидного спектра мембраны эритроцитов наблюдаются при остром деструктивном панкреатите на фоне хронической алкоголизации.

Источники финансирования: собственные средства.

ОСОБЕННОСТИ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ У КРЫС ВИСТАР ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО СТРЕССОВОГО РАССТРОЙСТВА

Кондашевская М.В., Артемьева К.А., Алексанкина В.В., Касабов К.А.

ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына, Москва

Посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР) — заболевание, которое развивается после воздействия экстремального угрожающего жизни стрессорного эпизода или серии эпизодов. Наиболее часто заболевание сопровождается снижением уровня кортизола у людей и кортикостерона у лабораторных грызунов.

Цель работы — охарактеризовать морфофункциональное состояние печени половозрелых крыс-самцов Вистар при моделировании ПТСР, используя предаторный стресс.

Все экспериментальные процедуры были выполнены в соответствии с Директивой Европейского парламента 2010/63/EU «О защите животных, используемых в научных целях». Были сформированы 2 группы крыс: контрольная (КК, $n=20$) и стрессированная (СК, $n=20$). Всех крыс тестировали в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ), используя показатели поведения, вычисляли индекс тревожности (ИТ). Животных выводили из эксперимента, используя Золетил. Фрагменты печени фиксировали, производили стандартную обработку, получали срезы, которые окрашивали, используя гистохимическую окраску на содержание гликогена, а также нейтральных жиров. Плотность окраски оценивали на микрофотографиях с помощью программы ImageJ (Фиджи). В плазме крови определяли уровень кортикостерона (Кор), аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ). Проводили статистический анализ данных.

Тестирование СК крыс в ПКЛ позволило выявить 2 различавшиеся по ИТ группы. У первой группы ИТ не отличался от контрольных значений (1СК, 0,75, $n=8$, устойчивые к стрессу), а у второй — был гораздо выше (2СК, 0,84, $n=12$, неустойчивые к стрессу). Наиболее низкий уровень Кор отмечен у 2СК,

однако и у 1СК он был ниже контрольных значений. У группы 1СК содержание АСТ и АЛТ не отличалось от контроля, тогда как у 2СК было выше на 22,8 и 47,6% соответственно. Морфологическая структура печени не была изменена ни у 1СК, ни у 2СК. Тем не менее, значения оптической плотности окраски на гликоген были снижены как у 1СК, так и у 2СК. Наиболее низкие значения выявлены у 2СК. Это означало, что энергетические запасы, накопленные в печени в виде гликогена, существенно снижены. При этом у группы 2СК наблюдалась отрицательная корреляция значений содержания гликогена с показателями ИТ ($r_s=-0,95$; $p=0,0001$). Анализ значений оптической плотности окраски на нейтральные жиры позволил установить их наличие у обеих стрессированных групп, однако у группы 2СК показатели были выше, они позитивно коррелировали со значениями ИТ ($r_s=0,94$; $p=0,0001$). Полученные в эксперименте сведения о дисфун

Источники финансирования: Исследование выполнено в рамках Госзадания лаборатории патологии клетки НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского № 1023100400015-7-3.1.9.

РОЛЬ СИРТУИНОВ В РЕГУЛЯЦИИ СТАРЕНИЯ РЕЗИДЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Лактионов П.П.^{1,3}, Романов С.Е.^{1,3}, Самойлова Е.М.^{1,2,4}, Калашникова Д.А.^{1,3}, Осипов Я.О.^{1,3}, Поливцев Д.Е.^{1,3}, Максимов Д.А.^{1,3}, Баклаушев В.П.^{1,2,4}

¹ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», лаборатория эпигенетики ФЕН НГУ, Новосибирск

²ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН, лаборатория молекулярных механизмов регенерации и старения, Москва

³ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии» СО РАН, лаборатория геномики, Новосибирск

⁴ФБГУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» ФМБА РФ, Москва

Старение резидентных стволовых клеток играет значительную роль в возраст-зависимом нарушении функций органов и тканей. Принимая во внимание развитие технологий регенеративной медицины, актуальными становятся исследования молекулярных механизмов регуляции клеточного старения и разработка подходов, позволяющих воздействовать на его динамику. Одним из ключевых регуляторов метаболических и эпигенетических процессов, ассоциированных с клеточным старением, выступает семейство белков-деацетилаз сиртуинов, которые контролируют клеточный метаболизм, функции митохондрий, ремоделирование хроматина и реакцию на окислительный стресс. Снижение экспрессии сиртуинов рассматривается в качестве одного из маркеров старения, а также диагностического критерия для выявления отдельных возраст-зависимых заболеваний. Белки семейства SIRT служат мишенями для исследований в области терапии возраст-зависимых заболеваний в рамках многочисленных клинических испытаний. Представленная работа посвящена изучению роли сиртуинов в регуляции клеточного старения мезенхимальных стволовых клеток человека.

Для оценки влияния нами были разработаны критерии и оптимизированы методологические подходы для оценки динамики клеточного старения, опирающиеся на классические маркеры, а также характерные изменения эпигенома и морфологии клетки. В частности, предложен новый подход к дизайну моделей эпигенетических часов, основанный на анализе стохастических изменений паттер-

нов метилирования ДНК, сопровождающих старение, а также прототип алгоритма, позволяющего оценивать культуральный и хронологический эпигенетический возраст МСК. Для оценки возраст-зависимых изменений клеточной морфологии и динамики ядерных маркеров предложена предиктивная модель на основе алгоритмов машинного обучения. На основании установленного спектра параметров клеточного и биологического старения исследуемых клеток было показано разнонаправленное влияние модуляции экспрессии генов сиртуинов на отдельные аспекты клеточного старения. Наряду с потенциальным влиянием на эпигенетический возраст, это подчеркивает необходимость изучения влияния сиртуинов на механизмы эпигенетической регуляции старения.

ЭНЕРГЕТИЧЕСКАЯ ФУНКЦИЯ ТКАНИ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА ПРИ РАДИАЦИОННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

Логвинович О.С., Мышковец Н.С., Литвинчук А.В., Белоус Е.М.

УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Республика Беларусь

Клетки кишечной слизистой оболочки выполняют ряд энергозависимых функций, поэтому содержат большое количество митохондрий и чувствительны к радиационному воздействию. Ионизирующее излучение (ИИ) приводит к повреждению ДНК энтероцитов, нарушению клеточного цикла, апоптозу и некрозу слизистой оболочки. Местное рентгеновское облучение опухолей брюшной полости и таза при медицинских манипуляциях связано с возникновением различных изменений энергетической функции тонкого кишечника. Подобного рода нарушения способствуют образованию очагов воспаления и развитию синдрома энтеральной недостаточности.

Нами показано снижение эффективности энергообразования митохондриальной дыхательной цепи фрагментов ткани кишечника после воздействия ИИ от внешних и внутренних источников, что, возможно, связано с разобщением окислительного фосфорилирования.

В работе [1] отражено влияние и показана чувствительность кишечной слизистой оболочки к действию внешнего облучения, что выражалось изменением интегрального показателя энергетического обмена — уровня эндогенного дыхания.

В серии экспериментов выявлена эффективность применения экзогенных субстратов митохондриального окисления для коррекции радиационно-индуцируемых нарушений энергетической функции кишечника. Согласно литературным данным [2], растительные экстракты могут быть эффективны в снижении повреждающего эффекта ИИ на тонкий кишечник.

Наши дальнейшие исследования предполагают поиск методов коррекции радиационно-индуцируемых нарушений энергетического обмена ткани тонкого кишечника, основанных на возможности использования водных или масляных составов растений в комбинации с растворами естественных

метаболитов цикла Кребса. В практическом применении это позволит снизить риск развития хронического энтерального синдрома и общего дискомфорта у пациентов после облучения при лечении опухолей брюшной полости и таза.

Литература

1. Мышковец Н.С. Изменение уровня эндогенного дыхания слизистой тонкого кишечника в различные сроки после облучения // Проблемы здоровья и экологии. 2023. Т. 20, № 2. С. 72–77.
2. Maphetu N. et al. Medicinal uses, pharmacological activities, phytochemistry, and the molecular mechanisms of *Punica granatum* L. (pomegranate) plant extracts: A review // Biomed Pharmacother. 2022. № 153.

РАЗРАБОТКА ТЕСТОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ

Лысакова Е.В., Шумеев А.Н., Чувпило С.А., Лактюшкин В.С., Рыбцов С.А.

Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Сочи

Введение. Эффективность фагоцитарной активности является важным показателем, который снижается по мере старения иммунной системы. Лекарственные препараты могут влиять на фагоцитоз, оказывая блокирующее или активирующее действие, и поэтому могут быть важными регуляторами иммунной функции.

Цель. Разработка анализа *ex vivo*, необходимого для скрининга лекарств в крови человека и макака.

Методы. Для проверки анализа были успешно использованы несколько опубликованных препаратов для блокирования фагоцитоза. Предварительно обработанные различными агентами клетки крови инкубировали с *E. coli*, после чего оценивали процент фагоцитировавших клеток (гранулоцитов и моноцитов).

Результаты. По сравнению с необработанными клетками, фагоцитарная активность обработанных клеток снижалась, при этом при обработке лидокаином и эпинефрином наблюдалось зависимое от дозы снижение фагоцитарной активности, эффективно блокирующее фагоцитоз в той же мере, что и коммерческий препарат ГольджиСтоп в оптимальной концентрации. Тенденция была линейной для гранулоцитов и моноцитов. Более того, процент фагоцитирующих клеток в обработанных после 1 ч инкубации с *E. coli* образцах был неотличим от контрольных образцов без применения ингибиторов фагоцитоза.

Несмотря на отсутствие различий, ингибиторы фагоцитоза можно использовать в модификациях фагоцитарного динамического теста, в котором обнаруживаются бактерии, поглощенные и адгезированные на поверхности клеток в определенный промежуток времени. В случае, если фагоцитоз был остановлен на льду, процент фагоцитирующих клеток был ниже в сравнении с обработанными и необработанными образцами, в связи с чем можно предположить, что клетки под воздействием льда подвергаются дегрануляции и гибели.

Заключение. Таким образом, смесь лидокаина и эпинефрина ингибирует фагоцитоз и при необходимости может использоваться в качестве стоп-реагента как наиболее дешевый и эффективный аналог коммерческих реагентов и льда. Оценка фагоцитарной активности с помощью конъюгированных с FITC бактерий и разработанного протокола в цельной крови может стать важной частью скрининга лекарств. Более того, тестирование фагоцитоза в цельной крови в условиях, близких к физиологическим, является полезным и осуществимым подходом для персонализированной медицины.

Источники финансирования. Работа проведена при поддержке фонда РФФИ, проект № 23-15-00443 (<https://rscf.ru/project/23-15-00443/>).

ТЕХНОЛОГИИ МНОГОМЕРНОГО АНАЛИЗА В ПЕРСНИФИКАЦИИ ФИЗИЧЕСКИХ ТРЕНИРОВОК У ПОЖИЛЫХ ЛЮДЕЙ

Мартусевич А.К.^{1,2}, Соколовская С.В.¹, Назаров В.В.¹, Нежкина Н.Н.², Тужилкин А.Н.¹, Орлова Е.А.¹

¹ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород

²ФГБОУ ВО «Ивановский государственный медицинский университет» Минздрава России, Иваново

Целью работы было формирование кандидатных математических моделей, описывающих динамику психо-функционально-метаболического потенциала организма пожилых людей в процессе проведения оздоровительных физических тренировок.

В исследовании приняли участие 184 человека (средний возраст — $64,7 \pm 2,9$ года). В основную группу лиц вошли 100 человек с регулярной физической активностью. Остальные пожилые люди ($n=84$) не занимались физическими тренировками. Была произведена оценка психо-функционально-метаболического статуса данного контингента лиц, в том числе исследованы некоторые генетические полиморфизмы, имеющие отношение к процессам старения, исходный вегетативный тонус, антропометрические показатели, физико-химические свойства биожидкостей, параметры системной гемодинамики и вариабельности сердечного ритма, психологический статус. Все пациенты были обследованы в 2 контрольных точках: при включении в проект и через 6 мес. Проведено формирование математической модели, учитывающей вклад наиболее информативных параметров в интегративный показатель. На основании предварительного многоуровневого статистического анализа было выделено 16 параметров, заложенных в базис математической модели.

Результатом применения подхода стало создание показателя психо-функционально-метаболического статуса и параметра функционально-метаболического резерва. Разработанные математические модели были протестированы на имеющихся выборках пожилых людей в зависимости от их вовлеченности в регулярные физические тренировки. Анализ полученной динамики показателя психо-функционально-мета-

болического статуса свидетельствует о его снижении у представителей обеих сформированных групп (редукция на 13,5% и 17% у тренирующихся и нетренированных людей соответственно) при исходном одинаковом уровне показателя, однако эта тенденция статистически более выражена у пожилых лиц, не использующих регулярную дозированную физическую активность в условиях ФОКа. Аналогичные изменения имели место и в отношении функционально-метаболического резерва. Установлено, что у нетренирующихся людей показатель нарастает на 24,8%, что, по нашему мнению, свидетельствует о снижении функционально-метаболического резерва ($p < 0,05$ по сравнению с исходным уровнем параметра). Напротив, у регулярно тренирующихся пожилых людей сформированный интегральный показатель сохраняется на исходных значениях через 6 мес после начала наблюдения.

В целом, полученные результаты свидетельствуют об адекватности разработанных математических моделей.

Источники финансирования. Исследование выполнено в рамках программы «Приоритет 2030» (ННГУ им. Н.И. Лобачевского).

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИИ ММП9 НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ИНТЕРФЕРОНА ГАММА В ЭПИДЕРМАЛЬНЫХ КЕРАТИНОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА

Мезенцев А.В.¹, Могулевцева Ю.А.²

¹ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» РАН, Москва

²ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет — МСХА им. К.А. Тимирязева», Москва

Введение. Экспрессия матричной металлопротеиназы 9 (ММП9) — важный элемент патогенеза аутоиммунных заболеваний. Участвуя в структурных перестройках эпидермиса и деформации микрокапилляров дермы, фермент расщепляет белки межклеточного матрикса и базальной мембраны. Активируя провоспалительные цитокины (ФНО и др.), ММП9 стимулирует миграцию иммунных клеток в пораженную болезнью кожу. Интерферон γ (ИФНГ) — один из ключевых цитокинов, необходимых для активации иммунной защиты. Так, ИФНГ индуцирует гены молекул гистосовместимости и компонентов иммунопротеосом, а также стимулирует дифференциацию клеток-хелперов Th1, которые относятся к числу главных участников воспалительного процесса. РНК-интерференция относится к числу перспективных подходов, применяемых для лечения генетических болезней. Кодированные в геноме малые ингибирующие РНК (миРНК) инактивируют частично комплементарные мРНК, предотвращая их трансляцию. Синтетические миРНК избирательно подавляют биосинтез связанного с патогенезом белка.

Целью проведенного исследования было оценить потенциал миРНК к ММП9 для лечения псориаза.

Методы: количественная ПЦР — для оценки изменений генной экспрессии, зимография — для измерения ферментативной активности, кривые роста культивируемых эпидермальных кератиноцитов — для оценки скорости пролиферации клеток.

Результаты. Инкубация эпидермальных кератиноцитов с РНК-интерференцией ММП9 в присутствии ИФНГ приводит к практически полной остановке клеточного деления. При этом массовой гибели клеток не происходит. Экспрессия целевого гена также остается

на низком уровне ($0,100 \pm 0,008$), а ферментативная активность ММП9 снижается до $53,5 \pm 4,3\%$ от исходной. При этом уменьшается экспрессия гомологичных ММП: ММП1 ($0,064 \pm 0,049$), ММП2 ($0,325 \pm 0,021$) и ММП12 ($0,104 \pm 0,012$), циклинов CCNA2 ($0,74 \pm 0,02$) и CCND1 ($0,68 \pm 0,01$), маркера пролиферации MKI67 ($0,77 \pm 0,03$) и цитокератинов нестратифицированных эпителиальных тканей: KRT16 — $0,62 \pm 0,05$; KRT17 — $0,09 \pm 0,01$ и KRT18 — $0,36 \pm 0,01$. В то же время, экспрессия маркеров терминальной дифференцировки существенно не меняется.

Закключение. Полученные данные об изменениях скорости пролиферации, генной экспрессии и ферментативной активности свидетельствуют о возможном клиническом потенциале ММП9 миРНК для лечения псориаза.

РОЛЬ ИНТЕРФЕРОН-СТИМУЛИРУЕМОГО ГЕНА MX1 ПРИ ИММУНОЗАВИСИМЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Оспельникова Т.П.^{1,2}, Морозова О.В.^{2,3}

¹ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва

²ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва

³ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. Ю.М. Лопухина» ФМБА, Москва

Введение. Интерфероны (IFN) типов I, II и III обладают противовирусными, антипролиферативными, иммунорегуляторными и гормоноподобными свойствами за счет регуляции экспрессии IFN-стимулируемых генов. Ген MX1 индуцируется IFN I типа и кодирует белок Mxovirus resistance protein (MxA), который захватывает нуклеокапсиды вирусов и ингибирует репликацию вирусных геномов, обеспечивая защиту от вирусов гриппа, парогриппа, кори, Коксаки и гепатита В.

Цель. Анализ РНК IFN α/β и MX1 при ОРВИ, бронхиальной астме (БА) и рассеянном склерозе (РС).

Методы. РНК IFN α , β и MX1 в лейкоцитах крови и мазках носоглотки определяли посредством ОТ-ПЦР в реальном времени с TaqMan зондами.

Результаты. В 26,7 $\pm$ 11,8% образцов лейкоцитов крови здоровых взрослых выявлена РНК IFN α со средним пороговым циклом Ct=36,8 $\pm$ 1,3; РНК IFN β — в 93,3 $\pm$ 6,7% образцов с Ct=29,1 $\pm$ 1,7; РНК MX1 — во всех образцах. Напротив, в образцах мазков носоглотки здоровых взрослых не обнаружена РНК IFN α ; только РНК IFN β в 86,7 $\pm$ 9,1% с высокими уровнями РНК MX1 в 80% образцов. При ОРВИ распределение РНК IFN α/β в крови и на слизистых оболочках было аналогично распределению у здоровых при повышенных концентрациях РНК MX1, что обеспечивало ингибирование репродукции вирусов.

При аллергической БА в образцах мокроты обнаружена экспрессия РНК IFN α и единичные молекулы РНК MX1, что могло свидетельствовать о хроническом воспалении. При аутоиммунном РС до лечения в большинстве образцов лейкоцитов детектировали высокие значения РНК IFN α и β , а также в 54,5 $\pm$ 15,7% — РНК MX1, при терапии препаратом IFN β -1a

экспрессия гена IFN α постепенно снижалась до 12,5 $\pm$ 12,5% через 2 года, что соответствовало показателям для здоровых, однако РНК IFN β выявлена во всех образцах крови с детекцией РНК MX1 в 75 $\pm$ 16,4%.

Заключение. Высокие уровни дифференциальной экспрессии генов IFN α в крови и IFN β в клетках носоглотки индуцировали транскрипцию РНК MX1, что приводило к элиминации РНК-содержащего вируса гриппа А и ДНК-содержащего аденовируса. При аллергических и аутоиммунных патологиях обнаружены отличия профилей РНК IFN от референсных значений, что не препятствовало экспрессии гена MX1.

ОЦЕНКА БИОХИМИЧЕСКИХ И ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ГЛАЗУ С ЦЕЛЬЮ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ СИСТЕМНЫХ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Павленко Т.А.¹, Чеснокова Н.Б.¹, Безнос О.В.¹, Кухарский М.С.^{2,3}, Нодель М.Р.^{4,2}, Лисовская О.А.¹, Шикарева Н.Н.¹, Угрюмов М.В.⁵

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, Москва

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

³ФГБУН Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии РАН, Институт физиологически активных веществ, Черноголовка

⁴ФГОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

⁵ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва

Нейродегенеративные заболевания (НДЗ) являются одной из наиболее актуальных и важных проблем в медицине, имеющих значимое медико-социальное значение в связи с высокой распространенностью и тяжестью исходов заболеваний, нередко ведущих к инвалидности. Взаимосвязь между нейродегенеративными процессами в мозге и глазу открывает новую перспективу использования офтальмологического профилактического обследования для выявления НДЗ до появления характерных нарушений при патологиях нервной системы (болезнь Паркинсона (БП), болезнь Альцгеймера (БА), боковой амиотрофический склероз (БАС) и т.д.). Показано, что при НДЗ происходят изменения на всех уровнях зрительного анализатора.

Нами выявлено, что у мышей с ранней стадией паркинсонизма происходят патологические изменения в моноаминергических системах глаза, предшествующих началу двигательных расстройств, в виде снижения содержания катехоламинов и серотонина в тканях глаза и повышения внутриглазного давления (ВГД). Показано повышение уровня $\alpha 2$ -макроглобулина, норадреналина, дофамина в слезе у мышей с паркинсонизмом и у пациентов с БП. Предполагается, что изменение ВГД и состава слезы могут быть использованы для ранней диагностики БП.

В слезе у мышей на ранней стадии fus-патией, которая моделирует БАС, обнаружено

снижение активности антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы. Это указывает на перспективу дальнейшего изучения антиоксидантной системы глаза у пациентов с БАС. У мышей с инактивированным геном, кодирующим γ -синуклеин, наблюдался повышенный уровень ВГД особенно в раннем возрасте. Для определения нарушения функции данного белка был разработан способ диагностики, включающий определение ВГД до и после инстилляции в конъюнктивальную полость регуляторов дофаминергической системы.

Таким образом, офтальмологическое исследование может оказаться информативным для выявления НДЗ на ранней доклинической стадии, так как позволяет выявлять ранние функциональные отклонения, не установленные еще в других органах. Перспективой исследования глазных проявлений НДЗ является определение на основе офтальмологического обследования группы риска, а также разработка неинвазивных тестов для выявления НДЗ на доклинической стадии.

МАРКЕРЫ ФУНКЦИИ ГЕМАТОТЕСТИКУЛЯРНОГО БАРЬЕРА В КРОВИ ЗЛОСТНЫХ КУРИЛЬЩИКОВ

Плосконос М.В.¹, Николаев А.А.¹, Мавлютова Е.Б.¹, Неборак Е.В.²

¹ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет Минздрава России», Астрахань

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва

Введение. Плотное соединение клеток Сертоли (TJ) является ключевым компонентом гематотестикулярного барьера, где оно изолирует развивающиеся зародышевые клетки, подвергающиеся сперматогенезу в семенных канальцах. Гормонально регулируемый клаудин-11 представляет собой критический трансмембранный белок, участвующий в барьерной функции, и его дисфункция приводит к бесплодию. Процесс сперматогенеза может быть нарушен различными факторами, включая факторы окружающей среды, химиотерапевтические препараты, окислительный стресс, чрезмерное тепловое воздействие. Среди вредных привычек наибольший вред фертильности мужчин, согласно литературным данным, наносит курение табака.

Цель исследования: оценка влияния злостного табакокурения на состояние гематотестикулярного барьера.

Материалы и методы. В работе использовали сыворотку крови злостных курильщиков мужского пола, выкуривающих не менее 20 сигарет в день, в течении не менее 3 лет (опытная группа 36 человек). В качестве контроля использовали сыворотку крови некурящих, клинически здоровых мужчин возрастом 28–36 лет. Уровень клаудина в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) (Santa Cruz Biotechnology, Inc).

Результаты. ИФА уровня клаудина 11 в сыворотке крови мужчин контрольной группы показал среднюю концентрацию $80,0 \pm 4,5$ пкг/мл; опытной группы — $165,0 \pm 70,0$ пкг/мл. Детальный анализ результатов определения уровня клаудина 11 в сыворотке крови злостных курильщиков позволил выявить внутри этой группы две совокупности. Первая подгруппа (О-1), состоящая из 21 человека, имела среднюю концентрацию клаудина 11

в сыворотке крови $240,0 \pm 20,0$ пкг/мл. Вторая подгруппа (О-2), состоящая из 15 человек, имела среднюю концентрацию клаудина 11 в сыворотке крови $90,0 \pm 5,0$ пкг/мл. Анализ корреляции уровня клаудина 11 и стажа курения в подгруппе О-1 показал, что у курильщиков со стажем более 5 лет коэффициент корреляции с высоким уровнем клаудина 11 достоверно высок и составляет $r=0,78$. В подгруппе О-2 стаж злостных курильщиков составил от 3 до 5 лет и повышение уровня клаудина в сыворотке носит случайный характер ($p=0,146077$).

Заключение. Злостное табакокурение приводит к дезорганизации гематотестикулярного барьера, которое проявляется в повышение уровня клаудина 11 в сыворотке крови. Степень дезорганизации гематотестикулярного барьера зависит от стажа курения.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ВОСПАЛИТЕЛЬНО-ДЕСТРУКТИВНЫХ ПОРАЖЕНИЙ ПОЛОСТИ РТА

Селезнева И.А., Балдина О.А., Назаркина И.А., Гильмиярова Ф.Н.

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара

Среди заболеваний полости рта более 70% составляют воспалительно-деструктивные поражения, в генезе которых играет роль нарушение структуры соединительной ткани. Определение биомаркеров, свидетельствующих о ее состоянии, может стать отражением выраженности молекулярных расстройств в динамике развития патологического процесса.

Цель. Выявить патогенетически значимые показатели ротовой жидкости и крови при поражениях организма у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом, стоматитами, одонтогенной флегмоной в целях диагностики и мониторинга терапии.

Материалы и методы. Исследование проводилось на базе кафедр фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой и клинико-диагностической лаборатории ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. Исследовано 509 человек: 251 клинически здоровых лиц и опытная группа из 89 человек с хроническим генерализованным пародонтитом, 90 пациентов со стоматитами при лейкозах, 79 человек с одонтогенными флегмонами. Материал для исследования — кровь и ротовая жидкость, где определяли содержание антител к трансклутаминазе и глиадину (IgA, IgG). Для обработки данных применен статистический пакет SPSS Statistics 21.

Результаты и обсуждение. При хроническом генерализованном пародонтите определен прирост в крови и ротовой жидкости IgA-антител на 19% и IgG-антител на 37% ($p < 0,05$) к тканевому ферменту трансклутаминазе, формирующему ковалентную связь между остатком глутамина, лизина, двух молекул фибронектина с коллагеном во время синтеза соединительной ткани. В ротовой жидкости пациентов со стоматитами при острых лейкозах уровень IgG к трансклутаминазе достигал 38,81 Ед/мл, являясь показателем ответной активной реакции иммунной системы.

После проведения химиотерапии обнаружен прирост в ротовой жидкости IgA-антител к трансклутаминазе в 4 раза в случае острого лейкоза — до $4,03 \pm 0,77$ Ед/мл ($p < 0,05$) и практически в 2,5 раза при хроническом лейкозе — до $3,24 \pm 0,47$ Ед/мл ($p < 0,05$). При одонтогенной флегмоне максимум антител на 3-и сутки от начала терапии (23,77 Ед/мл) отражал выраженные молекулярные нарушения соединительной ткани организма именно в этот период.

Заключение. Молекулярными индикаторами воспалительно-деструктивных заболеваний может служить содержание в ротовой жидкости антител к трансклутаминазе; такое исследование дополняет саливадиагностическую базу патологических состояний полости рта.

SARS-COV-2-ИНДУЦИРОВАННОЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОЕ ПЕРЕПРОГРАММИРОВАНИЕ И ИНДУКЦИЯ ЦИТОКИНОВ: ЭФФЕКТ КУЛЬТУРАЛЬНЫХ СРЕД

Смирнова О.¹, Иванова О.¹, Голиков М.¹, Снежкина А.¹, Краснов Г.¹, Анцева С.¹, Бартош Б.², Ян-варев Д.¹, Иванов А.¹

¹ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН, Москва

²Лионский центр раковых исследований (Lyon Cancer Research Center), Лион, Франция

Нарушения клеточного метаболизма ДНК-и РНК-вирусами является одним из ключевых факторов их патогенеза, поскольку эти изменения могут способствовать развитию воспаления и/или канцерогенеза. Кроме того, перестройки некоторых метаболических путей могут быть необходимы для эффективной репликации вирусов. Однако исследования метаболизма часто проводятся в нефизиологических условиях из-за использования культуральной среды, которая сама по себе меняет клеточный метаболизм.

В данной работе мы проанализировали, как коронавирус SARS-CoV-2 влияет на метаболический ландшафт клеток, культивируемых в классической или плазмоподобной среде Plasmax.

Методами экзомного секвенирования, количественного метаболомного анализа, газовой хроматографии с масс-спектрометрической детекцией продуктов и измерением скорости гликолиза и дыхания митохондрий технологий Seahorse установлено, что изменения метаболизма при инфекции зависят от используемой культуральной среды и клеточной линии.

По данным анализа Seahorse, SARS-CoV-2 подавляет дыхательную активность митохондрий без выраженного влияния на гликолитическую активность клеток. RNA-seq-анализ выявил подавление метаболизма аминокислот в инфицированных клетках в классической среде и усиление в среде Plasmax. Метаболомный анализ подтвердил эти выводы, выявив подавление биосинтеза Ser/Gly *de novo* и путей глутаминолиза, а также снижение уровней Asn/Asp и серосодержащих аминокислот в клетках, находящихся в DMEM. Следует отметить, что в среде Plasmax SARS-CoV-2 не влиял на эти пути, за исключением умеренного ингибирования биосинтеза цистеина. Наконец, в среде

Plasmax коронавирусная инфекция вызывала более выраженный окислительный стресс. SARS-CoV-2 также подавлял биосинтез биогенных полиаминов в классических средах, но усиливал их биосинтез в среде Plasmax. Ингибиторы ферментов метаболизма полиаминов, в том числе используемые в клинике препараты, проявляли специфическую противовирусную активность.

Таким образом, препараты, воздействующие на метаболические ферменты, могут быть перепрофилированы против инфекций, вызванных РНК-вирусами.

ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА ЛИПИДОВ ПРИ ГИПОКСИИ И ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Соловьева А.Г., Перетягин П.В.

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород

Постоянное изменение условий существования привело к модификации образа жизни, одной из основных характеристик чего стало развитие гипоксии. Особого внимания заслуживает термическая травма (ТТ), как один из наиболее распространенных видов бытового травматизма, учащающийся в условиях обострения военной обстановки.

Цель работы — оценить параметры липидного спектра крови при гипоксии и термической травме в эксперименте.

Материал и методы. Эксперимент проведен на 30 крысах-самцах линии Wistar. При моделировании гипоксии использовали вариант острой гипоксической гипоксии. ТТ степени IIIA 10% поверхности тела наносили под наркозом (Zoletil 100 + XylaVET). Животных выводили из эксперимента на 10-е сутки. Концентрацию липидов сыворотки крови (общего холестерина (ОХ), триглицеридов (ТГ), липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП)) определяли на биохимическом анализаторе «Hitachi-2000» (Япония) и используя расчетные формулы. Статистическую обработку данных проводили с помощью Statistica 6.0.

Результаты. ТТ вызвала снижение ОХ на 16%, уровня ТГ на 30% ($p < 0,05$), ЛПВП на 25% ($p < 0,05$), ЛПОНП на 30% ($p < 0,05$), рост ЛПНП на 125% ($p < 0,05$) и коэффициента атерогенности на 24% ($p < 0,05$) по сравнению с показателями интактных крыс. Уменьшение уровня триглицеридов на 10-е сутки после ожога обусловлено истощением жировых депо вследствие усиленного катаболизма. В условиях воздействия стресса на организм и последующей гипоксии и ацидоза при распаде клеток в кровь попадают лизосомальные ферменты, в частности, фосфолипазы, вызывающие распад липопротеидов путем

разрушения внешнего фосфолипидного слоя. При гипоксии отмечено снижение уровня ТГ в 5 раз ($p < 0,05$) и, как следствие, уменьшение содержания переносчиков ТГ — ЛПОНП в 5,6 раза ($p < 0,05$) по сравнению с показателями интактных крыс. Однако при гипоксии выявлен рост уровня ЛПВП на 10% ($p < 0,05$) и ЛПНП в 5,7 раза ($p < 0,05$).

Таким образом, показаны особенности липидного метаболизма при экспериментальной термической травме и гипоксии.

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА И ПОКАЗАТЕЛИ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ

Терехина Н.А.¹, Селин А.Д.¹, Терехин Г.А.²

¹ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Минздрава России, Пермь

²ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, Пермь

Цель работы — оценка влияния электромагнитного излучения дециметрового диапазона на показатели антиоксидантной защиты и проницаемость гематоэнцефалического барьера.

Исследование проведено на 242 белых крысах. Животные находились в клетках, изготовленных из радиопрозрачного материала «Plexiglas», по 10 особей. Для имитации реальной ситуации с частым воздействием электромагнитных полей была спроектирована модель облучения на животных. 1-я контрольная группа включала 60 intactных крыс, которые находились в помещении вивария. Животные со 2-й по 5-ю группу были размещены в изолированном помещении и подвергались воздействию электромагнитного излучения (ЭМИ): 2-я группа крыс — в течение 1 мес, 3-я группа животных — 2 мес, 4-я и 5-я — 3 мес. В эритроцитах периферической крови крыс определяли содержание глутатиона, в плазме крови — содержание церулоплазмينا, трансферрина, активность γ -глутамилтранспептидазы (ГГТП), содержание меди, железа. В отмытых эритроцитах крови проницаемость эритроцитарных мембран оценивали путем создания различных концентраций изотонических растворов мочевины и хлористого натрия. Для оценки проницаемости гематоэнцефалического барьера животным 5-й группы после 3-месячного воздействия ЭМИ вводили внутривенно 1 раз водный раствор ацетата свинца из расчета 1 мг/кг массы тела. Полученные образцы тканей головного мозга сжигали в муфельной печи в течение 10 ч при температуре 450°C и в зольном остатке определяли содержание свинца с использованием рентгено-флуоресцентного метода на энергодисперсионном рентгенофлуоресцентном спектрометре.

Достоверное изменение проницаемости эритроцитарных мембран и показателей антиоксидантной защиты в крови крыс наблюдалось лишь спустя 3 мес воздействия ЭМИ: снижался уровень железа (Fe^{2+}), трансферрина, повышалось содержание церулоплазмينا, глутатиона, меди (Cu^{2+}), возрастала в 4 раза активность ГГТП. Содержание свинца в тканях головного мозга крыс, находившихся под действием ЭМИ в течение 3 мес, оказалось в 3,5 раза выше, чем у крыс группы сравнения, которым также вводили однократно раствор ацетата свинца без воздействия ЭМИ.

Активация антиоксидантной системы не может в полном объеме компенсировать деструктивное влияние ЭМИ на мембраны эритроцитов и гематоэнцефалического барьера. Глутатион, церулоплазмин, γ -глутамилтранспептидаза могут служить перспективными молекулярными маркерами для оценки деструктивного воздействия ЭМИ дециметрового диапазона.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ В КАЧЕСТВЕ МАТЕРИАЛА ДЛЯ КЛИНИКО-БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Чеснокова Н.Б., Павленко Т.А., Безнос О.В.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, Москва

В последнее десятилетие значительно возрос интерес к использованию слезной жидкости (СЖ) для оценки метаболических процессов не только при глазных болезнях, но и системных. Это связано с накопившимися данными о взаимосвязи метаболизма СЖ с метаболизмом всех структур глаза и всего организма, а также с развитием технологий, позволяющих проводить измерения в малом объеме проб. Слезная пленка толщиной около 3 мкм состоит из мембраносвязанных муцинов, образующих гликокаликс на эпителии роговицы, который переходит в секреторный муциновый слой, далее следует водный слой, покрытый липидами. Водный слой содержит много белков (4–10 мг/мл, не менее 3000 белков), которые несут большую функциональную нагрузку. Они защищают от инфекции, отвечая за врожденный иммунитет, оказывают противовоспалительное, антиоксидантное действие, удаляют и поставляют метаболиты для бессосудистой роговицы, обеспечивают заживление травм. Слеза вырабатывается основной слезной железой и многочисленными железами, находящимися в конъюнктиве, в СЖ могут поступать вещества из сосудов конъюнктивы и ее клеточных компонентов, из роговицы. Регуляция слезопродукции состоит не только из нейронного компонента, на нее влияет гормональный статус организма, состояние местного и системного иммунитета, метаболические сдвиги в организме. Установлена важная роль влияния обнаруженных в СЖ внеклеточных везикул и содержащихся в них микроРНК.

Наши исследования компонентов ренин-ангиотензиновой, фибринолитической систем, протеиназно-ингибиторного баланса, состояния антиоксидантной защиты в СЖ пациентов и модельных животных показали, что биохимический анализ СЖ позволяет оценивать прогноз, обосновывать направленность терапии при воспалительных процессах

в глазу (травмы глаза, увеит), при глаукоме, диабетической ретинопатии, возрастной макулодистрофии, окклюзиях вен сетчатки.

Следует подчеркнуть, что при исследовании СЖ очень важен преаналитический этап, особенно забор материала. Преимуществом слезы является неинвазивный способ получения и возможность оценивать метаболизм СЖ в динамике патологического процесса, что важно для персонализированной терапии.

ИЗМЕНЕНИЯ ГОМЕОСТАЗА ЦИНКА ПРИ РАЗВИТИИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СЕТЧАТКИ

Шебардина Н.Г.¹, Тюлина В.В.¹, Шевелева М.П.², Кушнаревич Н.Ю.³, Петров С.Ю.³, Оганесян О.Г.³, Чистяков Д.В.¹, Пермьяков С.Е.², Сенин И.И.¹, Иомдина Е.Н.³, Зерний Е.Ю.¹

¹ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Москва

²ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований» РАН, Институт биологического приборостроения, Пущино

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, Москва

Дегенеративные заболевания сетчатки (ДЗС), такие как глаукома, возрастная макулярная дегенерация (ВМД) и диабетическая ретинопатия, представляют собой важную медико-социальную проблему, являясь основной причиной неизлечимой потери зрения. Последние данные указывают на то, что ключевым медиатором нейротоксических эффектов в сетчатке могут быть ионы мобильного цинка.

Настоящая работа посвящена исследованию изменений гомеостаза цинка при ДЗС, а также поиску внеклеточных сигнальных белков, опосредующих эффекты мобильного цинка при этих заболеваниях.

Содержание цинка исследовалось методом атомно-абсорбционной спектроскопии в водной влаге (ВВ) пациентов, полученной в процессе хирургического лечения ДЗС или ассоциированных патологий глаза, а также животных с моделями этих заболеваний. Поиск секретируемых цинксвязывающих белков осуществлялся путем анализа трехмерных структур мажорных компонентов протеома ВВ с применением нейросетевого классификатора ZincBindPredict. Уровень секреции отобранных белков измерялся в ВВ пациентов и животных с моделями ДЗС методом иммуноблоттинга. Проверка цинксвязывающих свойств Zn^{2+} -зависимых секретируемых белков проводилась методом дифференциальной сканирующей флуориметрии.

Зафиксировано достоверное увеличение содержания цинка в ВВ пациентов с ДЗС, а также животных с моделями глаукомы и ВМД. Анализ структуры белков протеома ВВ человека позволил идентифицировать

нейротропные факторы PEDF, BDNF и VGF, фактор роста IGF1, а также сигнальные факторы WIF1, MYOC и AGT как потенциальные цинксвязывающие белки. Обнаружен рост секреции PEDF, BDNF, WIF1 и MYOC, ассоциированный с ДЗС. Цинксвязывающие свойства PEDF и BDNF подтверждены в экспериментах *in vitro*.

На основании полученных данных сделан вывод о том, что прогрессирование ДЗС связано с повышением уровня мобильного цинка, что может оказывать влияние на нейротропную активность и другие сигнальные механизмы в сетчатке.

Источники финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 21-15-00123 (эксперименты на клеточных моделях, сродство нейротропных белков к цинку) и гранта РНФ № 24-15-00171 (активность нейротропных белков в отношении рецепторов).

ЭФФЕКТ ПРОБИОТИЧЕСКОЙ БАКТЕРИИ *AKKERMANSIA MUCINIPHILA* ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ КИШЕЧНИКА И СТАРЕНИИ У МЫШЕЙ

Шейнова А.Д.^{1,2}, Друцкая М.С.^{1,3}, Демидов О.Н.², Недоспасов С.А.^{1,2,3,4}, Губернаторова Е.О.^{1,3}

¹ФГБУН Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, Москва

²ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Москва

³ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» РАН, Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины, Москва

⁴Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Сочи

Akkermansia muciniphila — грамотрицательная бактерия, компонент нормальной кишечной микробиоты человека. Многочисленные исследования связывают снижение представленности этой бактерии с развитием метаболических нарушений и старением. Интересно, что представленность *A. muciniphila* также снижается при воспалении кишечника и колоректальном раке. Деградация муцина ферментами *A. muciniphila* способствует поддержанию оптимальной толщины слоя слизи и целостности кишечного барьера, что необходимо для корректного контроля микробиоты и регуляции воспаления. Несмотря на широкий интерес к роли данной бактерии в воспалительных заболеваниях кишечника, механизмы действия *A. muciniphila* на миелоидные клетки не установлены.

Для того чтобы определить, как пероральное введение *A. muciniphila* влияет на иммунный ответ в кишечнике, мышам дикого типа ежедневно в течение трех недель вводили в желудок *A. muciniphila*. После этого определяли экспрессию гомеостатических генов в кишечнике, оценивали содержание миелоидных клеток в кишечнике и селезенке, а также извлекали костный мозг для получения макрофагов.

Было установлено, что введение *A. muciniphila* приводит к снижению содержания миелоидных клеток как в кишечнике, так и на периферии, в селезенке. Кроме того, RT-PCR анализ на тканях толстого кишечника мышей, получавших *A. muciniphila*, показал снижение экспрессии гена IL-6, цитокина, играющего ключевую роль в стимуляции роста опухолей. При этом одним из главных источников IL-6 являются миелоидные клетки. Было установлено, что введение бактерии моди-

фицировало ответ макрофагов, выращенных из костного мозга, на антигены микробиоты: они производили меньше IL-6, чем макрофаги мышей, не получавших бактерию. Поскольку снижение продукции IL-6 является перспективной стратегией контроля роста опухолей кишечника, мышей APC^{min}, спонтанно развивающих опухоли кишечника, подвергли ежедневному приему *A. muciniphila* в течение 50 дней, после чего проводили подсчет опухолей. Оказалось, что терапевтическое введение бактерии значительно снижало опухолевую нагрузку у APC^{min} мышей, что коррелировало со снижением накопления миелоидных клеток и экспрессии IL-6.

Таким образом, было показано, что пероральное введение *A. muciniphila* мышам приводит к снижению продукции IL-6 макрофагами и защищает от развития рака кишечника у APC^{min} мышей, а применение пробиотиков на основе *A. muciniphila* может считаться перспективным для предотвращения старения иммунной системы и контроля воспаления кишечника.

Источники финансирования. Исследование выполнено за счет гранта РНФ 19-75-30032.

НОВАЯ МОДЕЛЬ МЕЗОТЕЛИОМЫ ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ С МИЕЛОИДНЫМИ КЛЕТКАМИ В NSG-SGM3 МЫШАХ

Шиндяпин В.В.^{1,2}, Губернаторова Е.О.^{1,3}, Демидов О.Н.², Недоспасов С.А.^{1,2,3}, Баклаушев В.П.^{1,4}, Юсубалиева Г.М.^{1,4}, Друцкая М.С.^{1,2,3}

¹ ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» РАН, Москва

² Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Сочи

³ ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» РАН, Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины, Москва

⁴ ФБГУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» ФМБА РФ, Москва

Мезотелиома плевры (МП) — злокачественное новообразование, поражающее плевральные оболочки, выстилающие легкие. Это заболевание встречается среди пожилых людей, в этиологии его большое значение имеет воздействие различных канцерогенов, в частности асбеста. Отсутствие специфических симптомов МП приводит к тому, что заболевание очень часто выявляется на поздней диссеминированной стадии, когда радикальное лечение уже невозможно, что обуславливает высокую летальность. В этой связи актуальна задача разработки методов иммунотерапии мезотелиомы. Известно, что мезотелиома продуцирует широкий спектр провоспалительных цитокинов и хемокинов, стимулирующих миелоидные клетки и привлекающих их в опухолевое микроокружение. Ранее было показано, что увеличение количества циркулирующих моноцитов и доли инфильтрирующих опухоль макрофагов связаны с плохой выживаемостью у пациентов с МП.

Цель работы: исследовать параметры опухоль-ассоциированного воспаления и сопоставить их с динамикой роста опухоли репортерной линии мезотелиомы человека (MZT-Luc2-mCherry) у иммунодефицитных NSG-SGM3 мышей.

Стоит отметить, что остаточная активность миелоидных клеток у NSG-SGM3 мышей позволяет отслеживать их накопление в крови и в опухоли, а также детектировать продукцию ими цитокинов как на системном уровне, так и локально — в опухолевом микроокружении. Мышам подкожно вводили клетки MZT-Luc2-mCherry и в течение последующих 30 дней наблюдали за их выживаемостью, оценивали динамику роста опухоли с помощью оптиче-

ского томографа и изменения в продукции цитокинов и хемокинов с помощью мультиплексного анализа, позволяющего разделять факторы, продуцируемые опухолевыми клетками и опухолевым микроокружением.

Результаты оптической томографии выявили более выраженную динамику роста опухолей у самок, что также сопровождалось значимым снижением массы тела по сравнению с самцами линии NSG-SGM3. Примечательно, что самцы демонстрировали ярко выраженное опухоль-ассоциированное воспаление и повышенную продукцию факторов роста и привлечения нейтрофилов, G-CSF и CXCL1. Клетки мезотелиомы как *in vitro*, так и *in vivo* секретируют цитокины и хемокины, ассоциированные с привлечением и функциональной активностью миелоидных клеток.

Таким образом, нами описана мышьяная модель, позволяющая отслеживать рост опухоли в динамике и формирование ассоциированного с мезотелиомой человека опухолевого микроокружения *in vivo*, представляющего миелоидными клетками, что может стать удобным инструментом при разработке новых терапевтических стратегий.

ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА У АУТБРЕДНЫХ МЫШЕЙ ICR

Якуненко А.В., Наточий И.О., Елсукова Е.И.

ФГБОУ ВО «Красноярский государственный педагогический университет им. В.П. Астафьева», Красноярск

Одним из проявлений старения является снижение чувствительности к инсулину (инсулинорезистентность — ИР), сочетающееся с ростом секреции инсулина островковой тканью и гиперинсулинемией. Частота встречаемости ИР и гиперинсулинемии увеличивается с возрастом, коррелируя с изменениями метаболизма и секреции адипокинов жировой тканью.

Целью данного исследования был сравнительный анализ показателей глюкозотолерантного и инсулинотолерантного тестов (ГТТ и ИТТ) в разновозрастных группах аутбредных мышей ICR.

Самцы линии ICR, приобретенные в 1,5-мес возрасте в ГНЦ ВБ Вектор (Новосибирск), содержались при 23°C и свободном доступе к корму. Концентрацию глюкозы измеряли в хвостовой вене (ммоль/л) глюкометром Accu-CheckActive. Перед проведением ГТТ и ИТТ животные голодали 6–8 ч, после чего им вводили внутривенно 40% р-р глюкозы в дозе 2 г/кг массы тела или препарат инсулина (0,1 МЕ/мл) в дозе 0,5 МЕ/кг массы тела. Результаты ГТТ оценивали по площади под гликемической кривой, а ИТТ — по снижению концентрации глюкозы крови через 30 мин после введения инсулина в процентах от базальной концентрации глюкозы. Результаты тестов в виде сред них значений $\pm$ SD анализировали с помощью ANOVA с поправкой Тьюки. Нормальность распределения оценивали по критерию Шапиро–Уилка. После проведения ИТТ и ГТТ мышей умерщвляли, извлекали подкожное паховое и абдоминальное окологонадное жировые депо, определяли в них с помощью вестерн-блоттинга относительную экспрессию разобщающего белка UCP1.

При ИТТ наблюдалось менее выраженное инсулин-зависимое снижение уровня глюкозы у 11–12-месячных мышей по сравнению с 6-месячными животными. По результатам ГТТ в группах 12-месячных и 18-месячных

мышей значения площади под гликемической кривой были ниже, чем у 2,5-месячных и 6-месячных мышей ($p < 0,05$), что, возможно, обусловлено гиперинсулинемией, либо увеличенной экспрессией инсулиннезависимых переносчиков глюкозы. Изменения показателей ИТТ и ГТТ после 6 мес коррелировали с прекращением в этот период роста массы тела, абсолютной и относительной массы жировых депо, экспрессии в них белка UCP1. Таким образом, возраст-зависимые закономерности регуляции углеводного обмена, обнаруженные для линии C57Bl6, сохраняются у аутбредных мышей. Заслуживают дальнейшего изучения связь нарушений углеводного обмена и возрастной дисфункции жировой ткани.

ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЙ ЭКСПРЕССИИ p53, CASPASE-3 И CASPASE-8 НА МОДЕЛИ АУДИОГЕННОЙ ВИСОЧНОЙ ЭПИЛЕПСИИ У КРЫС КРУШИНСКОГО–МОЛОДКИНОЙ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПИФИТРИНА-А

Бажанова Е.Д.^{1,2}, Козлов А.А.², Соколова Ю.О.², Демидова Е.О.², Яковлева И.И.², Клименко Д.И.², Супонин А.А.³

¹ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» РАН, Санкт-Петербург

²ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. акад. С.Н. Голикова» ФМБА, Санкт-Петербург

³ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Введение. За последние десятилетия стала актуальной проблема фармакорезистентной эпилепсии. В связи с этим необходимо изучение механизмов фармакорезистентности эпилепсии и поиск препаратов с новыми клеточными и молекулярными мишенями и механизмами действия. Одним из таких препаратов может стать пифитрин-α — ингибитор транскрипции p53. В патогенезе эпилепсии значительную роль играют процессы апоптоза, запускающие каскад реакций, способных включать транскрипцию специфичных генов и активацию каспаз.

Целью работы было исследование возможностей коррекции апоптоза с помощью пифитрина-α при длительном аудиогенном киндлинге на модели крыс Крушинского–Молодкиной.

Материалы и методы. В качестве экспериментальной модели были использованы крысы линии Крушинского–Молодкиной с наследственной аудиогенной эпилепсией, стабильно отвечавшие на звуковую стимуляцию (частота 9 kHz и мощность 50 dB) тонико-клоническим припадком. Животным производили внутривentricularные инъекции растворителя (DMSO) или пифитрина-α (2 мг/кг), а затем подвергали киндлингу в течение 14 дней, затем следовали 7 дней отдыха. Исследовали экспрессию проапоптотического белка p53 (иммуногистохимия) и caspase-3, -8 (Western blotting) в височной доле и гиппокампе.

Результаты и обсуждение. Во всех исследуемых областях головного мозга (височная кора, подлежащее белое вещество, зона СА4 гиппокампа, гранулярный слой зубчатой извилины, хилус) животных, подвергавшихся киндлингу, наблюдается усиление экспрессии

p53 по сравнению с контрольными группами. При введении пифитрина-α и последующем киндлинге уровень p53 не отличается от уровня в контрольных группах и значительно снижен по сравнению с группой, подвергавшейся киндлингу с введением растворителя. В случае с caspase-3 и caspase-8 ни киндлинг, ни введение пифитрина-α эффекта на их экспрессию в исследуемых отделах мозга не оказали.

Основной терапевтический эффект пифитрина-α (антиапоптотический нейропротективный) в височной доле и гиппокампе экспериментальных животных опосредован ингибированием p53-опосредуемого пути апоптоза. Исследование не показало активной роли каспаз в реализации апоптоза при длительном аудиогенном киндлинге в исследуемых областях головного мозга.

Источники финансирования. Работа была выполнена в соответствии с тематическим планом прикладных научно-исследовательских работ по Гос.заданию ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России и при поддержке Гос.задания ИЗФБ РАН 075-00264-24-00.

ИЗУЧЕНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ МОЗГА У ЖИВОТНЫХ С МОДЕЛЬЮ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Бердников А.К., Розанова Н.А., Новикова С.В., Колотьева Н.А.

ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва

В современной литературе обсуждается роль малых молекул в развитии болезни Паркинсона (БП). Было показано, что у пациентов с БП обнаруживают повышенный уровень лактата в крови и спинномозговой жидкости, что коррелирует с тяжестью заболевания. Это может быть связано с нарушением окислительного фосфорилирования в митохондриях клеток нейроваскулярной единицы. Кроме того, обнаруживают снижение активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ), которая участвует в процессах конверсии лактата и пирувата, образовании НАД⁺ из НАДН. Известно, что уровень НАД⁺ играет важную роль в метаболизме, энергетическом балансе клеток, а также в механизмах, связанных со старением и нейродегенерацией. Актуально изучение метаболической пластичности клеток мозга, определяемой метаболизмом НАД⁺ и лактата при БП.

Цель исследования заключается в изучении динамики изменений уровней НАД⁺ и лактата в среднем мозге крыс с ЛПС-индуцированной экспериментальной БП на 7-е и 28-е сутки.

Материалы и методы. Моделирование экспериментальной БП у крыс линии Wistar (n=10) проводили путем юнилатерального введения липополисахарида (ЛПС) в область черной субстанции правого полушария головного мозга, с левой стороны вводился изотонический раствор NaCl в том же объеме. Контрольной группе животных вводили растворитель (n=6). Забор материала осуществляли через 7 и 28 сут после введения ЛПС. В гомогенате мозга исследовали уровень лактата и НАД⁺ методом спектрофотометрии с применением коммерческих наборов.

Результаты. Было показано, что введение ЛПС в область черной субстанции сопровождалось статистически значимым повышением уровня НАД⁺ в гомогенате мозга животных, выведенных из эксперимента на 28-е сутки после операции по сравнению с уровнем НАД⁺ в гомогенате мозга на

7-е сутки. Различие между контролем и опытом уровня лактата в ткани головного мозга имело тенденцию к увеличению на 28-е сутки эксперимента.

Вывод. Таким образом, увеличение уровня НАД⁺, лактата на 28-е сутки эксперимента может свидетельствовать о проявлении компенсаторных механизмов в поврежденных участках мозга в результате усиления астроглиального гликолиза. Перспективно дальнейшее изучение влияния механизма положительной обратной связи на активацию астроцитов в черной субстанции и развитие нейровоспаления при БП. Кроме того, важно изучить, как клетки астроглиальной природы метаболизируют лактат, сопряженный с НАД⁺.

Источники финансирования. Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ №24-25-00239.

О-ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЕ — ПРОЦЕСС, КОТОРЫЙ ОБЪЕДИНЯЕТ ГИПЕРГЛИКЕМИЮ И НЕЙРОВОСПАЛЕНИЕ

Буравков М.С., Фокина М.А.

ФГОАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова»
Минздрава России, Москва

Гипергликемия, увеличение концентрации глюкозы в плазме крови, и системное воспаление — два состояния, характерных для сахарного диабета. Одним из проявлений системного воспаления является нейровоспаление, которое может приводить к снижению когнитивных функций у данной группы больных. Именно поэтому для разработки терапии важно изучить биохимические механизмы, общие для этих процессов.

О-гликозилированию, присоединению молекулы N-ацетилглюкозамина, подвергается большое количество белков, что делает О-гликозилирование одним из основных регуляторных процессов организма. Клетки микроглии — резидентные макрофаги центральной нервной системы, которые играют главную роль в нейровоспалении. В исследованиях на культуре клеток было показано, что в условиях гипергликемии микроглия приобретает воспалительный фенотип [1]. Это свидетельствует об активации воспалительных путей, которые регулируются частично с помощью О-гликозилирования [2]. Но также известно, что в условиях гипергликемии активность О-гликозилирования увеличивается [3]: это приводит к нарушению регуляции иммунных процессов и активации микроглии.

Таким образом, гипергликемия посредством О-гликозилирования способствует развитию нейровоспаления. Влияние на пути О-гликозилирования представляет собой большой интерес для терапии сахарного диабета и неврологических нарушений при этом состоянии.

Литература

1. Komorowska J. et al. The Role of Glucose Concentration and Resveratrol in Modulating Neuroinflammatory Cytokines: Insights from an *In Vitro* Blood–Brain Barrier Model //Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research. 2023. T. 29. С. e941044-1.

2. He C. et al. LncRNA TUG1 mediates microglial inflammatory activation by regulating glucose metabolic reprogramming // Scientific Reports. 2024. T. 14. №. 1. С. 12143.

3. Copeland R. J., Bullen J. W., Hart G. W. Cross-talk between GlcNAcylation and phosphorylation: roles in insulin resistance and glucose toxicity //American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2008. T. 295. №. 1. С. E17-E28.

ИЗОМЕРИЗАЦИЯ БЕТА-АМИЛОИДА УСИЛИВАЕТ ЕГО ТРАНСПОРТ ЧЕРЕЗ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКИЙ БАРЬЕР

Варшавская К.Б., Петрушанко И.Ю., Митькевич В.А., Барыкин Е.П., Макаров А.А.
ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН, Москва

Болезнь Альцгеймера (БА) — наиболее распространенное нейродегенеративное заболевание, которое характеризуется различными патологическими маркерами в головном мозге, одним из которых является накопление бета-амилоидного пептида (АВ). АВ способен претерпевать различные посттрансляционные модификации, которые изменяют его патогенные свойства. Одной из таких модификаций является изомеризация остатка аспарагиновой кислоты в 7-м положении. Данная модификация более склонна к агрегации, чем немодифицированный АВ, и обладает большей токсичностью. Известно, что при БА возникает нарушение функционирования гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). ГЭБ контролирует поступление АВ из плазмы в мозг через рецептор RAGE, а также удаление АВ из головного мозга с помощью рецептора LRP-1. Здесь мы охарактеризовали транспорт немодифицированного АВ (АВ42) и изомеризованного АВ (isoD7-АВ42) через ГЭБ. Для исследования транспорта изоформ АВ использовали *in vitro* модель ГЭБ, представляющую собой эндотелиальные клетки головного мозга мыши bEnd.3, высеянные на мембрану трансвелл. Транспорт изоформ АВ оценивали с помощью иммуноферментного анализа (ИФА). Ингибиторы эндоцитоза и антагонист RAGE использовали для характеристики механизмов транспорта АВ. Эндотелиальную проницаемость оценивали с помощью флуоресцеина натрия. Было показано, что isoD7-АВ42 лучше проникает через ГЭБ, чем немодифицированный АВ42. Транспорт АВ42 зависит от кавеолина, но транспорт isoD7-АВ42 зависит как от кавеолин-, так и от клатрин-опосредованного эндоцитоза. Альбумин усиливает транспорт изоформ АВ через ГЭБ. В лизатах клеток bEnd.3 были обнаружены более высокие уровни АВ42 по сравнению с isoD7-АВ42. Таким образом, изомеризация АВ увеличивает скорость его транспорта через ГЭБ и модифицирует механизмы транспорта. Аль-

бумин повышает эффективность транспорта изоформ АВ через ГЭБ, что может иметь значение для патологии и лечения БА.

Источники финансирования: Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Контракт в системе электронный бюджет № 075-15-2024-530).

НЕЙРОМЕДИАТОРНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ В РЕАЛИЗАЦИИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ МОРФИНА

Виницкая А.Г., Лелевич В.В.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь

Моделирование морфиновой интоксикации на грызунах — общепринятый способ изучения метаболических нарушений в тканях, возникающих при употреблении опийных наркотиков. Нейромедиаторы головного мозга гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) и глутамат остаются в центре внимания в связи с предполагаемой ролью в опосредовании поведенческих последствий опийной интоксикации.

Целью исследования была оценка изменений уровней некоторых нейромедиаторных аминокислот в среднем мозге при различных видах морфиновой интоксикации.

Были использованы модели острой и хронической морфиновой интоксикации. В остром эксперименте крысам вводили однократно внутривенно 1% раствор морфина в дозах 10 мг/кг и 20 мг/кг массы тела. Контрольным животным вводили внутривенно эквивалентные количества физиологического раствора. Хроническую морфиновую интоксикацию моделировали внутривенным введением 1% раствора морфина на протяжении 7, 14 и 21 сут в увеличивающихся дозах 10–40 мг/кг/сут. Контрольным животным вводили эквивалентные количества физиологического раствора, используя описанную выше схему. В обоих экспериментах крыс декапитировали через 1 ч после последней инъекции морфина и физиологического раствора, извлекали головной мозг и выделяли средний мозг. В гомогенатах отдела мозга определяли уровни ГАМК, глутамата, глутамина, аспартата и глицина методом обращеннофазной хроматографии.

При введении морфина в дозе 10 мг/кг в среднем мозге достоверно выросли концентрации глутамата и глутамина. Увеличение дозы морфина до 20 мг/кг привело к увеличению концентрации возбуждающего нейромедиатора — аспартата на фоне отсутствия достоверных сдвигов в значениях других показателей. Продолжительное введение морфина привело к достоверному повышению уровня аспартата при всех сроках

введения препарата. Содержание глицина и ГАМК было снижено во всех группах морфинзависимых животных с усилением означенной тенденции по мере увеличения продолжительности интоксикации.

Таким образом, однократное введение морфина оказывает легкое возбуждающее действие, вероятно, за счет увеличения в среднем мозге уровней возбуждающих аминокислот. Хроническая морфиновая интоксикация сопровождается ростом уровней возбуждающих и снижением — тормозных нейромедиаторных аминокислот, наиболее выраженным при максимальных сроках интоксикации.

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ БЕЛКОВ МЕЖКЛЕТОЧНЫХ КОНТАКТОВ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ПАРКИНСОНИЗМЕ

Градинарь М.М., Шулькин А.В., Черных И.В., Абаленихина Ю.В., Якушева Е.Н.
ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минз-
драва России, Рязань

Болезнь Паркинсона представляет собой прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, характеризующееся нарушением гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), который контролирует обмен веществ между кровью и мозгом. При изменении проницаемости ГЭБ может существенно нарушаться проникновение в мозг системно вводимых препаратов, что приводит к неэффективной лекарственной терапии заболеваний мозга. Окклюдина и ZO1 — трансмембранные белки плотных контактов, которые функционируют как в создании барьера межклеточной проницаемости, так и в создании барьера внутримембранной диффузии.

Цель — оценить изменение уровня белков межклеточных контактов окклюдина и ZO1 при экспериментальном токсическом паркинсонизме. Исследование выполнено на крысах-самцах Wistar массой 280–320 г в количестве 34 голов. Контрольным животным ($n=5$) производили инъекцию подсолнечного масла в течение 28 дней в объеме 1 мл/кг подкожно 1 раз в сутки. Животным экспериментальных групп моделировали токсический паркинсонизм — инъекция ротенона («Sigma», США) в виде масляного раствора на протяжении 7 ($n=5$) и 28 ($n=7$) суток кратно 1 раз в сутки в дозе 2,5 мг/кг. Животных выводили из эксперимента передозировкой золетил в дозе 30 мг/кг массы («Золетил 100», «Virbac S.A.», Франция), для исследования извлекали средний мозг. В гомогенате мозга методом иммуноферментного анализа (ELISA kit «Cloud-Clone Corp», Китай) оценивали уровень дофамина. Относительное количество окклюдина и ZO1 определяли методом вестерн-блот. Статистическую обработку данных проводили с помощью теста ANOVA, попарные сравнения выполняли с помощью критерия Тьюки.

В экспериментальной группе у животных наблюдалась типичная клиническая кар-

тина паркинсонизма, что сопровождалось достоверным снижением содержания дофамина в среднем мозге на 68,7% ($p<0,05$) по сравнению со значениями в контрольной группе. Относительное количество ZO-1 на 7-е сутки снижалось на 18% ($p<0,05$), а окклюдина — на 36,5% ($p<0,05$) и 24% ($p<0,05$) на 7-е и 28-е сутки соответственно по сравнению с контрольными значениями.

Вывод. При экспериментальном токсическом паркинсонизме, моделируемом с помощью ротенона, наблюдается снижение относительного количества белков плотных межклеточных контактов окклюдина и ZO-1, что приводит к повышению проницаемости гематоэнцефалического барьера.

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ПРОАПОПТОТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ С НЕУПОРЯДОЧЕННОЙ СТРУКТУРОЙ ПУТЕМ ИХ ПОСТТРАНСЛЯЦИОННОГО АЦЕТИЛИРОВАНИЯ

Демьяненко С.В.

ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», Ростов-на-Дону

Факторы транскрипции p53, c-Мус и E2F1 являются мультифункциональными белками с неупорядоченной структурой. Комбинация посттрансляционных модификаций имеет решающее значение для контекстного функционирования подобных белков в ответ на внешние стимулы. Сайты ацетилирования значительно консервативнее и эволюционно древнее сайтов фосфорилирования, но гораздо менее изучены.

В связи с этим, нас интересовали изменения ацетилирования p53, c-Мус и E2F1 в нейронах и астроцитах перифокальной области фототромботического инфаркта коры мозга грызунов, а также влияние точечного ацетилирования этих белков на апоптоз клеток после ишемии.

Удалось установить, что ацетилирование p53 по лизину 320, но не по лизину 373, осуществляется ацетилтрансферазой PCAF и гистондеацетилазами HDAC1 и HDAC6, что облегчает перемещение p53 между ядром и цитоплазмой и способствует выживанию нейронов ишемической пенумбры. Ацетилирование c-Мус по лизину 148, но не по лизину 323 ацетилтрансферазой p300, дестабилизирует белок, препятствуя его связыванию с Max и снижая его проапоптотический потенциал. В качестве деацетилазы c-Мус, ацетилированного по лизину 148, выступает SIRT2, а по лизину 323 — HDAC2. Ацетилирование E2F1 по лизину 117 ацетилтрансферазами PCAF и в меньшей степени p300 способствует образованию комплекса с его ингибитором белком ретинобластомы. С другой стороны, ацетилирование E2F1 по лизину 125, вероятно, также имеет инактивирующий характер, поскольку такая модификация E2F1 приводит к закрытию трансактивационного домена E2F1, препятствуя его связыванию с другими белками.

Наши исследования поддерживают эффективность селективного ингибирования деа-

цетилаз гистонов HDAC2 и HDAC6 в защите нейронов после инсульта, что имеет потенциал для терапии, направленной на увеличение выживаемости нейронов пенумбры и снижение функционального дефицита после ишемического инсульта.

Источники финансирования: Российский научный фонд, проект №24-15-00268

ГЕН КАТЕХОЛ-О-МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ

Карягина В.Е.^{1,2}, Стальнова Д.², Ганцова А.^{2,3}, Иванов М.¹, Силачев Д.¹, Ельчанинов А.^{2,3}, Фатхудинов Т.², Сопова Ю.⁴, Леонова Е.⁴, Вишнякова П.^{1,2}

¹ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», НИИ молекулярной и клеточной медицины, Москва

³ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына, Москва

⁴ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Центр трансгеноза и редактирования генома, Санкт-Петербург

Ген катехол-О-метилтрансферазы (COMT) кодирует фермент, который играет важную роль в метаболизме таких катехоламинов, как дофамин, норадреналин и адреналин. Фермент COMT расщепляет эти нейротрансмиттеры, поддерживая баланс их концентраций в мозге и других тканях. Процесс метаболизма катехоламинов важен для регуляции нормального функционирования нервной системы, включая контроль настроения и реакций на стресс. COMT также превращает метаболиты эстрогена, катехолэстрадиолы, такие как 2-гидроксиэстрадиол и 4-гидроксиэстрадиол, посредством ферментативного О-метиляции в 2-метоксиэстрадиол и 4-метоксиэстрадиол. Снижение уровня эстрогеновых метаболитов является одной из особенностей такого гестационного заболевания, как преэклампсия, которое проявляется повышением артериального давления и полиорганными нарушениями после 20 недель беременности. Разработка новых нокаутных моделей и их комплексная характеристика — важная и актуальная задача современной биомедицины.

Целью нашей работы было создание новой COMT^{-/-} линии мышей и оценка эффекта этого нокаута с точки зрения гистоархитектоники ткани, физиологии беременности и поведенческих аспектов.

Материалы и методы: создание нокаутной модели; ПЦР в реальном времени; гистологический анализ; измерение артериального давления; измерение белка в моче; моделирование черепно-мозговой травмы (ЧМТ) у мышей; тест Ротарод (вращающийся стержень); статистический анализ.

Результаты. Было показано, что нокаут гена COMT не приводит к развитию клинической картины преэклампсии: статистической разницы между контрольной группой и беременными мышами COMT^{-/-} по уровню артериального давления и содержанию белка в моче обнаружено не было. Гистология печени, легких, мозга, тимуса, поджелудочной железы, мочевого пузыря, сердца, легких плаценты и матки также не показала различий между группами. Данные ПЦР в реальном времени показали сравнимую экспрессию гена COMT у животных дикого типа и COMT^{-/-}. Статистическая разница наблюдалась при моделировании ЧМТ и в тесте Ротарода у мышей: время падения COMT^{-/-} мышей с вращающегося стержня было значительно меньше, а объем повреждения мозга после ЧМТ больше, чем у контрольных животных, что указывает на потенциальную протекторную роль COMT-метаболитов.

Работа выполнена при финансовой поддержке научного проекта «Разработка прототипов лекарственных средств на основе аллогенных мезенхимальных стромальных клеток» (№ 1022041100336-7).

ЦИФРОВЫЕ ДВОЙНИКИ КЛЕТОК-КОМПОНЕНТОВ НЕЙРОВАСКУЛЯРНОЙ ЕДИНИЦЫ

Колотьева Н.А.^{1,2}, Яковлев Е.В.², Симкин И.В.², Новикова С.В.^{1,2}, Широкова А.А.², Крючков Н.П.²

¹ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва

²ФГБОУ ВО «Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана (национальный исследовательский университет)», Москва

Клеточные модели играют важную роль в изучении молекулярных основ и механизмов развития ЦНС. Они используются для поиска, разработки и скрининга лекарств, способных проникать через гематоэнцефалический барьер. Создание таких моделей требует усилий, включая высокую квалификацию специалистов, дорогостоящие материалы, содержание вивария, длительное время культивирования клеток мозга, этические вопросы. Эти факторы ограничивают широкое использование клеточных технологий. Эволюция в области компьютерных технологий, развитие алгоритмов машинного обучения способствуют применению искусственного интеллекта в медицине. Это помогает повысить объективность, эффективность обработки и интерпретации больших объемов данных. Разработка технологии цифровых двойников представляет собой перспективный подход для биомедицинских исследований.

Культуру астроцитов получали из крыс линии Wistar (PD 1-2) методом ферментно-механической диссоциации. Клетки культивировали с добавлением растворов лактата (1 мМ), малата (0,5 мМ), никотинамида (0,1 мМ), перекиси водорода (0,1 мМ). Фазово-контрастную микроскопию проводили с использованием системы визуализации «EVOS M7000». Оценивали жизнеспособность и уровень клеточной гибели. Для обработки изображений был разработан программный пакет на основе методов машинного обучения, который позволил на изображениях распознавать клетки и оценивать их морфологические параметры. Было проведено сравнение структурно-морфологических особенностей и жизнеспособности астроцитов с изменением микроокружения и без. Это позволило получить временные зависимости параметров: площадь клетки, длина отростков, число ветвей в отростках, соответствующие дисперсии для разных дней культивирования.

Оценка фотографий астроцитов после культивирования с никотинамидом демонстрирует достоверное изменение морфологии клеток, что является важным критерием для оценки эффективности разработанного нейросетевого пакета. Таким образом, технология машинного обучения значительно ускоряет обработку изображений микроскопии.

Этот подход имеет универсальный характер, может быть использован для различных культур клеток и клеточных линий, что позволяет автоматизировать процесс анализа данных. Компьютерное моделирование, создание динамических моделей и симуляция жизнедеятельности клеток с изменением микроокружения позволяют частично отказаться от дорогостоящих и ресурсоемких экспериментов, ускорить получение результатов, разработку новых терапевтических подходов в персонализированной медицине.

Источники финансирования: Приоритет-2030.

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ТЕРАПИИ ЭПИЛЕПСИИ

Кондрахин П.Ю., Колпаков Ф.А.

Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Сириус

Эпилепсия — хроническое неврологическое заболевание, характеризующееся склонностью организма к спонтанному возникновению судорожных приступов. От нее страдает порядка 70 млн человек по всему миру. В мозгу человека, подверженного эпилепсии, возбуждающая активность превалирует над тормозящей. В результате этого целые группы нейронов начинают синхронно производить электрические разряды большой мощности. Эти разряды способны распространяться на другие части нервной системы, что приводит к возникновению приступа. Противозипилептические препараты могут существенно уменьшить патологическую активность нейронов или полностью ее подавить. Однако, несмотря на наличие более 30 противозипилептических препаратов с разнообразными механизмами действия, примерно треть пациентов с эпилепсией невосприимчива к медикаментозному лечению.

Использование компьютерного моделирования для изучения механизмов ответа нервных клеток на лекарственную терапию эпилепсии позволит улучшить понимание природы этого многофакторного заболевания и впоследствии повысить эффективность лечения, а также снизить риск побочных эффектов.

Цель работы заключается в построении математической модели эпилепсии, описывающей механизмы функционирования нервных клеток с учетом динамики основных мишеней противозипилептических препаратов.

Для достижения поставленной цели на платформе BioUML были воспроизведены результаты ряда существующих моделей, учитывающих основные клеточные процессы, наиболее важные в патологической составляющей эпилепсии. На основании воспроизведенных моделей была проведена разработка и построение модульной модели. В результате работы была создана модульная

компьютерная модель эпилепсии, описывающая динамику большинства основных молекулярных мишеней противосудорожных препаратов и позволяющая проводить моделирование воздействия на них медикаментозных средств. Модель учитывает основные молекулярные механизмы, участвующие в контроле возбуждения и торможения в нейрональной синаптической сети. В частности, большое внимание уделено динамике ионных токов, рецепторов и нейромедиаторов. Сравнительный анализ результатов численных расчетов построенной модели с данными из литературы показал качественное воспроизведение основных эффектов, наблюдаемых во время лекарственной терапии эпилепсии препаратами первой линии.

Построенная модель может обоснованно использоваться при исследовании медикаментозной терапии эпилепсии.

Источники финансирования. Финансирование проекта осуществлялось Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-10-2021-093).

НОВЫЕ ПОДХОДЫ РЕДОКС-БИОХИМИИ ДЛЯ *IN VIVO* ИССЛЕДОВАНИЙ ПРОЦЕССОВ В МОЗГЕ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Костюк А.И.^{1,2}, Сергеева А.Д.^{1,3}, Храмова Ю.В.^{4,1}, Катруха В.А.¹, Чебаненко В.В.¹, Носова А.Е.¹, Петрунина Н.А.^{1,3}, Наумов Л.Л.^{1,4}, Васильева К.В.¹, Почечуев М.С.⁴, Чеботарев А.С.⁴, Ланин А.А.^{4,5}, Федотов И.В.^{4,5}, Мощенко А.А.³, Федотов А.Б.^{4,5}, Тяглик А.Б.^{1,4}, Федотова А.А.^{4,1}, Морозова К.И.⁴, Семьянов А.В.^{1,4}, Браже Н.А.^{4,1}, Белоусов В.В.^{1,2,3,6}, Билан Д.С.^{1,2,3}

¹ФГБУН ГНЦ РФ «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

³ФБГУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» ФМБА РФ, Москва

⁴ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Москва

⁵ООО «Международный центр квантовой оптики квантовых технологий» (Российский квантовый центр), Москва

⁶ООО «ЛИФТ Центр» (Life Improvement by Future Technologies (LIFT) Center, Москва

Многие процессы в клетках как в норме, так и при развитии патологий сопровождаются продукцией высокореактивных соединений, среди них различные представители активных форм кислорода, серы, галогенов, азота. Редокс-активные соединения отличается высокая способность к взаимодействию с различными внутриклеточными мишенями. Эти взаимодействия вызывают модификации редокс-соединений, которые могут быть специфично образованы, реализуя пути внутриклеточного сигналинга, или могут нести повреждающий характер в случае неконтролируемой регуляции. Время жизни таких участников редокс-реакций внутри клетки крайне ограничено и составляет в большинстве случаев секунды или меньше, что всегда вызвало трудности при исследовании. Например, считается общепринятым, что патогенез большинства заболеваний, в том числе тканей мозга, сопровождается выраженным окислительным стрессом, однако динамику самих маркеров окислительного стресса никогда не визуализировали в тканях напрямую.

Наша команда занимается разработкой и применением в различных моделях генетически кодируемых биосенсоров на основе флуоресцентных белков. Биосенсор, который по своей природе белок, вступает в специфичные редокс-взаимодействия с целевым аналитом, что отражается на изменении флуоресцентного сигнала. Такой биосенсор

может быть доставлен в интересующие типы клеток или их определенные внутриклеточные компартменты.

Для *in vivo* исследования редокс-процессов в глубоких тканях мозга лабораторных грызунов мы используем подход регистрации сигнала биосенсора через предварительно имплантированные в мозг оптические волокна. Регистрация сигнала может быть реализована также через краниальные окна, через которые в коре мозга можно визуализировать не только события в клетках и межклеточные взаимодействия по динамике флуоресценции, но и снимать спектры комбинационного рассеяния света. Такое сочетание методов позволяет получать данные о динамике нескольких редокс-параметров. С помощью указанных технологий мы исследовали редокс-параметры разных клеток мозга грызунов *in vivo* при развитии ишемических состояний и вызванных воспалительных процессов.

Традиционно исследования мозга *in vivo* проводят на мелких лабораторных млекопитающих. Однако благодаря прозрачности тканей и простоте манипуляций, в том числе при создании трансгенных линий, все большую популярность приобретает объект рыба *Danio rerio*. Нам удалось провести масштабное сравнение редокс-параметров в клетках разных органов *D.rerio* в условиях гипоксии.

Источники финансирования. При поддержке грантов РФФ № 22-15-00299, № 23-75-30023.

ВЛИЯНИЕ АМИЛОИДОГЕННЫХ БЕЛКОВ И ИХ ФРАГМЕНТОВ НА ПАТОЛОГИЧЕСКУЮ ТРАНСФОРМАЦИЮ ДРУГ ДРУГА

Кудрявцева С.С.¹, Уразов Д.О.², Муронец В.И.^{1,3}

¹ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Москва

²ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Факультет биотехнологии и биоинформатики, Москва

³ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Химический институт имени А.М. Бутлерова, Казань

В природе существует ряд тяжёлых нейродегенеративных заболеваний, обусловленных накоплением белковых агрегатов в клетках нервной ткани. При их развитии изменяется вторичная структура амилоидогенных белков, что приводит к их амилоидной агрегации. К сожалению, в клинической практике до сих пор отсутствуют методы ранней диагностики и профилактики таких заболеваний.

Мы решили обратить внимание на взаимодействия между белками, склонными к амилоидной трансформации, чтобы изучить влияние данных процессов на формирование патологических агрегатов и, возможно, обнаружить новые механизмы развития нейродегенеративных заболеваний.

Причиной возникновения различных синуклеинопатий является патологическая трансформация белка альфа-синуклеина (α -syn). В нативном состоянии он существует в виде естественно развёрнутого белка, который может приобретать α -спиральную структуру. Однако его центральный домен способен перестраиваться в β -тяж, что вызывает амилоидизацию белка. Также амилоидным белком является прионный белок (PrP). Его структура представлена двумя разными доменами: неструктурированным N-концевым и C-концевым, состоящим из трёх α -спиралей и двух β -тяжей.

Проведённый нами белковый докинг показал, что структурированный C-концевой домен PrP взаимодействует с фрагментом фибриллы α -syn за счёт своего β -тяжа, поэтому для дальнейших исследований нами был получен препарат, содержащий структурированный домен прионного белка. При этом клетки *E. coli* были трансфицированы генетической конструкцией, в составе которой к последовательности C-концевого

фрагмента PrP были добавлены гис-таг и белок SUMO, что важно для восстановления нативной структуры домена в процессе его очистки. Добавленный сайт гидролиза TEV-протеазы позволяет в конечном итоге получить очищенный препарат фрагмента. Метод динамического светорассеивания доказал, что мы получили C-концевой фрагмент в виде мономера. Однако метод кругового дихроизма продемонстрировал, что фрагмент содержит в своём составе больше β -структур, чем полноразмерный PrP.

Параллельно мы заинтересовались взаимодействием мономеров альфа-синуклеина с неструктурированным N-концевым доменом PrP, так как обе белковые молекулы имеют схожую природу. Их ко-инкубация в присутствии теофлавина Т привела к образованию амилоидных агрегатов, морфологию которых мы продолжим изучать с помощью электронной микроскопии.

Источники финансирования. Работа была выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 24-44-20003).

ТРАНСКРИПТОМНОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ ПЕРВИЧНЫХ КУЛЬТУР ГЛИОБЛАСТОМЫ С РАЗЛИЧНЫМ РЕДОКС-СТАТУСОМ

Кудряшова О.М.^{1,2}, Кордюкова М.Ю.¹, Сорокина М.А.^{2,3}, Абакумова Т.О.², Пацап О.И.¹, Газизова Г.Р.⁴, Шагимарданова Е.И.^{3,4,5,6}, Гусев О.А.^{1,3,4,5,7}, Белоусов В.В.^{1,2,3}

¹ФБГУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» ФМБА РФ, Москва

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

³ООО «ЛИФТ Центр» (Life Improvement by Future Technologies (LIFT) Center, Москва

⁴ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань

⁵ГБУЗ «Московский клинический научный центр им. А.С. Логинова» Департамента здравоохранения Москвы, Москва

⁶Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Сколковский институт науки и технологий», Москва

⁷Университет Джунтендо, Медицинский факультет, Токио, Япония

Глиобластома (GBM) является наиболее распространенной и агрессивной неоплазией головного мозга у взрослых. Антиоксидантные системы опухолевых клеток обладают высокой эффективностью. Препарат Ауранофин давно используется для лечения ревматоидного артрита и воздействует на одну из основных антиоксидантных систем — тиоредоксин-зависимую систему (TrxR).

В данном исследовании проводилась реконструкция молекулярных характеристик первичных клеточных линий GBM, обогащенных стволовыми клетками, по данным РНК-секвенирования в сравнении с их редокс-статусом с целью выявления характеристик чувствительности линий к Ауранофину.

Молекулярное типирование клеточных линий стволовых клеток (СК) глиобластомы показало применимость деления на пронеуральный и мезенхимальный молекулярные подтипы, причем образцы мезенхимального подтипа разделились на две подгруппы, отличающиеся по экспрессии ключевых генов семейства *SOX*, *NCAM1*, *SERPINE1*, *FN1*. Ранее была показана зависимость опухолевых клеток от системы TrxR с нарушением глутатионовой оси (механизм synthetic lethality), однако для многих чувствительных к ауранофину СК GBM не наблюдалось нарушений в глутатионовой антиоксидантной оси.

Анализ дифференциальной экспрессии генов (ДЭ) выявил 56 генов, значимо увеличивших свою экспрессию в клеточных линиях СК GBM, чувствительных к ауранофину, и 76

пониживших. Гены, повысившие экспрессию, статистически значимо были связаны с регуляцией нейрональных клеток и уровня их пролиферации, а понизившие экспрессию ДЭ гены — с путём дифференцировки клеток через путь WNT и Rho-киназами. Чувствительные к ауранофину линии также имели менее выраженную генную сигнатуру EMT перехода.

Полученные результаты указывают на более сложный механизм поддержания окислительно-восстановительного баланса и возможность определения пациентов, потенциально чувствительных к ауранофину.

РОЛЬ ПОЛИАМИНОВ В ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МОЗГА

Маклецова М.Г., Кириченко Е.Ю., Родькин С.В., Вакуленко М.Ю., Ермаков А.М.
ФГБОУ ВО «Донской государственный технический университет», Ростов-на-Дону

Научные труды академика Т.Т. Березова, которые сформировали новое направление в биомедицинской науке, современной биохимии и онкологии, были направлены на изучение метаболизма аминокислот и их производных, в том числе полиаминов. Следует отметить, что научные интересы и исследовательские проекты Темирболата Темболатовича были связаны не только с онкологией, но и с изучением биохимии мозга. Так, были исследованы особенности метаболизма полиаминов при ишемии/гипоксии мозга, нейродегенеративных заболеваниях, шизофрении и др. патологических состояниях ЦНС (Березов Т.Т., Маклецова М.Г., Сяткин С.П. и др. Роль обмена полиаминов в функциональной активности мозга в норме и при патологии. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2013;113(7):65-70). В настоящее время это направление получило дальнейшее развитие, о чем свидетельствуют новые убедительные доказательства роли спермидина и спермина в патогенезе заболеваний: болезни Паркинсона, Альцгеймера, получены новые данные об особенностях метаболизма полиаминов в структурах мозга (нейронах и глии), формировании щелевых контактов, роли полиаминов в реализации стрессорной реакции и др. Тем не менее, требуются дальнейшие исследования в данном направлении, чтобы понять роль полиаминов в механизмах патогенеза патологий мозга, а также чтобы полученные результаты могли быть использованы в терапевтических целях. Ниже перечислены некоторые вопросы, ответы на которые являются предметом будущих направлений исследований: механизмы внутриклеточных, межклеточных и внутриорганизменных изменений в содержании полиаминов при различных патологиях: внутри- и субклеточные механизмы, лежащие в основе возраст-зависимого снижения содержания полиаминов; в основе специфического обмена полиамина при болезни Альцгеймера (противоречие между увеличением содержания в тканях и нейропротекторный

эффект при введении спермина), влияние полиаминов на активность нейрональных/глиальных ионных каналов и на когнитивные процессы. Роль полиаминов в ответной стресс-реакции, специфические процессы поглощения и высвобождения полиаминов, которые регулируют взаимодействие глии и нейронов, а также механизмы запуска полиаминного стресс-ответа. Роль полиаминов в формировании щелевых контактов при обучении, стрессе и последующем нарушении когнитивных процессов.

Источники финансирования: государственное задание FZNE-2024-0004.

МАРКЕРЫ АУТОФАГИИ В НОРМЕ И ПРИ ГИПЕРГОМОЦИСТИНЕМИИ МАТЕРИ В МОЗГЕ ПЛОДА И СТРУКТУРАХ ПЛАЦЕНТЫ

Михель А.В.^{1,2}, Горбова А.В.¹, Залозная И.В.¹, Щербицкая А.Д.^{1,2}, Арутюнян А.В.¹

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург

²ФГБНУ «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» РАН, Санкт-Петербург

Материнская гипергомоцистеинемия (ГГЦ) — комплексное состояние, негативно воздействующее на систему «мать-плацента-плод», что, в свою очередь, способствует возникновению когнитивных дисфункций у потомства. Всё больше исследований подчеркивает роль аутофагии в нормальных процессах развития как мозга плода, так и плаценты. Однако мало работ посвящено изучению динамики изменений маркеров аутофагии в мозге плода и в различных частях плаценты как в норме, так и при патологических состояниях, таких как ГГЦ.

Целью работы является исследование маркеров аутофагии в норме и при пренатальной ГГЦ в мозге плода, материнской и плодной частях плаценты (МЧП и ПЧП) на 14-й и 20-й день беременности (E14 и E20).

Самок крыс линии Wistar разделили на две группы: контрольной группе с 4-го дня беременности и до дня родоразрешения перорально вводили воду, подопытной — раствор метионина (0,6 г/кг массы). Исследование маркеров аутофагии (Beclin-1, LC3B, LAMP-2) в мозге плода, МЧП и ПЧП на E14 и E20 выполнено с помощью методики Western-Blotting.

В группе с материнской ГГЦ было выявлено повышение уровня LC3B без изменения в уровне Lamp-2 в МЧП на E14 и E20, что может говорить о накоплении аутофагосом без их слияния с лизосомами. В ПЧП же наблюдаются разнонаправленные изменения: снижение LC3B и LAMP-2 на E14; повышение Beclin-1, LC3B и LAMP-2 на E20. Подобные изменения могут свидетельствовать о нарушении баланса процесса аутофагии в этой части плаценты под воздействием ГЦ уже к середине беременности. В мозге же статистически значимых изменений на исследуемых сроках выявлено не было.

При рассмотрении динамики изменений (от E14 к E20) маркеров в норме было отмечено

повышение уровня LAMP-2 в МЧП, что может свидетельствовать о большей значимости к концу беременности именно лизосомальной аутофагии. Было обнаружено снижение LC3B в ПЧП, что может отражать уменьшение активности формирования аутофагосом к E20, обусловленное активной пролиферацией клеток и увеличением размера данной структуры. В свою очередь, было установлено повышение Beclin-1 на E14 в сравнении с E20 в мозге плода, что совпадает с периодом активного нейrogenеза.

Источники финансирования. Поддержано Российским научным фондом (№22-15-00393).

ПЕПТИДАЗЫ И СПОСОБ ЗАЩИТЫ ОТ НИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПЕПТИДОВ

Мосевичкий М.И., Кропотова Е.С.

ФГБУН «Институт высокомолекулярных соединений» РАН, Санкт-Петербург

Важные биохимические функции в организме выполняют пептиды, в частности, функционирующие в мозге нейропептиды. Их контролируют (по необходимости разрушают) соответствующие ферменты — эндо- и экзопептидазы.

Нами показано, что в мозге млекопитающих присутствует группа пептидаз, локализованных на внешней стенке аксонных окончаний нейронов, т.е. в области синаптической щели. Именно там происходит секреция нейропептидов и их функционирование, поэтому весьма вероятно, что указанная группа пептидаз, названная NEMP (Neuron-bound Exo MetalloPeptidases), осуществляет необходимый контроль (катаболизм) нейропептидов.

Помимо этой физиологической функции пептидазы NEMP способны разрушать вносимые в мозг лекарственные пептиды. В группе NEMP обнаружены пять ферментов: одна эндо- и четыре экзопептидазы. Мы определили, что экзопептидазы NEMP не способны нарушить в пептиде концевую связь, если в ней присутствует «необычная» аминокислота — бета-аланин. С учетом этого обстоятельства нами созданы отличающиеся пролонгированным действием модификации эндогенного обезболивающего пептида энкефалина [1]. Тем же способом можно защитить пептиды, направляемые в другие органы и ткани, включая кровь, т.к. везде присутствуют пептидазы, неспособные нарушить связь, в которой есть бета-аланин [2].

Защита пептидов от быстрого разрушения при внесении в организм открывает новые перспективы использования их в борьбе с инфекциями, в онкологии, обезболивании и др.

Литература

1. Kropotova ES, Ivleva IS, Karpenko MN, Mosevitsky M.I. Design of enkephalin modifications protected from brain extracellular peptidases providing long-term analgesia. *Bioorg. Med. Chem.*

2020;28(1):115184. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.115184>

2. Мосевичкий М.И., Кропотова Е.С. Защита лекарственных пептидов от присутствующих в организме пептидаз на примере противомикробного пептида LPRDA. Сборник тезисов докладов на конференции МОБИ-ХимФарма 2024, с. 95.

Источники финансирования. Институт высокомолекулярных соединений РАН.

ИНСТРУМЕНТЫ ОПТОГЕНЕТИКИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ РЕГУЛЯЦИИ СИСТЕМНОГО МЕТАБОЛИЗМА

Муравьев Г.С., Бровин А.Н., Бойченко С.С., Егоров А.Д.

Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Центр трансляционной медицины, Сочи

Рост заболеваемости ожирением является глобальной проблемой современной медицины. Несмотря на то, что распространение ожирения в значительной степени вызвано несбалансированным питанием и гиподинамией, было показано, что нарушения эндокринной регуляции также могут значительно влиять на метаболические процессы, в особенности, если воздействие происходит на ранних этапах развития плода. Действие многих веществ приводит к предрасположенности людей к набору массы тела, несмотря на их усилия ограничить потребление калорий и повысить уровень физической активности.

Белковый разобщитель термогенин (uncoupling protein 1, UCP1) высоко экспрессируется в клетках бурой жировой ткани. Исследования показывают, что при стимуляции экспрессии UCP1 в клетках белой жировой ткани они также приобретают способность к термогенезу, что может быть использовано в терапевтических целях. Предположительно, стимуляция недрожательного термогенеза у пациентов с висцеральным ожирением, метаболическим синдромом или диабетом 2-го типа может способствовать уменьшению избыточного объема белой жировой ткани за счет усиленного липолиза в жировой ткани.

По нашим экспериментальным данным, экспрессия UCP1 не ограничивается бурой жировой тканью. Мы обнаружили экспрессию UCP1 в головном мозге мышей, включая области мозга, которые имеют решающее значение для множества аспектов центральной регуляции энергетического гомеостаза. В связи с этим, нами был создан аденоассоциированный вирусный вектор серотипа РНР. еВ с высоким тропизмом к ЦНС, который кодирует конструкцию UCP1-Cre. Данная конструкция работает в тандеме с конструкцией AAV-Ef1α-DIO-hChR2(H134R)-EYFP-WPRE-pA. При введении данных конструкций одновре-

менно, мы сможем изучить оптогенетическую активацию UCP1-экспрессирующих нейронов в гипоталамусе.

Кроме того, исследование направлено на изучение роли UCP1 в регуляции пищевого поведения с использованием метода прижизненной оптогенетической стимуляции гипоталамических нейронов.

Источники финансирования. Исследование выполнено при поддержке гранта 22-14-20046 Российского научного фонда и Кубанского научного фонда на базе Центра трансляционной медицины Университета Сириус.

ВЛИЯНИЕ ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫХ МОДИФИКАЦИЙ И ШАПЕРОНОВ НА ВОЗНИКНОВЕНИЕ АМИЛОИДНЫХ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Муронец В.И.

ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», НИИ Физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Москва

Отличительной особенностью нейродегенеративных амилоидных заболеваний является накопление в нервных тканях фибрилл, состоящих из амилоидогенных белков — альфа-синуклеина, прионного белка и бета-амилоидного пептида. Однако накапливается все больше фактов, что нейротоксичностью обладают не только сформированные фибриллы этих белков, но менее их крупные агрегаты — протофибриллы, олигомеры и даже мономеры. Формирование амилоидных структур и их токсичность в значительной степени определяется пост-трансляционными модификациями как самих амилоидогенных белков, так и их белков-партнеров. В частности, модификациями, возникающими при других патологиях, прежде всего гликировании, характерном для диабета. Нитрозилирование и окислительные модификации также изменяют как скорость фибриллизации, так и структуру образующихся фибрилл. Важным фактором формирования амилоидных агрегатов является образование межмолекулярных дисульфидных связей, зависящих от окислительно-восстановительного статуса клеток.

Особый интерес представляет исследование роли разнообразных шаперонов в патологической трансформации амилоидных белков. Несмотря на то, что распространены представления об анти-амилоидном и анти-агрегационном действии шаперонов, накапливается все больше данных о стимуляции некоторыми шаперонами патологической трансформации амилоидогенных белков. При этом шапероны могут как вызывать переход белков в форму, подверженную амилоидогенности, так и разрушать фибриллы до частиц с большей нейротоксичностью. Направленность действия шаперонов может зависеть как от их типа (малые белки теплового шока, АТФ-зависимые шапероны, шаперонины), так и от их функционального состояния.

В частности, в наших работах было показано стимулирующее действие фаговых шаперонинов на амилоидную трансформацию прионного белка и альфа-синуклеина, которое наблюдалось только в присутствии АТФ.

Выявленные механизмы, участвующие в регуляции нейротоксичности амилоидных агрегатов, могут послужить основой для поиска средств профилактики и лечения нейродегенеративных амилоидозов.

Источники финансирования. Работа была выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект No 24-44-20003).

РОЛЬ РЕЦЕПТОРОВ NMDA В ЛЕЧЕНИИ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Новиков Т.М., Зендер М.М., Москвитина И.Е.

ФГБОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва

Актуальность. Изучение NMDA-рецепторов дает большие возможности для нахождения новых, более эффективных способов борьбы с ишемическим инсультом, что является важной задачей, так как ишемический инсульт — одна из ведущих причин смертности. Стероидная терапия после ишемического инсульта играет значительную роль в регуляции гена рецептора NMDA, что имеет большое значение для нормализации функций головного мозга.

Цели: определить понятие, локализацию и механизм работы NMDA-рецепторов. Провести обзор разных подходов к терапии ишемического инсульта с учетом влияния на NMDA-рецепторы.

Материалы и методы: анализ научно-исследовательской литературы, представленной на базах данных Pubmed, Cyberleninka.

Рецепторы NMDA играют ключевую роль в патофизиологии инсульта, и стероидная терапия может оказывать влияние на их регуляцию, что открывает путь к разработке новых методов лечения. После инсульта происходит избыточный выход глутамата, что приводит к активации NMDA и гибели клеток из-за притока ионов кальция. NMDA-рецепторы играют важную роль при психических и нейровоспалительных заболеваниях. Глутамат является основным нейромедиатором в ЦНС, и его инактивация происходит в глиальных клетках. Существуют ионотропные (AMPA, NMDA, KA) и метаботропные глутаматные рецепторы. NMDA-рецепторы представляют гетеротетрамер из субъединиц NR1, NR2 и NR3. Их роль при психических заболеваниях, таких как шизофрения, требует дальнейшего изучения, так как наличие антител к NMDA-рецепторам может быть связано с различными психическими расстройствами. Эксайтотоксичность при ишемии головного мозга заключается в избыточном высвобождении глутамата и аспартата, что приводит к гибели нейронов. Это явление представляет собой проявление патобиохи-

мического каскада церебральной ишемии. Исследование патогенеза и поиск маркеров ишемии являются важными задачами. Защитный эффект полипептидов *Achyranthes bidentata* (ABPP) при NMDA-опосредованном повреждении регулируется в процессе развития посредством дифференциальной модуляции NR2A и NR2B. ABPP — мощное средство лечения заболеваний, связанных с эксайтотоксичностью. Исследование показало, что ABPPs блокируют повреждения нейронов NMDA и обеспечивают нейропротекцию.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ И РЕГУЛЯЦИЯ УРОВНЯ ОМЕГА-3 ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В МОЗГЕ

Парнова Р.Г.

ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» РАН, Санкт-Петербург

Огромное количество данных свидетельствует о важнейшей роли полиненасыщенных жирных кислот омега-3 ряда в функционировании мозга. В мозге всех позвоночных животных, в том числе человека, в количественном отношении резко преобладает докозагексаеновая кислота (ДГК). В процессе пренатального развития происходит динамичное накопление ДГК в структурах мозга, где она активирует процессы нейрогенеза, разветвление и рост отростков нервных клеток, стимулирует образование дендритных шипиков, синаптических контактов, активируя процессы нейрональной и синаптической пластичности. ДГК обеспечивает необходимые физико-химические свойства липидного бислоя электровозбудимой мембраны и доменную «разупорядоченность» мембраны, регулирует работу ионных каналов, рецепторов, ферментов, активирует экспрессию белков синаптических контактов, усиливает продукцию BDNF, взаимодействует с транскрипционными факторами и активирует свои собственные мембранные рецепторы, такие как GPR40/FFAR1. Дефицит омега-3 жирных кислот в рационе приводит к снижению нейрогенеза, ухудшению пространственной памяти и способности к обучению, нарушению зрения, психомоторных функций и поведения, активации воспалительных и нейродегенеративных процессов. Известно, что развитие нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, а также старение приводит к снижению уровня ДГК в структурах мозга. Многочисленные данные клинической практики свидетельствуют о позитивных эффектах приема омега-3 жирных кислот на когнитивные процессы и психофизиологические состояния. Однако, несмотря на определенные успехи, добиться повышения уровня ДГК в ткани мозга, которое снижено при старении и нейропатологиях, оказывается довольно сложно. Введение ДГК в виде

триацилглицеринов, основных компонентов рыбьего жира, или свободной ДГК приводит к повышению ее уровня в жировой ткани и сердце, но не в мозге.

Открытия последних лет показали, что основной формой поступления ДГК в мозг является ее перенос в составе лизофосфатидилхолина, обеспечиваемый натрий-зависимым транспортером Mfsd2a, экспрессирующимся в эндотелии сосудов мозга. Снижение экспрессии Mfsd2a наблюдается при различных нейропатологиях.

Эти данные позволяют сделать переоценку существующих способов применения ДГК в качестве пищевой добавки для профилактики нейродегенеративных заболеваний.

Источники финансирования. Госзадание Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук (№ 075-00264-24-00).

ВЛИЯНИЕ ДИСБАЛАНСА ДОФАМИНА НА АКТИВНОСТЬ ЦЕРЕБРАЛЬНЫХ КАЛЬПАИНОВ

Пестерева Н.С., Трактиров Д.С., Назаров И.Р., Карпенко М.Н.
ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

Вовлечение кальпаинов в патогенез широкого спектра нарушений обусловлен их структурным и функциональным разнообразием. Хорошо изучены два генетических нарушения и одна форма рака, связанные с тканеспецифическими кальпаинами. Дефектный кальпаин 3 млекопитающих (также известный как p94) несет ответственность за мышечную дистрофию конечностей 2А, кальпаин 10 был идентифицирован как ген предрасположенности к сахарному диабету II типа, а кальпаин 9 — как супрессор опухоли при раке желудка. Более того, гиперактивация кальпаинов наблюдается в ряде патологий, связанных с изменением гомеостаза кальция, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезнь Гентингтона, образование катаракты, а также вторичная дегенерация в результате острого клеточного стресса после ишемии миокарда, церебральной (нейрональной) ишемии, черепно-мозговой травмы и повреждении спинного мозга. В заболеваниях, приведенных выше, детектировалась не только гиперактивация церебральных кальпаинов 1 и 2, но и дисрегуляция дофаминергической системы: как основной системы — паркинсонизм, так и сопутствующей — при рассеянном склерозе. Цель исследования — изучить эффекты дофамина на активность церебральных кальпаинов.

В работе моделировались гипо- и гипер-дофаминергические состояния на крысах линии Вистар. Гипофункционирование — введение резерпина в дозе 1 мг/кг или AMPT (Alpha-methyl-p-tyrosine) в дозе 100 мкг/кг, гиперфункционирование — введение Л-дофа (предшественник дофамина) в дозе 100 мг/кг. Затем были проведены зимографии (метод определения активности кальпаинов) и ВЭЖХ на интересующих нас структурах ЦНС: стриатум, гиппокамп, средний и продолговатый мозг, мозжечок.

В результате было выяснено, что дефицит дофамина вызывает: повышение актив-

ности кальпаина 2 после введения AMPT в стриатуме; снижение активности кальпаина 2 после введения Л-ДОФА. Избыток дофамина вызывает: повышение активности кальпаинов 1 и 2 в стриатуме после введения Л-ДОФА; снижение активности кальпаинов 1 и 2 в среднем мозге после введения резерпина.

Резюмируя полученные данные, необходимо подчеркнуть, что препараты, влияющие на работу дофаминергической системы, непременно будут оказывать воздействие и на активность кальпаинов, что важно учитывать при прогнозировании их возможных побочных эффектов.

Источники финансирования. Государственное задание шифр FGWG-2022-0008.

РЕДОКС-ХЕМОГЕНЕТИКА ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Подгорный О.В.^{1,2,3}

¹ФГБУН ГНЦ РФ «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

³ФБГУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» ФМБА РФ, Москва

По мере роста продолжительности жизни населения увеличивается доля людей, страдающих такими связанными со старением нейродегенеративными заболеваниями, как болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона. Наследственные формы этих заболеваний составляют примерно 1 и 10% от общего числа случаев, соответственно. Причины возникновения этих заболеваний в остальных случаях неизвестны. Одна из гипотез предполагает, что их возникновение и прогрессирование связаны с хроническим окислительным стрессом нейронов вследствие снижения функции антиоксидантных систем при старении. Однако до недавнего времени проверить эту гипотезу не представлялось возможным из-за отсутствия подходов для создания в клетках изолированного окислительного стресса.

Мы разрабатываем хемогенетический инструмент на основе оксидазы D-аминокислот (ДАО) из дрожжей для субстрат-зависимой продукции пероксида водорода. С помощью векторов на основе аденоассоциированных вирусов мы доставляем ДАО в целевые нейроны мозга.

Используя методы электрофизиологии, мы показали на переживающих срезах мозга мышей, что внутринейрональный окислительный стресс, вызванный добавлением D-норвалина к нервным клеткам, экспрессирующим ДАО, заметно снижает такие формы синаптической пластичности, как долговременная потенция и долговременная депрессия. Эти формы синаптической пластичности важны для реализации механизмов памяти в мозге на клеточном уровне. Таким образом, в экспериментах на переживающих срезах мозга мы установили связь между внутринейрональным окислительным стрессом и нарушением синаптической функции.

Применяя методы прижизненной визуализации через имплантированные оптические волокна на бодрствующих, свободно подвижных животных, мы впервые продемонстрировали работу нашего хемогенетического инструмента *in vivo*. Внутрибрюшинное введение или доставка через питьевую воду субстратов ДАО вызвали повышение радиометрического сигнала генетически кодируемого биосенсора на пероксид водорода *HyPer7* в нейронах мозга.

Таргетная доставка ДАО в определенные типы нейронов мозга экспериментальных животных позволит нам проверить гипотезу о роли окислительного стресса в возникновении нейродегенеративных заболеваний и создать хемогенетические модели спорадических форм болезни Альцгеймера и болезни Паркинсона.

Источники финансирования. Проект поддержан грантами РФФИ №№ 23-75-30023 (В.В.Б.) 22-15-00293 (А.В.Р.).

РЕГУЛЯЦИЯ БИОДОСТУПНОСТИ IGF ПРИ СЕНЕСЦЕНТНОСТИ АСТРОЦИТОВ И НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ

Серебряная Д.В.¹, Ермаков И.М.¹, Гущеваров Д.А.¹, Дя Г.А.¹, Постников А.Б.², Лебедева О.С.³, Артемьева М.М.¹, Лагарькова М.А.³, Медведева Н.А.¹, Катруха А.Г.¹

¹ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Биологический факультет, Москва

²ОАО «Хайтест», Москва

³ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. Ю.М. Лопухина» ФМБА, Москва

Поддержание жизнеспособности разных типов клеток нервной ткани является важным условием функционирования нервной системы в целом. Инсулиноподобные факторы роста IGF-1 и IGF-2 активируют пролиферацию и клеточный рост нейронов и астроцитов при взаимодействии со специфическими рецепторами IGF1R и IGF2R. В нервной ткани IGF-1 и IGF-2 присутствуют в комплексе с IGF-связывающими белками (Insulin-like Growth Factor Binding Proteins, IGFBP), к которым относят IGFBP-4. Биодоступность IGF для клеток контролируют протеазы, катализирующие расщепление комплексов IGFBP с IGF. Единственной протеазой, расщепляющей IGFBP-4, является PAPP-A (Pregnancy Associated Plasma Protein A). PAPP-A-специфичный протеолиз IGFBP-4 происходит по определенному участку с образованием двух фрагментов: N-концевого (NT-IGFBP-4) и C-концевого (CT-IGFBP-4). С возрастом, а также при нейродегенеративных процессах в мозге функционирование астроцитов нарушается, и может возрастать потребность в активации нейропротекторных механизмов. В настоящей работе было проведено моделирование сенесцентного фенотипа астроцитов мозга крыс под действием 25 мкМ и 50 мкМ этопозида. Развитие сенесцентного фенотипа у астроцитов было подтверждено по 1) изменению морфологии, 2) снижению жизнеспособности, 3) возрастанию экспрессии β-галактозидазы, ассоциированной с сенесцентностью, 4) секреции маркера сенесцентности IL-6 до количества 7 мкг на 1 мг белка, а также 5) практически полной остановке пролиферации.

При моделировании сенесценции в астроцитах под действием 25 мкМ и 50 мкМ этопозида продемонстрировано, что уровень PAPP-A-о-

посредованного протеолиза IGFBP-4 возрастает в 3 и 7 раз, соответственно. Показано, что интенсивность PAPP-A-опосредованного протеолиза IGFBP-4 в астроцитах, выделенных из крыс разных возрастов, увеличивается по мере их возраста. На модели астроцитов линий PDP4.4S и N11, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК), полученных от пациентов с болезнью Паркинсона, показано, что протеолиз IGFBP-4 под действием PAPP-A протекает в 4 раза интенсивнее, чем в случае астроцитов, полученных от здоровых доноров.

Таким образом, интенсивность PAPP-A-специфичного протеолиза IGFBP-4 увеличивается по мере «старения» клеток, а также при развитии некоторых нейродегенеративных процессов. Это может говорить об усилении высвобождения IGF, как нейропротекторного механизма, активирующегося при возрастных и/или патологических изменениях в мозге.

Источники финансирования: Грант Российского Научного Фонда № 24-25-00051.

ВОЗДЕЙСТВИЕ МИНОЛЕКСИНА НА УРОВЕНЬ АПОПТОЗА И ЭКСПРЕССИЮ АПОПТОЗ-АССОЦИИРОВАННЫХ БЕЛКОВ У КРЫС КРУШИНСКОГО-МОЛОДКИНОЙ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ КИНДЛИНГЕ В ВИСОЧНОЙ ДОЛЕ И ГИППОКАМПЕ МОЗГА

Соколова Ю.О.¹, Бажанова Е.Д.^{1,2}, Козлов А.А.¹, Демидова Е.О.¹, Яковлева И.И.¹, Клименко Д.И.¹
¹ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. акад. С.Н. Голикова ФМБА», Санкт-Петербург

²ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» РАН, Санкт-Петербург

Введение. В настоящее время многие исследования посвящены эпилепсии, ведутся поиски препаратов с новыми мишенями и механизмами действия для лечения данного заболевания. Согласно литературным данным, в терапии может помочь антибиотик минолексин, обладающий нейропротекторными свойствами. Одним из основных механизмов патогенеза эпилепсии является гибель нейронов, в том числе путём апоптоза.

Целью работы было оценить возможность влияния минолексина на уровень апоптоза и исследовать механизмы клеточной смерти за счет активации апоптоз-ассоциированных белков крыс Крушинского-Молодкиной (КМ) с наследственной аудиогенной эпилепсией при длительном киндлинге в височной коре и гиппокампе.

Материалы и методы. Крысы КМ были разделены на группы Контроль физраствор, Киндлинг физраствор, Киндлинг Минолексин. Животным делали инъекции физраствора и минолексина по окончании каждой звуковой стимуляции (9 kHz, 50 dB) в течение 14 дней, а также вводили физраствор крысам контрольной группы без киндлинга. После перерыва продолжительностью 7 дней была проведена некропсия. Исследовали уровень апоптоза (TUNEL) и экспрессию апоптоз-ассоциированных белков (p53, Bcl-2; ИГХ) в височной коре, подлежащем белом веществе, зоне СА4 гиппокампа, гранулярном слое зубчатой извилины, хилусе.

Результаты и обсуждение. Запуск клеточной гибели наблюдается в височной доле и гиппокампе у крыс КМ при киндлинге. Механизмы этого процесса отличаются в зависимости от конкретной исследуемой области головного мозга: p53-зависимый

апоптоз происходит в височной доле и хилусе гиппокампа, в других областях, скорее всего, в активации апоптоза участвуют другие белки. Низкий уровень антиапоптотического белка Bcl-2 в височной коре, вероятно, является еще одной причиной апоптоза в группе 2, в отличие от других зон мозга. Выявлены антиапоптотические и нейропротективные свойства минолексина у крыс КМ. Происходит снижение апоптоза в исследуемых областях мозга у крыс 3-й группы после введения минолексина, по сравнению с 2-й группой, и уменьшение экспрессии p53 в височной доле и хилусе.

Можно **заключить**, что действие минолексина вызвано супрессией p53-зависимого пути при киндлинге у крыс КМ. Наши результаты показали, что белок Bcl-2 играет значимую роль в нейропротекции при киндлинге только в височной коре данных крыс.

Источники финансирования. Работа была выполнена в соответствии с тематическим планом прикладных научно-исследовательских работ по Гос.заданию ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России и при поддержке Гос.задания ИЗФБ РАН 075-00264-24-00.

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ПРОДУКЦИИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА МЕЖДУ ОТДЕЛАМИ МОЗГА

Стельмашук О.А., Винокуров А.Ю.

ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева», НТЦ биомедицинской фотоники, Орел

При развитии нейродегенеративных заболеваний отмечается избирательность в поражении различных отделов головного мозга. Причиной данной селективности является неоднородность как на клеточном, так и тканевом уровнях.

Было предположено, что избирательность поражения нейронов в разных отделах головного мозга связана с различиями в производстве активных форм кислорода (АФК) в коре, гиппокампе, среднем мозге, мозжечке и стволе мозга. Было исследовано, как активация глиальных клеток и нейронов может изменить максимальную скорость выработки АФК. Для этого были использованы 100 мкм раствор АТФ, который в основном активирует астроциты через пуринергические рецепторы, и нейротрансмиттер глутамат (10 мкм) для стимуляции нейронов. АТФ и глутамат могут стимулировать кальциевый сигнал в астроцитах и нейронах, и для обоих нейротрансмиттеров сообщается о способности активировать выработку АФК посредством НАДФН-оксидазы.

Максимальная стимуляция выработки АФК наблюдалась в ответ на АТФ или глутамат в среднем мозге, что свидетельствует о более высокой важности окислительно-восстановительной сигнализации в этой области мозга. Разница в скорости выработки АФК может быть объяснена рядом факторов, включая соотношение астроцитов/нейронов, функциональную активность клеток. Митохондрии являются одним из основных источников продукции АФК клетками в условиях покоя. Уровень продукции АФК в цепи переноса электронов митохондрий зависит от состояния метаболизма и ряда других факторов, включая уровень кислорода, сигнал кальция, токсины.

В результате исследований обнаружено, что скорость выработки АФК в матрице митохондрий была самой высокой в области коры из переживающих срезов головного мозга.

Полученные данные свидетельствуют о том, что митохондрии в состоянии покоя оказывают лишь незначительное влияние на общую продукцию АФК и практически не влияют на уровень глутатиона.

Производство АФК в мозге распределяется неравномерно и может объяснять различия в чувствительности к окислительному стрессу при ишемии/реперфузии, эпилепсии и нейродегенеративных заболеваниях в разных отделах мозга.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке гранта Правительства Российской Федерации №075-15-2024-621.

УРОВЕНЬ КАТЕХОЛАМИНОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС В МОДЕЛИ ТОРМОЖЕНИЯ РОСТА ВНЕМОЗГОВОЙ ОПУХОЛИ ПРИ ГИПОТИРЕОЗЕ

Трепитаки Л.К., Лесовая Н.С., Сурикова Е.И., Каплиева И.В., Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Погорелова Ю.А., Аракелова А.Ю., Качесова П.С., Немашкалова Л.А.

ФГБУ «Национальный Медицинский Исследовательский Центр Онкологии» Минздрава РФ, Ростов-на-Дону

Развитие злокачественных опухолей влияет на работу центральной нервной системы (ЦНС), вызывая изменение возбудимости нейронов и иницируя синтез нейрональных регуляторов опухолевого роста, что обуславливает важность изучения метаболизма ЦНС при развитии опухолевого процесса, особенно при наличии сопутствующей патологии щитовидной железы.

Цель исследования — изучить содержание дофамина (ДА) и норадреналина (НА) в коре больших полушарий и в подкорковом веществе головного мозга крыс в экспериментальной модели внеомозгового роста злокачественной опухоли в условиях индуцированного гипотиреоза.

Материалы и методы. В эксперименте использованы 94 белые нелинейные крысы обоего пола (масса тела 150–180 г). Гипотиреоз моделировали путём скормливания животным тиамазола (Мерказолил, Россия) 2,5 мг/100 г массы в сутки в течение 30 дней. При подтвержденном гипотиреозе — увеличении уровня ТТГ и снижении уровня тироксина, крысам под кожу лопатки перевивали карциному Герена в концентрации 1×10^6 — основная группа 1 (n=47). Группа 2 — крысы с гипотиреозом (n=20), группа 3 — крысы с карциномой Герена (n=20), интактные животные (n=20). Животных декапитировали на 18-е сутки с момента перевивки. В 10% гомогенатах ткани мозга методом ИФА определяли содержание ДА и НА (IBL international, Germany). Динамика показателей описана в сравнении с интактными крысами соответствующего пола.

Результаты. Уровень НА снижался в 1,6 в подкорковом веществе раза только у самок с самостоятельным ростом опухоли. У всех крыс с гипотиреозом и с сочетанной патологией уровень НА, напротив, повышался в 1,9–2,4 раза, у самок — в обоих отделах головного

мозга, у самцов — только в коре. Уровень ДА в коре у самцов был выше в группе с гипотиреозом и с самостоятельным ростом опухоли в 5,3 и в 2,1 раза соответственно, в подкорковом веществе содержание ДА увеличивалось во всех группах, особенно с гипотиреозом (3,8 раза). У самок с самостоятельно растущей опухолью уровень ДА в коре увеличивался в 2,0 раза, а в подкорковом веществе — снижался в 3,7 раза. У самок с гипотиреозом уровень ДА был увеличен более, чем в 100 раз в обоих отделах головного мозга, а в группе с сочетанной патологией увеличение было менее выражено — в 12,6 (кора) и 4,8 (подкорковое вещество) раза.

Закключение. В условиях коморбидности индуцированный гипотиреоз модулировал состояние катехоламинергической регуляции ЦНС, характерное для крыс с опухолевым ростом, что способствовало формированию условий для ингибирования неоплазии у крыс обоего пола.

АГОНИСТЫ PPAR В/Д РЕГУЛИРУЮТ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ МИКРО- И АСТРОГЛИАЛЬНЫХ БЕЛКОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В РЕГУЛЯЦИЮ ЭПИЛЕПТОГЕНЕЗА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ЭПИЛЕПСИИ

Харисова А.Р., Рогинская А.И., Захарова М.В., Шварц А.П., Зубарева О.Е.

ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» РАН, Санкт-Петербург

Эпилепсия — одно из наиболее распространенных нервно-психических заболеваний. Традиционно патогенез эпилепсии связывают с нарушением баланса тормозных и возбуждающих механизмов в нейронных сетях мозга. Однако лечение, направленное на эти патогенетические звенья, не дает эффекта у 30% пациентов, что делает актуальным поиск новых методов лечения. В последние годы широко обсуждается роль астро- и микроглиальных белков в эпилептогенезе. Среди препаратов, предположительно способных влиять на их экспрессию, рассматриваются агонисты рецепторов, активируемых пролифератором пероксисом (PPAR α , β/δ , γ). Такие свойства в экспериментальных моделях эпилепсии выявлены для агонистов PPAR γ . Эффекты агонистов PPAR β/δ остаются малоизученными.

В данной работе изучалось влияние курсовых введений двух агонистов PPAR β/δ GW0742 и кардарина на экспрессию генов астро- и микроглиальных белков, вовлеченных в развитие эпилептогенеза, в литий-пилокарпиновой модели височной эпилепсии (TLE) в гиппокампе и височной коре крыс. TLE модель позволяет воспроизвести все фазы развития человеческой эпилепсии от индуцирующего события до формирования спонтанных рецидивирующих судорог.

Работа выполнена на крысах самцах Вистар в возрасте 7–8 нед. Эпилептогенез индуцировали введением пилокарпина после предварительного введения хлорида лития. Препараты вводили в течение первой недели после введения пилокарпина. Оценка эффектов производили в латентной (для GW0742) или хронической (для кардарина) фазе модели. Методом ОТ-ПЦР в реальном времени анализировали экспрессию генов микро- и астроглиальных белков (*Gfap*, *Aif1*, *Il1b*, *Nlrp3*, *Il1rn*, *Lcn2*, *Ptx3*, *S100a10*, *Gbp2*, *Nos2*, *Arg1*). Экспрессию белков-маркеров

активации астроцитов (GFAP) и микроглии (IBA1) исследовали методом вестерн-блота. Показано, что введение GW0742 подавляло повышенную при височной эпилепсии экспрессию генов маркеров активации микроглии (IBA1) и астроглии (GFAP) на уровне мРНК и белка. Кроме того, лечение GW0742 нивелировало TLE-индуцированное усиление экспрессии провоспалительного гена *Lcn2* в височной коре и снижение экспрессии противовоспалительного гена *Arg1* в дорзальном гиппокампе. Введение кардарина усиливало экспрессию гена защитного астроцитарного белка *S100a10* в дорзальном гиппокампе крыс.

Таким образом, введение агонистов PPAR β/δ на начальных этапах развития эпилепсии может влиять на экспрессию генов белков, вовлеченных в регуляцию эпилептогенеза.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке РНФ (проект № 23-25-00480).

ИНДОЛ-3-КАРБИНОЛ И ПОЛИФЕНОЛЫ РАЗЛИЧНЫХ КЛАССОВ В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ NRF2/KEAP1/ARE

Балакина А.С.

ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», Москва

Академик АМН СССР Т.Т. Берёзов был одним из основоположников отечественной медицинской энзимологии, и для нас большая честь представить результаты исследований на конференции, приуроченной к 100-летию со дня рождения Т.Т. Берёзова.

Функциональное состояние ферментных систем, обеспечивающих адаптационный потенциал организма, во многом зависит от состава пищи. При этом как макронутриенты, так и минорные составляющие рациона питания могут оказывать значительное влияние на биотрансформацию ксенобиотиков и оксидантов.

Несмотря на значимый объем данных о свойствах и молекулярных механизмах действия отдельных полифенольных и индольных представителей биологически активных веществ (БАВ), имеются лишь единичные сведения об их взаимодействии при совместном поступлении в организм, при этом сочетанные эффекты БАВ на редокс-чувствительную систему печени Nrf2/Keap1/ARE в условиях *in vivo* остаются малоизученными.

Целью данного исследования было изучение влияния минорных БАВ пищи полифенольной природы и индол-3-карбинола на активность, экспрессию генов и белков Nrf2-регулируемых ферментов в печени крыс при их раздельном и сочетанном поступлении в организм здоровых интактных животных и на модели окислительного стресса.

В состав рациона (на основе АИН93) крыс-самцов линии Вистар в течение 14 дней включали отдельно и в комбинации следующие соединения: рутин и гесперидин в суточной дозе 400 мг/кг массы тела (м.т.); кверцетин и ресвератрол — 100 мг/кг м.т.; куркумин и кверцетин — 200 мг/кг м.т.; индол-3-карбинол и эпигаллокатехингаллат — 50 мг/кг м.т. и 200 мг/кг м.т., соответственно. Также для изучения эффектов БАВ в условиях окислительного стресса, вызванного внутри-

брюшинным введением CCl_4 в виде раствора в оливковом масле в количестве 2 мл/кг м.т., рацион обогащали рутином и гесперидином, а также куркумином и кверцетином в суточной дозе 400 и 200 мг/кг м.т., соответственно. Для оценки антиоксидантного статуса животных изучали активность ферментов NAD(P)H-хиноноксидоредуктазы (XP) и митохондриальной гемоксигеназы-1 (ГО-1) спектрофотометрическими методами, уровень экспрессии этих ферментов и транскрипционного фактора Nrf2 методом Вестерн-блоттинг и уровень экспрессии генов ферментов XP (*NQO1*) и ГО-1 (*Hmox1*) и транскрипционного фактора Nrf2 (*Nrf2*) методом ПЦР в режиме реального времени.

Полученные данные свидетельствуют, что индол-3-карбинол и полифенолы различных классов существенно влияют на активность и экспрессию генов ферментов антиоксидантной защиты: гемоксигеназы-1 и NAD(P)H-хиноноксидоредуктазы, через сигнальный механизм Nrf2/Keap1/ARE и на посттранскрипционном уровне, стимулируя адаптационный потенциал организма. Комбинированное действие биологически активных веществ пищи может в значительной степени модулировать их индивидуальные эффекты.

Источники финансирования. Научно-исследовательская работа проведена за счет средств субсидии на выполнение государственного задания FGMF-2022-0003.

КОМБИНИРОВАННЫЙ ПРОТОКОЛ «*IN VITRO* ПЕРЕВАРИВАЕМОСТИ И *EX VIVO* КИШЕЧНОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ» ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Василевская Е.Р.

ФГБНУ «ФНЦ Пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН, Москва

Существующие протоколы перевариваемости *in vitro* с различной технологической сложностью и биологической важностью, от статических монокомпарментных до динамических мультикомпарментных моделей преимущественно односторонне направлены, и не предусматривают возможности изучения биоактивных фракций, попадающих в кровеносное русло, после завершения всех протеолитических процессов.

Целью работы была разработка совмещенного «*in vitro* & *ex vivo*» методологического подхода к изучению биоконверсии белковых соединений.

Переваримость *in vitro* для изучения протеолиза мяса индейки и мясного продукта воспроизводили в соответствии с 2-стадийным протоколом А.А. Покровского и И.Д. Ертанова (протеолиз с использованием раствора пепсина в кислой среде на 1-м этапе и панкреатина на 2-м этапе). В гидролизатах оценивали концентрацию белка с применением методов Бредфорда и Лоури, содержание свободных пептидов и аминокислот. Исследование кишечной проницаемости *ex vivo* проводили на изолированном тонком кишечнике крыс в оксигенированном растворе буфера на основе гидролизатов исследуемых объектов.

Была продемонстрирована возможность изучения биоконверсии белковых соединений с помощью комбинации методов переваривания *in vitro* и кишечного переноса *ex vivo* с использованием изолированного вывернутого кишечника крысы. Модель вывернутого изолированного кишечника позволяет *in vitro* оценить степень абсорбции нутриентов и их переноса сквозь стенки кишечника, а также роль кишечных ферментов в этом процессе. Подобранные условия для изучения переноса пептидов, полученных после протеолиза белков, через стенку кишечника крысы *ex vivo* позволяют предполагать о соз-

дании в дальнейшем системной методики, позволяющей моделировать биоконверсию максимально близко к живой системе. На биодоступность мясного продукта из индейки могли повлиять технологические аспекты его изготовления, в частности, степень измельчения или присутствие богатых белком растительных ингредиентов, таких как грецкий орех или кунжут, содержание белка в которых сопоставимо с индейкой, хотя белки и уступают мясным по биодоступности: несмотря на сходные параметры протеолиза в модели перевариваемости, уровень переноса пептидов через кишечную стенку для мясного продукта достигал 84%, в то время для индейки он составлял 74%.

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках темы НИР №FGUS-2024-0003 государственного задания ФГБНУ «ФНЦ Пищевых систем имени В.М. Горбатова» РАН.

БИОПОЛИМЕРНАЯ СИСТЕМА ДОСТАВКИ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ ЭССЕНЦИАЛЬНЫХ НУТРИЕНТОВ В ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ МЯСНЫХ ПРОДУКТАХ: ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТИ И БИОДОСТУПНОСТИ

Галимова А.Р.^{1,2}, Семёнова М.Г.¹, Асланова М.А.², Федулова Л.В.²

¹ФГБУН «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля» РАН, Москва

²ФГБНУ «ФНЦ Пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Москва

Введение. Правительство РФ уделяет большое внимание совершенствованию научных исследований в области здоровьесбережения населения, в том числе в области разработки функциональных продуктов питания. На данный момент существуют сложности с обогащением низкожирных продуктов питания эссенциальными полиненасыщенными жирными кислотами (ПНЖК) и жирорастворимыми витаминами из-за гидрофобной природы этих нутриентов и подверженности ПНЖК окислению. Наноинкапсулирование нутрицевтиков пищевыми биополимерами защищает их от неблагоприятных воздействий технологических процессов, повышает их сохранность и биодоступность в организме человека.

Цель работы заключалась в разработке биополимерной системы доставки эссенциальных нутриентов, как наноразмерного супрамолекулярного комплекса (СК), а также в оценке сохранности и биодоступности функциональных ингредиентов СК в составе мясных консервов после тепловой нагрузки и в процессе переваривания *in vitro*.

Материалы и методы. Функциональные ингредиенты СК включали: липосомы соевого фосфатидилхолина, нагруженные эссенциальными нутриентами — рыбьим жиром и витамином D₃, а также растительным антиоксидантом — эфирным маслом гвоздики. Казеинат натрия был использован в СК, как биополимерная основа для инкапсулирования липосом. СК был внесён в разработанную рецептуру функциональных мясных консервов и проведён анализ их жирно-кислотного состава методом газовой хроматографии (ГОСТ 31663-2012), и витамина D₃ методом ВЭЖХ (ГОСТ 32307-2013). Оценка биодоступности нутриентов из СК в составе мясного продукта в ЖКТ *in vitro* была проведена по

протоколу Infogest 2.0.

Результаты. Степень инкапсулирования липосом в СК составила более 74%. Согласно МР 2.3.1.0253–21, суммарное количество эйкозапентаеновой (ЭПК) и докозагексаеновой (ДГК) жирных кислот в образце мясных консервов после термической обработки при T=120°C (175мг/100г) составило 70% от их адекватного потребления, а содержание витамина D₃ [23,5мкг/100г] — 157% от физиологической нормы. Моделирование пищеварения *in vitro* показало, что массовая доля высвободившихся ЭПК и ДГК из функциональных мясных консервов, содержащих СК, в кишечной фазе была выше в 3,9 и в 1,9 раза в сравнении с продуктом, содержащим эти ингредиенты в нативном виде.

Выводы. Разработана технология получения супрамолекулярного комплекса, как инновационного пищевого ингредиента, введение которого в состав функциональных мясных консервов обеспечило устойчивость целевых ПНЖК к тепловым нагрузкам, а также их биодоступность в тонком отделе кишечника.

Источники финансирования. Исследование проведено при поддержке Российского Научного фонда: грант №. 21-16-00085, <https://rscf.ru/проект/21-16-00085/>.

ВЛИЯНИЕ ПОПУЛЯРНОГО ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО НАПИТКА «EON ALMOND RUSH» И ЕГО КОМПОНЕНТОВ НА КЛЮЧЕВЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ УГЛЕВОДНОГО И ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНТЕНСИВНОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

Губич О.И., Журавицкий П.О.

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

Использование энергетических напитков и компонентов спортивного питания, находящихся в свободной продаже, с целью повышения работоспособности и тонуса скелетной мускулатуры в настоящее время исключительно популярно, особенно у людей молодого возраста. Эффективность такого подхода определяется способностью данных препаратов стимулировать энергетические процессы в организме и усиливать углеводный обмен.

Цель нашей работы — изучение влияния энергетического напитка «EON Almond rush» (ООО «Реал», РФ) и его компонентов (экстракт гуараны, экстракт женьшеня, ацетил-L-карнитин) на показатели углеводного (концентрация глюкозы и пирувата в крови) и энергетического обмена (содержание креатинфосфата в скелетных мышцах) лабораторных мышей, подвергнутых интенсивной физической нагрузке в виде плавания в течение 12 минут в воде комнатной температуры. Установлено, что физическая нагрузка приводит к снижению содержания креатинфосфата в скелетных мышцах мышей на 54,5%, концентрации глюкозы в крови — на 35,0%, к наступлению состояния утомления, проявившегося в невозможности совершения активных плавательных движений. Однократное пероральное введение тестируемого энергетика (4 мл/кг) подопытным животным за 10 мин до физической нагрузки обеспечило стабилизацию величин всех определяемых параметров до значений, статистически неотличимых от показателей интактной серии. Анализ вклада отдельных компонентов энергетика в наблюдаемый эффект показал, что он реализуется, главным образом, за счет адаптогенного действия женьшеня, пероральное введение отвара которого (4 мл/кг) за 10 мин до физической нагрузки

в аналогичном эксперименте обеспечило высокую активность животных и отодвинуло наступление утомления за счет поддержания концентраций всех анализируемых маркеров на уровне контрольной группы. В то же время экстракт гуараны (35 мг/кг) стабилизировал лишь концентрацию глюкозы крови, причем в меньшей степени, чем энергетический напиток, а ацетил-L-карнитин (20 мг/кг), напротив, стабилизировал уровень креатинфосфата, не оказывая влияния на снижение в ходе физической нагрузки концентрации глюкозы и накопление пирувата.

Таким образом, энергетический напиток «EON Almond rush» способствует стабилизации показателей углеводного обмена в крови и содержания креатинфосфата в скелетной мускулатуре мышей, подвергнутых физической нагрузке, что обусловлено, вероятно, синергичным стабилизирующим действием всех его компонентов, однако вклад женьшеня в наблюдаемый эффект был максимальным.

ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО ПРОДУКТА МОЛОКА «ИММУНОКОЛ ПЛЮС» В ГРУППАХ ДЕТЕЙ ХМАО-ЮГРА

Каминская Л.А.¹, Майзель С.Г.², Ковтун О.П.¹, Кузьмин С.В.³

¹ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург

²ФГБОУ ВО «Уральский государственный аграрный университет», Екатеринбург

³ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва

Изучение компонентов молока — актуальная международная научная проблема биохимических и клинических исследований с конца XX в.

Предлагаемый вниманию проект осуществлен в детских коллективах ХМАО-Югры в ноябре 2023 г. — марте 2024 г. с использованием специализированного продукта — молока «Иммунокол Плюс» для диетического лечебного и профилактического питания (соглашение о взаимодействии №01-С-НК-Г-65/8/1 от 6.09.2023).

Неблагоприятные природно-климатические особенности региона приводят к низкой общей неспецифической резистентности организма. Продукт «Иммунокол Плюс» разработан, запатентован, зарегистрирован как специализированный пищевой продукт СПП (СГР №RU.77.99.32.004. R.003168.11.23 от 09.11.2023). Содержит белковые фракции до 85% иммуноглобулин G, лактоферрин, лактопероксидазу, лизоцим, факторы роста; отсутствуют лактоза и аллергены молока, защищён от перекисного окисления липидов. Проведены 4-недельный первый и 3-недельный второй этапы курсов биологической профилактики под медицинским наблюдением с проведением предварительного и заключительного клинко-лабораторного обследования 210 детей дошкольного и школьного возрастов. Осуществлены заборы биологического материала до и после завершения биопрофилактики: смывы ротовой жидкости для оценки параметров иммунологического статуса, сбор биоматериала для оценки качественного и количественного состава микробиоты толстого кишечника по 24 показателям (тест-система «Колоно Флор»).

В результате испытаний обнаружено статистически значимое повышение уровня sIgA,

лизоцима, умеренное повышение выработки гамма-ИФН, отсутствие изменений в уровне наиболее мощного провоспалительного цитокина IL-18. Положительное действие на микробиоту толстого кишечника выражено в увеличении количества нормальной микрофлоры и статистически значимом снижении отношения *Bacteroides spp./Faecalibacterium prausnitzii*, которое отражает уменьшение проявлений дисбиоза провоспалительного типа.

Источники финансирования. бюджетные средства ХМАО, внебюджетные средства ФБНУ «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана», частное финансирование ООО «Поледа-1».

МЕТАБОЛОМНЫЙ ПРОФИЛЬ ФЕРМЕНТИРОВАННЫХ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ: МУЛЬТИОМИКСНЫЙ ПОДХОД

Коваленко Е.В.¹, Шошина О.О.¹, Волох О.И.¹, Кошечкин С.И.²

¹Компания Health&Nutrition, Москва

²Компания Nobias Technologies, Москва

Молочнокислое брожение — серия реакций распада макромолекул, осуществляемых микроорганизмами в контролируемых условиях. Метаболизм жиров, белков и углеводов формирует уникальный катаболический портрет каждого ферментированного продукта и зависит от технологии, сырья и состава заквасочной культуры. Многие из этих молекул, образующихся в результате жизнедеятельности микроорганизмов, обладают биологической активностью и могут влиять на здоровье человека.

В рамках нашей работы мы поставили две главные задачи: 1) оценить потенциально полезные вещества микробного катаболического происхождения в сравнении с молоком в кисломолочных продуктах с различными заквасочными культурами и жирностью: кефир на кефирных грибах; кефир на заквасочной культуре (3 штамма *Lactococcus*, *L. acidophilus* с пробиотиками *B. lactis*); кисломолочный продукт биолакт (*S. thermophilus* и *L. acidophilus*); йогурт с пробиотиками (*L. bulgaricus*, *S. thermophilus* с пробиотиками *B. lactis*); 2) изучить динамику распада высокомолекулярных веществ в 2 временных точках срока годности (D+7 vs. D+14).

Мы применили 5 нецелевых подходов для профилирования 5 типов молекул в конечных продуктах: пептиды, аминокислоты, длинно-, средне- и короткоцепочечные жирные кислоты, моно- и дисахариды и производные. Для анализа пептидома применяли высокоэффективную жидкостную хроматографию-масс-спектрометрию (UPLC-MS/MS). Для остальных фракций использовали газовую хромато-масс-спектрометрию (GC-MS) с адаптацией метода под конкретные условия метаболитов.

Мы выявили 348 пептидов, 37 аминокислот, 25 жирных кислот и 23 моно- и дисахарида, причем 41 из идентифицированных пептидов характеризуется биологической активно-

стью: в основном антимикробной, антиоксидантной и антигипертензивной. Аминокислотный профиль значительно отличался между продуктами с разными заквасочными культурами. Среди низкомолекулярных биологически активных производных были выявлены оротовая кислота, D-фенилмолочная кислота, 5-фенилвалериановая кислота и мио-инозитол.

Таким образом, процесс ферментации молока приводит к уникальному катаболическому профилю продукта. Ферментация микроорганизмами повышает биодоступность молока и создает потенциальные биоактивные свойства продукта, что может указывать на потенциальные профилактические свойства при его регулярном употреблении и может стать основой для их дальнейших исследований в клинической практике.

Источники финансирования. Health&Nutrition.

КОМПОНЕНТЫ ЗАЩИТНОГО ПРОФИЛЯ ГРУДНОГО МОЛОКА

Мачнева И.В., Лебедева Е.Н., Карнаухова И.В.

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России, Оренбург

Грудное вскармливание является наилучшим способом питания младенцев, а грудное молоко (ГМ) — оптимальной пищей для новорождённых. Оно обеспечивает ребенка не только питательными веществами, но и многочисленными защитными факторами. Важнейшими компонентами защитного профиля ГМ являются сывороточные белки: иммуноглобулины, α -лактальбумин, лактоферрин (ЛФ), лизоцим, антиоксидантные ферменты. Они обеспечивают антибактериальную и антиоксидантную защиту детей раннего возраста, влияя на рост и развитие ребенка в краткосрочном и долгосрочном периодах.

Целью исследования была оценка содержания ЛФ, лизоцима и определение общего антиоксидантного статуса ГМ женщин, проживающих на территории г. Оренбурга.

Концентрацию лизоцима и ЛФ определяли методом ИФА с использованием наборов ELISA Kit for Lysozyme (LZM) и Cloud-Clone Corp (LF), общую антиоксидантную активность — с использованием набора «Общий антиоксидантный статус», Вектор-Бест. В исследовании приняли участие 30 условно здоровых женщин, средний возраст которых составил $27,1 \pm 0,65$ лет, средний возраст детей — $4,3 \pm 0,27$ месяца. Абсолютное большинство детей находилось исключительно на грудном вскармливании.

Средняя концентрация ЛФ и лизоцима в ГМ составила $1,39 \pm 0,18$ г/л и $0,41 \pm 0,03$ г/л, соответственно. При этом их доля от общего белка сыворотки была 15% для ЛФ и 4,5% для лизоцима. Общая антиоксидантная активность исследуемых образцов составила $0,88 \pm 0,11$ ммоль/л. Обнаружена положительная корреляция между концентрацией лактоферрина и общей антиоксидантной активностью сыворотки грудного молока ($r=0,3$). Содержание ЛФ и лизоцима в ГМ и потребление их детьми в целом соответствует известным в литературе данным. Особенность региональных значений лактоферрина состоит в несколько сниженном его количестве по сравнению с данными зарубежных исследователей.

Полученные данные свидетельствуют об адекватном уровне защитных факторов у детей, получающих ГМ, что необходимо для их нормального роста и развития. Изучение защитного профиля ГМ, и в первую очередь ЛФ, важно в связи с плеiotропностью его эффектов, что делает лактоферрин перспективным средством для профилактики и лечения не только инфекционных, но и различных метаболических заболеваний. В отличие от химиотерапевтических препаратов, данные факторы не обладают токсичностью и не имеют побочных эффектов. Следует подчеркнуть, что даже ЛФ КРС имеет статус «общепризнанный безопасным» (GRAS) и используется в качестве добавки в детском питании.

Источники финансирования. Грант ОрГМУ «Изучение нутриентов грудного молока с позиции липидомики, протеомики и метаболомики».

Тезисы отозваны авторами на этапе подготовки сборника материалов.

ИЗУЧЕНИЕ НА МОДЕЛИ ЗАПОЛЯРЬЯ ВЛИЯНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ПИЩИ С ТЕРМОГЕННЫМ ДЕЙСТВИЕМ НА ОРГАНИЗМ КРЫС

Сидорова Ю.С., Кочеткова А.А.

ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», Москва

В условиях Заполярья организм человека подвергается воздействию различных неблагоприятных факторов, в том числе, низкой температуры воздуха и сокращенной продолжительности светлого времени суток в период полярной ночи. Особый интерес в плане целенаправленного благоприятного воздействия на организм при холодовой нагрузке представляют природные антиоксиданты с адаптогенным и термогенным действием, например, флавоноиды, катехины, гидрокоричные кислоты и др. Обоснование использования этих биологически активных веществ в составе специализированных пищевых продуктов для питания в условиях Заполярья требует предварительных доклинических исследований на *in vivo* моделях.

Целью данного исследования было изучение влияния на организм животных смеси ресвератрола, кверцетина и хлорогеновой кислоты *in vivo* на модели стресса, вызванного сочетанным воздействием охлаждения и нарушения суточного ритма освещенности. Воспроизведение стресса осуществляли путем кратковременного воздействия на крыс-самцов Вистар экстремально низких температур путем их погружения в холодную воду в сочетании с заменой режима освещения на 4/20 ч свет/темнота в течение 30 сут. Дизайн исследования был одобрен Комитетом по этике ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии». В состав рациона крыс опытной группы вводили комплексную добавку, содержащую кверцетин, ресвератрол и хлорогеновую кислоту в дозах 25, 25 и 50 мг/кг массы тела в сутки соответственно. В качестве чувствительных биомаркеров развития стресса использовали изменения в крови животных уровней гормонов коры и мозгового слоя надпочечников и щитовидной железы и показатели системы антиоксидантной защиты, определенные методом иммуноферментного анализа.

Нами было выявлено, что введение в рацион животных выбранных биологически активных веществ (БАВ) хорошо переносится животными, не вызывает негативных изменений в интегральных (масса и состав тела, масса внутренних органов) показателях, оказывает существенное модулирующее воздействие на гормональный статус, вызывая нормализацию показателей, нарушенных у животных в результате сочетанного воздействия факторов, вызывающих стресс.

Источники финансирования. Работа проведена за счет средств субсидии на выполнение государственного задания в рамках Программы фундаментальных научных исследований (Тема № FGMF-2022-0001).

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСА L-КАРНИТИНА И РЕСВЕРАТРОЛА НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПУТИ ПЕЧЕНИ ПРИ ДИЕТ-ИНДУЦИРОВАННОМ ОЖИРЕНИИ У КРЫС: ПОЛНОТРАНСКРИПТОМНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Трусов Н.В., Шипелин В.А., Гмошинский И.В.

ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», Москва

Комплексы ресвератрола и l-карнитина (PK) рассматриваются как компонент специализированной пищевой продукции при диетотерапии ожирения и связанных с ним патологий. Вопрос взаимодействия PK при совместном поступлении в организм, в частности, об их способности влиять на экспрессию сложных групп генов, в настоящее время недостаточно изучен.

Цель исследования — оценка воздействия PK на эффекторные звенья метаболизма печени. Изучали профиль экспрессии РНК у крыс самцов Wistar, получающих PK в дозах 25 и 300 (низкая доза, PKн) и 50 и 600 мг/кг массы тела (высокая доза, PKв) в течение 64 сут при потреблении высокоуглеводной и высокожировой диеты (ВЖР). Дифференциальную экспрессию (ДЭ) генов изучали на ДНК-микрочипе, содержащем последовательности 30 584 генов крысы.

В результате на фоне ВЖР ДЭ была выявлена для 757 генов. Потребление PKн вместе с контрольным рационом (КР) вызывало ДЭ 296 генов, а PKв — 303 генов. Потребление ВЖР с PKн вызывало ДЭ 243 генов, а PKв — 179. Только два гена — *Asns* и *RT1-CE10* ответили на обе дозы PK при потреблении обоих рационов. Величины ДЭ генов, совместно ответивших на PKн и PKв, достоверно положительно коррелировали. Корреляция между ДЭ генов, ответивших на потребление ВЖР и на PK в составе ВЖР, была достоверной и отрицательной, что указывает на компенсирующее действие PK на профиль генной экспрессии.

Биоинформатический анализ выявил метаболические пути (KEGGs), являющиеся мишенями воздействия как ВЖР, так и PK. При этом 4 метаболических пути: rno00982 (Drug metabolism — cytochrome P450), rno00980 (Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450), rno00830 (Retinol metabolism)

и rno00140 (Steroid hormone biosynthesis) ответили совместно на обе диеты. Метаболический путь rno03320 (PPAR signaling pathway) изменился у крыс, получавших КР в обеих дозах, а у получавших ВЖР — только с PKв. Ответ rno04976 (Bile secretion) наблюдался только с PKв на обоих рационах, rno00591 (Linoleic acid metabolism) — с обеими дозами PK у крыс, получавших КР, и только с PKн — у получавших ВЖР, rno00590 (Arachidonic acid metabolism) — только с PKн в составе КР.

Полученные данные позволяют рассматривать процессы, входящие в систему цитохрома P-450, метаболизма ретиноидов, стероидов и оксипинолов как эффекторные звенья метаболизма, нарушенные при развитии диет-индуцированного ожирения и отвечающие на потребление PK. Выявленные эффекты взаимодействия PK на уровне генной экспрессии следует учитывать при разработке рецептур специализированных пищевых продуктов.

МЕХАНИЗМЫ АНКСИОЛИТИЧЕСКИХ И ПРОАНКСИОГЕННЫХ ЭФФЕКТОВ РЕСВЕРАТРОЛА В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА

Цейликман В.Э.^{1,2,3}, Цейликман О.Б.^{1,3}, Шатилов В.А.³, Жуков М.С.³, Аристов М.Р.³, Эпиташвили А.Е.³, Цейликман Д.-М.В.³, Букша И.А.³, Липатов И.А.³, Шамшурин М.В.³, Шонина А.К.³, Колесникова А.С.³, Бричагина А.А.⁵, Мустафаева А.Р.², Самохин Н.В.⁴

¹ ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск

² ФГБОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск

³ ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск

⁴ ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск

⁵ ФГАУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)», Долгопрудный

Ресвератрол (РЕС, 3,5,4'-тригидрокси-транс-стильбен), природный полифенол, относится к фитоалексинам и вырабатывается в клетках многих растений в ответ на стресс. В больших количествах он содержится в красном вине, коже и семенах винограда и особенно в высушенных корнях растений. Ресвератрол обладает отчетливым антиоксидантным эффектом. Экспериментальные и клинические исследования свидетельствуют о высокой эффективности ресвератрола в коррекции стрессорных поведенческих расстройств. Тем не менее, в отдельных публикациях приводятся сведения о способности ресвератрола усугублять анксиогенные эффекты стресса. Между тем механизмы, обуславливающие разносторонние эффекты ресвератрола на вызванные хроническим стрессом нарушения поведенческой активности, до сих пор не изучены.

Целью данной работы было изучение молекулярных механизмов проанксиогенных и антианксиогенных эффектов ресвератрола в условиях хронического предаторного стресса.

Исследование выполнено на 80 крысах самцах линии Вистар массой 220–250 г. Животные были разделены на следующие группы. 1. Контроль. 2. Хронический Предаторный Стресс (ХПС), 3. ХПС+ресвератрол (100 мг/кг в.б.), 4. ХПС+ресвератрол (50 мг/кг в.б.). Хронический предаторный стресс создавался путем экспозиции крыс с лисьей мочой, являющейся сигналом об опасности для гры-

зунов, в течении 10 дней по 10 мин в сутки. Установлено, что хронический предаторный стресс характеризовался тревожными расстройствами, проявлявшимися в снижении времени пребывания в открытых рукавах и увеличения времени в закрытых рукавах в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт». При этом была снижена экспрессия микроРНК Mir124 в префронтальной коре, повышена активность МАО-А и содержание серотонина в мозге. Ресвератрол в дозе 100 мг/кг нивелировал анксиогенные эффекты ХПС. При этом нормализовались активность МАО-А и содержание серотонина в мозге. Ресвератрол в дозе 50 мг/кг в.б. усугублял проанксиогенные эффекты ХПС, приводя к более отчетливому снижению Mir124 чем у стрессированных животных, поддерживая на высоком уровне активности МАО-А и концентрации серотонина.

Таким образом, полученные результаты позволяют рассматривать Mir124 в качестве фактора проанксиогенных эффектов ресвератрола, а активности МАО-А и содержания серотонина в мозге в качестве мишеней для реализации его анксиолитических эффектов.

Источники финансирования. Исследование поддержано грантом РНФ_Челябинская Область № 23-15-20040.

ЛИПОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА РАЗЛИЧНЫХ СУБСТРАТАХ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ЖИРА

Цикуниб А.Д., Беликова В.А.

ФГБОУ ВО «Адыгейский государственный университет», Майкоп

Одной из важных составляющих лечения хронического панкреатита, распространенного неинфекционного заболевания, является заместительная терапия полиферментными препаратами (ПП), поскольку независимо от причины заболевания всегда формируется и прогрессирует нарушение внешнесекреторной функции поджелудочной железы, приводящее к нарушению переваривания и усвоения питательных веществ [1]. В инструкциях к ПП рекомендуется подбирать дозу индивидуально в зависимости от тяжести нарушения пищеварения и диеты, но при этом доза не должна превышать 4000 липазных единиц на 1 г потребленного жира. Однако отсутствуют данные о возможном различии в эффективности препарата в зависимости не только от количества, но и от вида потребленного жира.

Цель исследования: изучение зависимости липолитической активности ПП, содержащих панкреатическую липазу (ПЛ), от вида потребленного жира.

Материалы и методы. Применен методологический подход имитации кишечного пищеварения *in vitro* по аналогии с методом консенсуса InfoGest [2]. Объекты исследования: препараты Панкреатин, Эрмитель, Мезим форте с заявленной активностью липазы в 1 табл./капсуле не менее 10 000 ЕД. Субстраты фермента: сливочное масло и рафинированное подсолнечное масло. О липолитической активности ПП судили по нарастанию кислотного числа в экспериментальных пробах в результате гидролиза жира под действием липазы.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что под действием всех исследованных ПП сливочное масло гидролизировалось быстрее, чем растительное: под действием Панкреатина в 1,74 раза, Эрмиталя — в 2,06 раза и Мезима — в 4,23 раза, что можно объяснить тем, что при смешивании раствора фермента со сливочным маслом быстрее,

чем с растительным маслом, образовывалась более тонко диспергированная и устойчивая эмульсия.

Вывод: необходимая доза ферментного препарата зависит не только от количества, но и от вида потребленного жира: молочный жир гидролизуеться быстрее и эффективнее, чем растительный.

Полученные результаты согласуются с диетологическими рекомендациями М.И. Певзнера при панкреатите [3] по включению сливочного масла в перечень рекомендуемых продуктов при общем сокращении жировой компоненты и экспериментально их обосновывают.

Литература

1. Губергриц Н.Б. Лечение панкреатитов. Ферментные препараты в гастроэнтерологии. М.: Медпрактика, 2003. 100 с.
2. Brodkorb A., Egger L., Alming M. et al. 2019. INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion. // Nat. Protoc. 2019. № 14(4). P. 991–1014.
3. Певзнер М.И. Основы лечебного питания: монография. М.: Биомедгиз, 1937. 435 с.

КРИОКОНСЕРВАЦИЯ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ НА ОСНОВЕ ПОЛИЛАКТОГЛИКОЛИДНЫХ 3D СКАФФОЛДОВ: *IN VITRO* И *IN VIVO* ИССЛЕДОВАНИЕ

Арутюнян И.В.^{1,2}, Соболева А.Г.^{1,2}, Артемова Д.А.^{1,2}, Дунаев А.Г.³

¹ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», НИИ молекулярной и клеточной медицины, Москва

²ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына, Москва

³ФГУ ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, Москва

Разработка эффективной технологии криоконсервации тканеинженерных конструкций (ТИК) может стать важным этапом развития регенеративной медицины благодаря повышению доступности высокотехнологичных биомедицинских продуктов (артифициальной костной ткани, хрящевой ткани, дермы и др.) за счет значительного увеличения срока их хранения.

Цель работы стало изучение влияния архитектуры скаффолда и состава криопротекторной среды на выживаемость и сохранность функциональной активности клеток и свойств клеточного носителя при криоконсервации ТИК.

Для проведения исследования были изготовлены экспериментальные образцы монолитных, пористых и волокнистых полилактогликолидных скаффолдов с различной архитектурой поверхности. Дополнительно был создан банк клеточных культур, полученных из пупочного канатика человека и лабораторных крыс, верифицирована принадлежность выделенных культур к мультипотентным стромальным клеткам (МСК), обладающим высоким прорегенеративным потенциалом. На следующем этапе работы было доказано отсутствие цитотоксических свойств экспериментальных скаффолдов *in vitro*, разработан протокол заселения скаффолдов клетками с использованием динамического метода, оказавшегося более эффективным, чем статичный или капиллярный. Затем было проведено сравнение эффективности протоколов криоконсервации с использованием различных криопротекторных сред; оптимальный состав криозащитной среды для криоконсервации ТИК включал в себя 10% ДМСО и 0,2 М сахарозу.

Нами были получены данные о снижении пролиферативного потенциала, сохранности фенотипа, общей выживаемости и причинах гибели клеток, адгезированных на скаффолдах, после процедуры замораживания-оттаивания.

На этапе исследования *in vivo* была проведена аллогенная подкожная трансплантация свежих и размороженных конструкций лабораторным животным. Получены новые данные об интенсивности миграции клеток с поверхности скаффолдов в окружающие ткани и макрофагальной инфильтрации области трансплантации. Впервые проведена оценка местного ответа (продукция про- и противовоспалительных цитокинов) на аллогенную трансплантацию свежих или криоконсервированных ТИК.

Результаты исследования могут быть применены в качестве теоретической и практической основы для разработки технологии криоконсервации трехмерных тканеинженерных конструкций с использованием скаффолдов различной архитектуры, соответствующим конкретной клинической задаче.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТОВ МОДИФИЦИРОВАННОГО МЕТОКСИЭФИР D-6-ЙОДГИПАФОРИНА (6ID) НА МАКРОФАГАЛЬНЫХ ЛИНИЯХ

Багдасарян А.А.¹, Кудрявцев Д.С.², Иванов И.А.², Вишнякова П.А.^{1,3}

¹ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва

²ФГБУН ГНЦ РФ «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

³ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», НИИ молекулярной и клеточной медицины, Москва

Поиск новых противовоспалительных агентов — актуальная задача для современной биомедицины. В данной работе будут рассмотрены эффекты метоксизфир D-6-йодгипафорина (6ID) — аналога 6-бромгипафорина (6BHP), который является агонистом $\alpha 7$ никотинового ацетилхолинового рецептора и обладает противовоспалительной активностью. В предыдущих работах было синтезировано четырнадцать аналогов 6-бромгипафорина, из которых метоксизфир D-6-йодгипафорин (6ID) показал самую высокую эффективность. Целью нашей работы было исследование противовоспалительных эффектов 6ID на мышинной макрофагальной линии RAW 264.7 и человеческой моноцит-макрофагальной линии THP1. Макрофаги — клетки иммунной системы, играющие незаменимую роль в гомеостазе и влияющие на исход многих заболеваний, таких как аутоиммунные и онкологические нозологии, бактериальные, паразитарные, грибковые и вирусные инфекции. Способность макрофагов к активации (поляризации), открытая в начале XXI в., стала одной из ключевых областей исследования современной иммунологии. Макрофаги могут быть фенотипически поляризованы в сторону классически активированных — провоспалительных (M1) или альтернативно активированных — противовоспалительных (M2) макрофагов.

Данное исследование проведено с помощью таких методов, как культуральные подходы, проточная цитометрия, вестерн-блоттинг, ПЦР в реальном времени. По результатам вестерн-блоттинга было оценено качественное и полуколичественное содержание белков-маркеров провоспалительных (iNOS, TNF- α , CD86, IL-6) и противовоспалительных (Arginase-I, CD163, CD206, IL-10) ма-

крофагов. Методом ПЦР в реальном времени анализировали экспрессию таких генов, как iNOS, IL-6, CXCR1, IL-7, CXCL8, TNF- α (провоспалительных) и Arginase-I, IL-10, SOCS3, TGF- β (противовоспалительных). Проточная цитометрия с использованием красителя Annexin V проводилась для анализа апоптоза культуры клеток. Также для исключения нежизнеспособных клеток проводилась проточная цитометрия с помощью красителя 7AAD. Результаты исследования позволяют с осторожностью предположить, что 6ID оказывает противовоспалительное действие на клетки человеческой моноцит-макрофагальной линии THP1, но не мышинной макрофагальной линии RAW264.7 за счет экспрессии $\alpha 7$ -никотинового ацетилхолинового рецептора.

Источники финансирования. Работа поддержана грантом Российского научного фонда [грант №22-15-00241].

ОМОЛАЖИВАЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ КЛЕТОЧНОГО РЕПРОГРАММИРОВАНИЯ МОГУТ БЫТЬ ОТДЕЛЕНЫ ОТ ПОТЕРИ ТКАНЕВОЙ ИДЕНТИЧНОСТИ

Дмитриев С.Е.¹, Крюков Д.О.², Храмеева Е.Е.², Гладышев В.Н.³, Тышковский А.Э.^{1,3}

¹ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», НИИ физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского, Москва

²Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Сколковский институт науки и технологий», Центр молекулярной и клеточной биологии, Москва

³Отделение генетики, Женская больница Бригхэма, Гарвардская медицинская школа, Бостон, США

Частичное репрограммирование дифференцированных соматических клеток рассматривается как многообещающая стратегия омоложения тканей взрослого организма. Однако его связь с механизмами старения и долголетия на молекулярном уровне остается неясной.

В нашей работе мы идентифицировали транскриптомные сигнатуры репрограммирования клеток человека и мыши и выявили сходную регуляцию генов, связанных с репрограммированием, и генов, ассоциированных с эффектом воздействий, увеличивающих продолжительность жизни. Часть таких генов оказалась связана, в частности, с репарацией ДНК и воспалением.

С помощью созданных нами мультитканевых транскриптомных часов старения мы обнаружили, что изменения экспрессии генов, происходящие с возрастом, обращаются вспять во время клеточного репрограммирования. Мы показали, что эффекты омоложения, вызванные репрограммированием на транскриптомном уровне, в основном не зависят от изменений, связанных с обретением плюрипотентности. Разделение этих процессов позволило нам предсказать воздействия, которые имитируют индуцированное репрограммированием омоложение (reprogramming-induced rejuvenation, RIR), но не влияют на идентичность соматических клеток, в том числе обработку клеток рядом низкомолекулярных веществ.

Наша работа раскрывает специфические молекулярные механизмы, связанные с RIR на уровне экспрессии генов, и предоставляет инструменты для скрининга воздействий, которые вызывают омолаживающий эффект, сходный с репрограммированием, сохраняя при этом дифференцированное состояние

клеток и не создавая риска возникновения неоплазии.

Источники финансирования: Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (гранты 21-74-10102 Х.Е.Е. и 23-14-00218 Д.С.Е.).

РЕПАРАТИВНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ СЕЛЕЗЕНКИ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОД КОЖУ

Ельчанинов А.В.¹, Мамедов А.Т.², Артемова Д.А.¹, Лохонина А.В.^{3,4}, Ганцова Е.А.¹, Вишнякова П.А.^{3,4}, Фатхудинов Т.Х.^{1,4}

¹ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына, Москва

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

³ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва

⁴ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва

Удаление селезенки часто приводит к развитию постспленэктомического синдрома. Одним из возможных решений данной проблемы является гетеротопическая аутотрансплантация селезенки. Известно, что после такой операции у модельных животных происходит быстрое восстановление обычной структуры селезенки в трансплантатах. Однако неясно, насколько регенерировавший трансплантат функционально полноценен с точки зрения восстановления лимфо- и гемопозитической функции.

Целью данной работы было установить динамику восстановления популяции В- и Т-лимфоцитов, моноцитарно-макрофагальной системы, а также мегакариоцитопоза.

Воспроизведена модель гетеротопической аутотрансплантации под кожу селезенки у самцов мышей С57Вl. Для изучения клеточных источников регенерации воспроизведена модель гетеротопической трансплантации селезенки от самцов В10 GFP мышей самцам С57Вl. Динамика клеточного состава изучена методами иммуногистохимии и проточной цитометрии. Экспрессия регуляторных генов и содержание соответствующих белков была оценена методами ПЦР-РВ и вестерн-блоттинга.

Установлено, что характерная структура селезенки восстанавливается в трансплантатах в течение 30 сут, что согласуется с данными других исследований. При этом наиболее восстанавливается популяция моноцитарно-макрофагальной системы, мегакариоцитов, а также В-лимфоцитов. Для восстановления популяции Т-лимфоцитов требуется большее время, отмечено, что даже через

30 сут после трансплантации количество малодифференцированных Т-лимфоцитов CD4CD8 значительно выше, чем в интактной селезенке. С помощью трансплантации селезенки от В10GFP мышей нами показано, что источником восстановления клеточного состава трансплантатов селезенки является организм-реципиента, так как количество GFP+ клеток в регенерате было около 1%. При трансплантации скеффолда с заселением стромальными клетками селезенки и без него восстановление характерной структуры селезенки не происходит.

При аллогенной трансплантации под кожу фрагментов селезенки происходит регенерация ее структуры в течение 30 сут. Наиболее быстро восстанавливается популяция моноцитарно-макрофагальной системы, мегакариоцитов и В-лимфоцитов, для восстановления популяции Т-лимфоцитов требуется большее время. Источником восстановления клеточного состава трансплантатов являются, вероятно, циркулирующие гемопозитические клетки.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 24-25-00138).

ИЗБИРАТЕЛЬНАЯ ИНДУКЦИЯ СПЛАЙС-ВАРИАНТОВ FOXP3 ПЕРЕКЛЮЧАЮЩИМИ СПЛАЙСИНГ ОЛИГОНУКЛЕОТИДАМИ, КАК ПОДХОД К МОДУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ЦЕЛЕЙ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ ТЕРАПИИ

Жданов Д.Д.^{1,2}, Блинова В.Г.¹, Гладиллина Ю.А.¹, Абрамова А.А.^{1,3}, Шишпарёнок А.Н.¹, Елисеева Д.Д.³

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича», Лаборатория медицинской биотехнологии, Москва

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Медицинский институт, кафедра биохимии им. академика Т.Т. Березова, Москва

³ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва

Регуляторные Т-клетки (Трег) контролируют иммунный ответ на аутоантигены и играют ключевую роль в развитии аутоиммунных заболеваний. У пациентов с рассеянным склерозом (РС), боковым амиотрофическим склерозом, синдромом Шегрена, псориазом и другими болезнями выявлено снижение количества Трег и/или нарушение их способности подавлять аутоактивированные лимфоциты. Транскрипционный фактор FoxP3 является «мастерным белком», регулирующим дифференцировку, созревание, интенсивность пролиферации и супрессорную активность Трег. Альтернативный сплайсинг (АС) — вариант сплайсинга мРНК, при котором в ходе экспрессии гена на основе одного и того же первичного транскрипта (пре-мРНК) возможно образование нескольких видов зрелых мРНК. Описано четыре изоформы белка FoxP3, образующихся в результате АС: полноразмерный вариант, варианты с делецией экзона 2 или 7, а также с делецией обоих экзонов. Роль сплайс-вариантов FoxP3 в регуляции функций Трег не изучена в полной мере. В Трег периферической крови пациентов с РС выявлено изменение экспрессии сплайс-вариантов FoxP3 в сторону повышения синтеза варианта с делецией экзона 2, по сравнению с Трег здоровых доноров, у которых превалирует полноразмерный вариант. Трег таких пациентов обладали пониженной супрессорной активностью. Из крови пациентов выделены Трег и культивированы *ex vivo* до терапевтических количеств. После культивирования Трег были трансфицированы переключающими сплайсинг олигонуклеотидами (ПСО) для индукции синтеза пол-

норазмерного сплайс-варианта FoxP3. ПСО комплементарны регуляторным последовательностям на цепи пре-мРНК FoxP3 (сайтам взаимодействия с регулируемыми сплайсинг SR-белками). Таким образом осуществлена модуляция включения экзона 2 в мРНК FoxP3 и синтез полноразмерного сплайс-варианта этого белка. Полученные клетки показали в три раза большую супрессорную активность, т.е. способность ингибировать аутологичные таргетные эффекторные CD4+CD25- Т-лимфоциты. Пролиферативная активность таких клеток была в 2 раза выше. Клетки синтезировали супрессорные цитокины, гранзимы и рецепторы более интенсивно по сравнению с контрольными клетками. Таким образом, стратегия увеличения супрессорной активности Трег при помощи ПСО применима к аутологичным Трег больных РС. Нами создан прототип персонализированного клеточного терапевтического препарата для регенеративной терапии аутоиммунного заболевания.

Источники финансирования: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-00326, <https://rscf.ru/project/23-24-00326/>.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОЖИ В ПРОЦЕССЕ ЗАЖИВЛЕНИЯ РАН НА СПИНЕ И ЖИВОТЕ КРЫСЫ

Кананыхина Е.Ю., Ельчанинов А.В.

ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына, Москва

Актуальность. Раны взрослых млекопитающих заживают с образованием соединительнотканного рубца, который не выполняет специфических функций органа. Для организма это означает повышенный риск ранения, последующего инфицирования и смерти. Ранее нами было показано, что при заживлении раны на коже живота крыс структура регенерата приближена к интактной коже. По литературным данным, ведущую роль в процессе регенерации кожи играют стволовые клетки (СК) волосяного фолликула и их предшественники.

Целью нашего исследования является изучение изменения относительной экспрессии генов-маркеров СК кожи при заживлении ран в области живота и спины на модели у крысы.

Материалы и методы. Из области спины и живота крыс самцов линии Вистар вырезали круглый полнослойный лоскут кожи диаметром 16 мм. Плотность волосяного покрова определяли на криосрезках кожи. Относительную экспрессию генов-маркеров СК кожи (Sox9, Lgr6, Gli1 и Lrig1) определяли с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Статистический анализ полученных данных проводили в программе SigmaStat 3.5 (Systat Software, Inc.).

Результаты. Поскольку СК в большом количестве ассоциированы с волосом, мы определили густоту волосяного покрова кожи и оказалось, что на животе она почти в 2 раза больше, чем на спине. В интактной коже уровень экспрессии всех генов статистически значимо выше в области живота ($p < 0,050$). В процессе заживления раны на животе динамика экспрессии генов Sox9 и Lgr6 совпадает: снижается на 3-и, 7-е и 20-е сутки после операции (ПО), на остальных сроках изменения были незначимыми. Экспрессия гена Gli1 повышается к 14-м суткам ПО, в остальные

сроки остается на уровне интактной кожи. Экспрессия гена Lrig1 снижается к 20-м суткам ПО, в остальные сроки остается на уровне интактной кожи. В коже спины экспрессия гена Sox9 несколько снижается на 7-е сутки ПО. Экспрессия генов Lgr6 и Gli1 снижается к 7-м суткам, а в остальные сроки остается на уровне интактной кожи. Экспрессия гена Lrig1 повышается (в 11 раз) к 30-м суткам, в остальные сроки остается на уровне интактной кожи.

Выводы. По результатам нашего исследования мы наблюдали большую густоту шерстяного покрова на коже живота крысы по сравнению с кожей спины. С этим согласуются повышенная экспрессия генов-маркеров стволовых клеток кожи на животе. Учитывая ранее показанную более полную репарацию повреждения на животе, можно сделать вывод, что это происходит в том числе благодаря изначально большему количеству стволовых клеток кожи.

НОКДАУН ГЕНОВ *SCN1B* И *GSDMD* В МАКРОФАГАХ КРЫСЫ

Киселева В.^{1,2}, Вишнякова П.^{1,2}, Лохонина А.^{1, 2,3}, Арутюнян И.^{2,3}, Соболева А.^{2,3}, Цветков И.³, Косырева А.^{2,3}, Мирошниченко Е.², Ельчанинов А.^{1,2,3}, Фатхудинов Т.^{1,2}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва

³ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына, Москва

Ключевые слова: макрофаги; M2

Актуальность и цель: Макрофаги, высокопластичная клеточная популяция, участвуют не только в иммунологических реакциях, но и в развитии заболеваний. Описаны пути активации про- (M1) и противовоспалительного (M2) фенотипа макрофагов, в том числе и у модельных животных. Однако функции некоторых генов остаются недостаточно изученными, особенно у крыс. Поэтому целью нашей работы стало определение жизнеспособности и функциональной активности макрофагов крысы после проведения нокдауна генов *Gsdmd* и *Scn1b*.

Методы: Макрофаги крысы получали путем культивирования в присутствии MCSF моноцитов периферической крови. Для проведения трансфекции использовали Липофектамин 3000 и сиРНК в концентрации 10 нМ. МТТ тест на оценку жизнеспособности проводили через 24 и 48 часов в присутствии трех концентраций сиРНК. Наличие нокдауна и эффективность трансфекции оценивали через 48 часов. Тест АннексинV/пропидий йодид использовали для оценки апоптоза после 2х методов сбора клеток. Голотомография была использована для оценки изменения состояния клеток во время трансфекции. Фагоцитоз оценивали через 1,5 часа после добавления латексных бусин.

Результаты: По результатам МТТ теста выбраны время оценки состояния клеток после проведения трансфекции и концентрация сиРНК. Было показано наличие нокдауна интересующих генов. Эффективность трансфекции составила больше 50%. Использование скребка значительно повышало количество апоптотических клеток. Трансфекция приводила к повышению количества вакуолей.

Нокдаун привел к значимому увеличению фагоцитирующих клеток.

Выводы: Нокдаун генов *Scn1b* и *Gsdmd* в макрофагах крысы приводит к сдвигу в M2 фенотип макрофагов.

Финансирование: Исследование поддержано Российским научным фондом [номер гранта 24-25-00203].

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ АНТИФИБРОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ РАСТВОРИМЫХ БЕЛКОВ СЕКРЕТОМА МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Кулебякина М.А.^{1,2}, Бутузова Д.А.^{1,2}, Басалова Н.А.^{1,2}, Клычников О.И.³, Арбатский М.С.¹, Ефименко А.Ю.^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Медицинский научно-образовательный институт, Факультет фундаментальной медицины, Москва

²ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Медицинский научно-образовательный институт, Центр регенеративной медицины, Москва

³ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Биологический факультет, Москва

Мультипотентные мезенхимные стромальные клетки (МСК) являются ключевыми регуляторами заживления тканей после повреждения. Действуя паракринно, МСК способствуют регенерации ткани и препятствуют развитию фиброза — патологического состояния, при котором происходит избыточное замещения функциональной ткани рубцовой. Однако механизмы антифибротического действия белков, секретируемых МСК, на настоящий момент не установлены.

В настоящей работе были исследованы механизмы действия белков, секретируемых МСК, на основной клеточный механизм развития и прогрессирования фиброза — дифференцировку фибробластов в миофибробласты.

Из кондиционированной среды импортизированной линии МСК жировой ткани (КС-МСК) методом ультрафильтрации была выделена фракция растворимых белков секретома (РБ-МСК) и показано, что РБ-МСК, но не исходная фракция КС-МСК, обладает выраженным антифибротическим эффектом в *in vitro* модели дифференцировки фибробластов в миофибробласты.

Сравнительный протеомный анализ фракций КС-МСК и РБ-МСК позволил обнаружить, что фракция РБ-МСК обогащена белком DKK3, способным регулировать дифференцировку фибробластов посредством взаимодействия с компонентами канонического сигнального пути Wnt. Согласно результатам измерения экспрессии транскрипционных мишеней канонического сигнального пути Wnt методом количественной ПЦР, а также оценки содержания бета-катенина в ядрах клеток методом вестерн-блоттинга, фракция РБ-МСК, но не

фракция КС-МСК, подавляет канонический сигнальный путь Wnt в дермальных фибробластах в модели *in vitro* дифференцировки в миофибробласты. Нами также показано, что фракция РБ-МСК, обеднённая по белку DKK3 методом иммунопреципитации, утрачивает выраженный антифибротический эффект.

Таким образом, фракция растворимых белков секретома МСК подавляет в фибробластах активацию сигнального пути Wnt и эффективно препятствует дифференцировке фибробластов в миофибробласты *in vitro*, при этом данный антифибротический эффект зависит от содержания в составе данной фракции белка DKK3 — регулятора канонического сигнального пути Wnt.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке РНФ (грант 19-75-30007).

ОЦЕНКА РАЗЛИЧНЫХ СЕРОТИПОВ РЕКОМБИНАНТНЫХ АДЕНОАССОЦИИРОВАННЫХ ВЕКТОРОВ ДЛЯ ДОСТАВКИ В КЛЕТКИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ

Бойченко С.С., Абдуллина А.И., Бровин А.Н., Егоров А.Д.

Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Центр трансляционной медицины, Сочи

Современные методы лечения ожирения включают изменение образа жизни, медикаментозную терапию или хирургическое вмешательство. Однако эффективность данных методов зачастую ограничена. В этом контексте генная терапия становится перспективным направлением, позволяющим воздействовать на течение ожирения. Так, активация программы бурого адипогенеза в белой жировой ткани способна привести к интенсификации катаболизма. Основным подходом доставки *in vivo* генетических конструкций, кодирующих транскрипционные факторы, является использование вирусных векторов, самым распространённым из которых является аденоассоциированный вирус (AAV) из-за его низкой иммуногенности и способности обеспечивать высокую эффективность доставки. Известно более десятка природных серотипов AAV, обладающих различной аминокислотной последовательностью капсидных белков, что в свою очередь определяет их различный тропизм к тканям и иммуногенность.

Целью данного исследования является сравнительный анализ тропизма и эффективности различных серотипов AAV при доставке трансгена в жировую ткань.

Нами было продемонстрировано, что AAV6 по сравнению с AAV5, 8, и 9 обладает наивысшей трансдуцирующей способностью *in vitro*, как к преадипоцитам мыши 3T3-L1, так и к зрелым адипоцитам 3T3-L1. Уровень экспрессии сохраняется на протяжении более чем 20 дней.

Сравнение эффективности трансдукции проводили путем измерения интенсивности уровня флуоресценции GFP, ген которого был закодирован в AAV, и методом проточной цитометрии.

Данные результаты подтвердились в *in vivo* исследовании на мышах линии C57/Bl6.

Нами было показано методами количественного ПЦР и конфокальной микроскопии, что AAV6 при подкожном введении в жировую ткань обладает наивысшей трансдуцирующей способностью. Уровень относительной экспрессии GFP в жировой ткани мышей после инъекции векторов составил $1 \pm 0,16$ для AAV9, $3,6 \pm 0,12$ для AAV8, $63,1 \pm 5,1$ для AAV6. Статистический анализ не выявил значимых различий между серотипами AAV9 и AAV8 ($p > 0,05$), инъекция же AAV6 приводила к значительному увеличению экспрессии GFP в сравнении с другими серотипами ($p < 0,0001$). Таким образом, AAV6 может выступать в качестве более эффективной альтернативы, чем чаще всего применяемый на сегодняшний день AAV8, для доставки генетических конструкций в жировую ткань.

Источники финансирования: грант ОНГ Российского научного фонда и Кубанского научного фонда 22-14-20046 на базе Центра трансляционной медицины Университета Сириус.

СОЗДАНИЕ ТКАНЕСПЕЦИФИЧНЫХ ПРОМОТОРОВ ДЛЯ ЭКСПРЕССИИ ТРАНСГЕНА В ЖИРОВОЙ ТКАНИ

Бойченко С.С., Егоров А.Д.

Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Центр трансляционной медицины, Сочи

Жировая ткань представляет собой перспективную мишень для генной терапии благодаря своей доступности и важной роли в метаболических процессах. Нарушения в ее функционировании играют ключевую роль в патогенезе различных метаболических расстройств, таких как ожирение, сахарный диабет 2-го типа, а также сердечно-сосудистые заболевания. В настоящее время множество исследований направлено на использование генной терапии для лечения заболеваний, связанных с жировой тканью. Использование аденоассоциированных вирусных векторов (AAV) для доставки трансгенов в адипоциты является основным подходом генной терапии из-за их способности обеспечить высокий уровень экспрессии гена интереса в клетках. Так, в *in vivo* исследованиях на мышах показано, что доставка в жировую ткань трансгенов *Lep*, *Fgf21* и *Vmp7* с помощью AAV приводит к уменьшению накопления жира и улучшению чувствительности к инсулину.

Нами ранее был разработан прототип гено-терапевтического лекарственного препарата для терапии наследственных форм ожирения, кодирующего ген транскрипционного фактора *FOXP4*. Патент на изобретение РФ 2810191 «Нуклеиновая кислота, предназначенная для снижения массы тела млекопитающего, экспрессионный вектор для экспрессии в клетках млекопитающего, способ его доставки и способ снижения массы тела млекопитающего». Однако использование AAV сталкивается с рядом вызовов, основным из которых является необходимость разработки методов для целенаправленной доставки генов в жировую ткань без затрагивания других тканей и органов.

Нами были разработаны тканеспецифичные синтетические промоторы, включающие последовательности базальных промоторов генов *ADIPOQ*, *UCP1*, *FABP4* и энхансерные последовательности генов *ADIPOQ* и *UCP1*.

Мы продемонстрировали, что введение вектора AAV 6-го серотипа, кодирующего флуоресцентный белок *Katushka2S* под контролем синтетического промотора, содержащего базальную и энхансерную последовательности мышинного гена *UCP1*, в мышей линии C57/Bl6 приводит к экспрессии флуоресцентного белка в межлопаточной жировой ткани.

Таким образом, разработка адипоцит-специфических промоторов, способных обеспечивать одновременно достаточный для терапевтического эффекта уровень экспрессии трансгена и ограниченный только жировой тканью, является актуальной задачей генной терапии метаболических заболеваний.

Источники финансирования: грант ОНГ Российского научного фонда и Кубанского научного фонда 22-14-20046.

ТЕСТ-СИСТЕМА ВИЗУАЛИЗАЦИИ БЕЛКОВОГО ТРАНС-СПЛАЙСИНГА МОЛЕКУЛЫ GFP С ИНТЕИНАМИ ГРУППЫ DnaE ДЛЯ ЗАДАЧ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С КРУПНЫМИ ГЕНАМИ

Бровин А.Н., Сабанцев М.О., Чувпило С.А., Минская Е.С., Егоров А.Д., Карабельский А.В.
Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Научный центр трансляционной медицины, Сочи

В настоящее время генная терапия с помощью аденоассоциированных вирусных векторов (AAB) стала одним из ключевых направлений в развитии современной трансляционной медицины. Однако остаётся нерешённой проблема доставки крупных генов, превышающих паковую ёмкость капсида одного AAB. На данный момент насчитывается более 5000 наследственных заболеваний, связанных с мутациями в генах, размер которых не позволяет доставить кДНК с помощью одного AAB. Ранее основные стратегии доставки крупных генов заключались в создании миниверсий генов и применении технологии раздельной доставки генетического материала с восстановления целого на уровне ДНК, РНК и белкового сплайсинга. В настоящий момент актуальными становятся новые методы геномного редактирования с использованием праймированных редакторов, для эффективной доставки которых используют AAB, а для восстановления белкового комплекса — интеиновую пару. Поразительная скорость интеграции технологии белкового транс-сплайсинга на основе интеинов побуждает исследователей применять данный инструмент во множестве приложений все чаще, однако не всегда это удается с первой попытки.

В приведённой работе рассматриваются ключевые моменты работы с интеинами Ssp, Npu, Ava группы DnaE, которые считаются самыми изученными и эффективными для сборки крупных целевых белков. В частности, нас интересуют условия, которые определяют эффективный интеиновый сплайсинг белков. Используя наши результаты по сборке модельного белка GFP, можно утверждать, что для разделения молекулы необходим цистеин на С+1 положении и его ближайшее окружение в диапазоне 6 аминокислот. Затем экспе-

риментальная проверка трех оптимальных по аминокислотному составу сайтов разделения покажет влияние вторичных структур, вклад которых сложно предсказать с помощью моделирования. После определения оптимального сайта сплайсинга, общего для интеинов группы DnaE, рекомендуется использовать вариант NpuDnaE, обладающий самой высокой кинетикой взаимодействия N и C частей в группе. Используя оптимизированные условия с интеином NpuDnaE, можно получить сборку GFP в 80% клеток линии HEK293 при трансфекции с PEI и 55% при трансдукции с пятым серотипом AAB (AAB5). Разница между прямой экспрессией и интеиновой сборкой GFP в случае трансдукции AAB5 для клеточных линий HEK293 и ARPE19 составляет 15%, а для линии FbP13 рекомендуется использовать шестой серотип для увеличения эффективности трансдукции фибробластов. Полученные результаты помогут сократить время для разработки генотерапевтических препаратов при работе с крупными белками. *Источники финансирования: Финансирование проекта осуществлялось Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (№075-10-2021-093) в рамках проекта [GTH-RND-2011].*

ВЕКТОР ДЛЯ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ ВРОЖДЕННОГО АМАВРОЗА ЛЕБЕРА ВЫЗЫВАЕТ МЕНЬШИЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ В ТРАНСДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ARPE-19

Галиева А.А.¹, Бровин А.Н.¹, Малоголовкин А.С.^{1,2}, Егоров А.Д.¹, Карабельский А.В.¹

¹Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Центр трансляционной медицины, Сочи

²ФГОАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Институт медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского, Москва

Наследственные заболевания сетчатки (IRD) стали одним из основных направлений исследований в области генной терапии после успешных клинических испытаний препарата LUXTRNA® на основе аденоассоциированных вирусов (AAV) для лечения врожденного амавроза Лебера 2-го типа (LCA2). Десятки моногенных IRD потенциально можно лечить аналогичным подходом с использованием AAV для доставки функционального гена в сетчатку.

В данной работе представлены результаты получения и *in vitro* тестирования вектора на основе AAV 9-го серотипа, несущего кодон-оптимизированную версию гена AIPL1 (AIPL1co), в качестве возможной терапии LCA4.

Примечательно, что клетки, трансдуцированные AAV9-AIPL1co, показали гораздо меньший иммунный ответ, чем трансдуцированные AAV9-AIPL1wt (AIPL1 дикого типа). По результатам анализа РНК-секвенирования, транс-дифференцированные клетки ARPE-19, трансдуцированные AAV9-AIPL1co, демонстрируют значительные различия в экспрессии генов, участвующих во врожденном иммунном ответе, по сравнению с трансдуцированными AAV9-AIPL1wt. Так, AAV9-AIPL1co вызывает заметную активацию экспрессии генов, участвующих в подавлении иммунного ответа (IL1RN, GAS1), и снижение экспрессии провоспалительных генов (IL6, IL1RAPL, IFIT1, TNFA, генс OAS), по сравнению как с AAV9-AIPL1wt, так и с контрольным вектором AAV9-GFP. Ключевой частью возможного регуляторного механизма является активация дцРНК-чувствительных противовирусных олигоаденилатсинтетаз (OAS) в ответ на вирусное вторжение и увеличение уровня транскриптов генов, кодирующих гистоны,

которые чрезмерно представлены среди мРНК клеток, трансдуцированных AAV9-AIPL1wt.

Результаты работы позволяют предположить, что AAV9-AIPL1co, проявляющий значительно меньшую иммуногенность, чем AAV9-AIPL1wt, может быть использован для тестирования эффективности и безопасности с использованием соответствующих моделей животных для разработки будущих терапевтических средств для LCA4. Также полученные результаты являются важной вехой в понимании механизмов, лежащих в основе иммунного ответа на введение препаратов на основе AAV.

На основании результатов данной работы препарат AAV9-AIPL1co был запатентован (RU2818342C1) как вектор для снижения иммунного ответа при доставке AIPL1.

Работы выполнялись на базе Центра трансляционной медицины Университета «Сириус».

Источники финансирования: проект GTH-RND-2011 «Разработка технологии создания генотерапевтических лекарственных препаратов с плейотропным эффектом действия для лечения генетически обусловленных ретинопатий».

СОЗДАНИЕ ГЕНОВ РАЗДЕЛЁННЫХ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ ДЛЯ УПРАВЛЯЕМОЙ ОПТИЧЕСКОЙ АКТИВАЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ

Дахневич А.Я., Семерикова Т.В., Бровин А.Н., Бойченко С.С., Егоров А.Д.

Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Центр трансляционной медицины, Сочи

Важная задача современной биомедицины — поиск новых решений для лечения социально значимых заболеваний. Сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смертности в развитых и развивающихся странах, в том числе в России. Метаболические нарушения, такие как абдоминальное ожирение, резистентность к инсулину, гипергликемия, гипертриглицеридемия, артериальная гипертензия и низкий уровень холестерина и липопротеинов высокой плотности значительно увеличивают риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, что определяет интерес исследовательских групп к этой тематике.

Морфологически и функционально различают белый и бурый типы жировой ткани. Экспансия белой жировой ткани приводит к ожирению, тогда как бурая жировая ткань в организме взрослого человека представлена ограниченно и регрессирует с возрастом. Показано, что среди людей с большим количеством бурой жировой ткани значительно меньше распространены кардиометаболические заболевания. В бурых адипоцитах экспрессируется ген термогенина UCP1 (термогенин — разобщающий белок 1). Перенос UCP1 протонов без синтеза АТФ приводит к высвобождению энергии в форме тепла, а поскольку вместе с протоном UCP1 переносит свободные жирные кислоты, то и к увеличению катаболического обмена. Хорошо описаны транскрипционные регуляторы дифференцировки бурых адипоцитов: к ним относятся PGC1 α (коактиватор основного фактора транскрипции адипогенеза PPAR γ), N-метилтрансфераза лизинов гистонов PRDM16 и совсем недавно охарактеризованный фактор FoxP4. Активация программы бурого адипогенеза в белой жировой ткани приводит к появлению скоплений «бежевых» адипоцитов, в которых происходит интенсивный липолиз и термогенез.

Для ограничения действия полученных нами ранее экспрессионных конструкций, кодирующих FOXP4 и PRDM16, мы получили ряд тканеспецифичных промоторов. Кроме того, с этой же целью, мы создали несколько векторов с разделёнными генами (split gene) для применения оптогенетического контроля на основе системы iLight. Мы использовали алгоритм анализа белковых последовательностей для определения оптимального сайта сплайсинга, который позволил определить оптимальное место разделения белков FOXP4 и PRDM16 для конструкций типа iLight. В итоге, было выбрано по одному сайту разреза для каждой из кодирующих последовательностей белков, которые потом были использованы для сборки целевых генетических конструкций на основе iLight. Оптогенетический модуль был добавлен в последовательность целевых белков под одну рамку считывания.

Источники финансирования: грант ОНГ Российского научного фонда и Кубанского научного фонда 22-14-20046.

ПЦР-АНАЛИЗ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК С ПОМОЩЬЮ МЕТИЛЗАВИСИМОЙ РЕСТРИКТАЗЫ

Мартышова В.Г.¹, Тимофеева А.М.², Седых С.Е.²

¹ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск

²ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск

Эпигенетические механизмы влияют на различные аспекты здоровья человека. Метилирование ДНК может значительно отличаться в норме и при различных заболеваниях, например, при аутоиммунных (системная красная волчанка, ревматоидный артрит, рассеянный склероз), нейродегенеративных (болезни Альцгеймера и Паркинсона), онкологических и др. Изменение паттернов метилирования ДНК может быть связано с различными аспектами развития патологических процессов или ответом на терапию, в связи с чем выявление маркеров различных заболеваний, связанных с метилированием ДНК, крайне актуально для персонализированной диагностики и терапии.

В данной работе используется подход, позволяющий определить локус-специфическое метилирование, ассоциированное с патологическими процессами. Подход основан на использовании метилзависимой рестриктазы Gla I и полимеразной цепной реакции (ПЦР). Метилзависимые эндонуклеазы рестрикции, в отличие от классических рестриктаз, гидролизуют только метилированную ДНК. Одним из представителей метилзависимых рестриктаз является фермент Gla I (SibEnzyme, Новосибирск, Россия), имеющий сайт узнавания: R(5mC)↑GY / YG↓(5mC)R.

На первом этапе произведен выбор целевых генов, связанных с заболеванием. Из базы данных Ensembl выбраны дифференциально метилированные области промоторов нескольких генов, к выявленным областям подобраны праймеры. На втором этапе геномную ДНК обрабатывали Gla I рестриктазой и проводили ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени. Положительный сигнал ПЦР свидетельствует об отсутствии метилирования на исследуемом участке ДНК, поскольку в этом случае не происходит рестрикции ДНК на участке между

парами праймеров.

Таким образом, данный подход позволяет определить наличие или отсутствие сайтов метилирования в определенных локусах ДНК. Сравнение метилирования отдельных локусов пациентов с различными заболеваниями и здоровых доноров позволяет выявить участки метилирования, ассоциированные с заболеваниями.

ИММОРТАЛИЗАЦИЯ МСК ЧЕЛОВЕКА КАК ПОДХОД К РАЗРАБОТКЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ СЕКРЕТОМА

Примак А.Л.¹, Джауари С.С.¹, Басалова Н.А.^{1,2}, Кулебякина М.А.^{1,2}, Волошин Н.С.¹, Вигровский М.А.^{1,2}, Чечехина Е.С.¹, Ефименко А.Ю.^{1,2}, Акопян Ж.А.^{1,2}, Ткачук В.А.^{1,2}, Карагяур М.Н.^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Факультет фундаментальной медицины, Москва

²ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Медицинский научно-образовательный центр, Институт регенеративной медицины, Москва

Секретом представляет совокупность различных веществ, секретируемых клетками (цитокины, факторы роста, хемокины, везикулы и др.). Секретом мезенхимных стромальных клеток (МСК) человека — ключевых регуляторов процессов обновления и регенерации тканей — обладает прорегенеративным действием, сопоставимым с самими МСК. Одновременно его использование сопряжено с меньшим числом рисков, поэтому он рассматривается как основа для создания новых биомедицинских препаратов, в т.ч. и для лечения повреждений центральной нервной системы. Для производства биомедицинских препаратов важен стандартизированный состав секретома. Однако его получение затруднено из-за множества факторов: гетерогенности свойств клеточных культур, полученных от разных доноров, разных тканей, изменения свойств клеток при культивировании вследствие постепенного старения, особенностей культивирования, состава питательных сред и др. Обозначенные проблемы гетерогенности свойств самих клеточных культур могут быть решены получением стабильной клеточной культуры с увеличенным пролиферативным потенциалом посредством преодоления репликативного старения — иммортализованных клеточных культур.

Мы создали ряд культур иммортализованных МСК (иМСК) жировой ткани человека посредством эктопической экспрессии теломеразы. Полученные культуры иМСК характеризовались более стабильными свойствами в динамике — замедленным клеточным старением, высоким пролиферативным потенциалом при более длительном сохранении МСК-специфичного иммунофенотипа по сравнению с культурами первичных МСК (пМСК). Стабилизация свойств полученных клеточных культур сопровождалась и увели-

чением стабильности состава секретома МСК в ходе пассирования таких культур иМСК в сравнении с пМСК. Секретом этих культур также сохранял биологическую активность. Таким образом, иммортализация клеточных культур является удобным оправданным подходом на первых этапах жизненного пути лекарственных препаратов на основе секретома, т.к. позволяет масштабировать его получение и стандартизировать его состав.

Источники финансирования. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №19-75-30007) <https://rscf.ru/project/19-75-30007/>.

М6А-МЕТИЛИРОВАНИЕ РНК У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМИ ГЕПАТИТАМИ В И D УСИЛИВАЕТ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ

Синяговская Т.В.¹, Володин В.В.², Брезгин С.А.^{1,3}, Пономарева Н.И.¹, Тихонов А.С.¹, Качанов А.В.¹, Чуланов В.П.⁴, Костюшев Д.С.^{1,3}, Костюшева А.П.¹

¹ФГОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Институт медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского, Москва

²ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН, Москва

³Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Сочи

⁴ФГОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

Метилирование м6А является самой распространенной модификацией РНК, которая влияет на все аспекты метаболизма РНК, от эффективности сплайсинга и трансляции до скорости деградации. М6А модификация динамически регулируется комплексами метилтрансфераз, деметилаз и связывающих белков, которые определяют судьбу м6А-модифицированных транскриптов. М6А-метилирование играет важную роль иммунном ответе клетки, в том числе, при ответе на вирусные инфекции.

В данной работе изучали роль м6А-метилирования в процессах внутриклеточного иммунного ответа у пациентов с ко-инфекцией вирусами гепатита В+D (ХГВ+D).

Использовали метод MeRIP-секвенирования образцов биопсий пациентов с ХГВ+D пациентов с высокой и низкой вирусной нагрузкой вируса гепатита D. Анализ м6А-метилома выявил дифференциальную представленность сайтов м6А-метилирования у пациентов с ростом вирусной нагрузки. Выбраны 98 наиболее дифференциально представленных м6А сайта. С помощью систем направленного м6А-метилирования проведено внесение м6А меток в заданные участки РНК на моделях клеток гепатомы человека HepG2 и проведен анализ влияния м6А меток на общий интерфероновый ответ с помощью репортерного анализа ISRE-RFP (где ISRE — интерферон-респонсивный элемент, регулирующий экспрессию красного флуоресцентного белка RFP) и ПЦР-анализа уровней экспрессии мРНК иммунных факторов.

Продemonстрировано выраженное (в 6–10 раз) увеличение сигнала ISRE-RFP и экспрессии мРНК интерферона-альфа и других внутриклеточных иммунных факторов при м6А-метилировании по 6 отдельным положениям. В результате (1) были выявлены м6А сайты в РНК человека, дифференциально представленные в биопсиях печени пациентов с ХГВ+D и (2) обнаружено резкое увеличение интерфероновой реакции при м6А-метилировании РНК человека в 6 выявленных положениях.

Полученные результаты могут послужить основой для создания нового поколения биомаркеров для прогнозирования патогенеза ХГВ+D, а также позволят определить новые механизмы регуляции взаимодействия вирусов гепатита В и D с инфицированными клетками.

Источники финансирования. Грант РФФИ 22-75-10032.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ГЕННО-КЛЕТОЧНОГО КОНСТРУКТА, ЭКСПРЕССИРУЮЩЕГО ФАКТОР РОСТА НЕРВОВ, ПРИ ТРАВМАХ СПИННОГО МОЗГА

Степанова О.В.¹, Фурса Г.А.¹, Шишкина В.С.¹, Чадин А.В.¹, Карсунцева Е.К.¹, Воронова А.Д.¹, Андрецова С.С.¹, Степаненко А.А.¹, Решетов И.В.², Чехонин В.П.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России, Москва

²ФГОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, УКБ № 1, Москва

Введение. При травмах спинного мозга часто образуются кисты, которые сдавливают спинной мозг и препятствуют проведению нервных импульсов, что приводит к нарушению двигательных и чувствительных функций. Существующие хирургические и медикаментозные методы лечения пациентов с кистами спинного мозга не позволяют в полной мере добиться выздоровления. Одной из перспективных стратегий лечения может быть применение генно-клеточных конструктов, экспрессирующих нейротрофические факторы, которые способствуют нейрорегенерации.

Целью данной работы является оценка терапевтической эффективности трансплантации в кисты спинного мозга трансдуцированных обкладочных клеток обонятельной выстилки, экспрессирующих фактор роста нервов (NGF).

Материалы и методы. В исследовании были использованы образцы обонятельной выстилки, полученные при плановом хирургическом вмешательстве в Отделении пластической хирургии УКБ № 1. Были получены информированные согласия от всех пациентов. Из обонятельной выстилки человека получены обкладочные клетки, которые были трансдуцированы аденовектором Ad5RGD-CAG-NGF. Моделирование кист спинного мозга проводили на самках крыс линии Вистар. Через 4 нед после травмы наличие кисты подтверждали MPT на томографе для животных (ClinScan, Bruker BioSpin). В кисты спинного мозга трансплантировали Ad5-RGD-CAG-NGF обкладочные клетки (n=7), Ad5-RGD-CAG-GFP обкладочные клетки (n=7) и нетрансдуцированные обкладочные клетки (n=10). В качестве контроля вводили среду без клеток (n=9). В течение 4 нед после трансплантации оценивали восстановление подвижности задних конечностей крыс,

используя тесты BBB. Экспрессию NGF определяли с помощью ИФА.

Результаты. Трансплантация Ad5-RGD-CAG-NGF обкладочных клеток, экспрессирующих NGF, улучшает подвижность задних конечностей крыс эффективнее по сравнению с другими трансплантируемыми препаратами. При этом экспрессия NGF этими клетками *in vivo* выросла в 10 раз по сравнению с нетрансдуцированными обкладочными клетками.

Выводы. Разработанный нами генно-клеточный конструкт может быть перспективен для лечения пациентов с кистами спинного мозга. Применение аутологичных обкладочных клеток обонятельной выстилки таких пациентов для разработки высокотехнологичных лекарственных препаратов обеспечит персонализированный подход к лечению.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке Государственного задания 124020800066-3.

ЖИВАЯ ЛИСТЕРИОЗНАЯ ВАКЦИНА: АНАЛИЗ ПРОТЕКТИВНЫХ ЭПИТОПОВ МЕТОДОМ *IN SILICO*

Федорова В.А.¹, Лаврухин М.С.^{1,2}, Оглодина Д.А.¹, Ларионова О.С.¹

¹ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова», Саратов

²ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского», Саратов

Введение: Листериоз — острая бактериальная инфекция пищевого происхождения, возбудителем которой является бактерия *Listeria monocytogenes* (Lm). Ежегодно в мире регистрируется от 0,1 до 10 случаев заболевания на 1 млн человек. Хотя инфекция носит в основном спорадический характер, она представляет серьезную проблему в области глобального общественного здравоохранения в связи с высокими уровнями госпитализации (до 95%) и смертности (до 30–40%). Основным путем передачи инфекции человеку считается употребление продуктов питания, контаминированных Lm. Наиболее эффективным способом профилактики листериоза является вакцинация, которая осуществляется с помощью иммунизации сельскохозяйственных животных (СХЖ) живой листериозной цельно-клеточной вакциной (ЖЛВ). Однако совершенствование вакцинопрофилактики с учетом современных требований диктует необходимость разработки вакцины нового поколения, не содержащей материала живого патогена, что может быть решено с применением методов цифровой иммунологии. Прогресс в области генетических технологий позволяет выполнять предиктивный анализ больших объемов биоинформатических данных, полученных после секвенирования и аннотации вакцинных штаммов, в том числе, используемых для профилактики листериоза СХЖ.

Цель работы — *in silico* анализ эпитопов, вовлеченных в протективный иммунный ответ СХЖ, иммунизированных ЖЛВ.

Материалы и методы: использованы аминокислотные последовательности (АМК-П) генов «вирулентности» Lm из базы данных BIGSdb-Lm (n=94) с последующей обработ-

кой методами молекулярной иммунологии для отбора эпитопов, обладающих иммунными свойствами.

Результаты: нами были отобраны 39/94 (41,5%) генов, продукты которых потенциально вовлечены в индукцию иммунитета против листериоза СХЖ. В среднем, для АМК-П предсказано 250 000 эпитопов. После последовательного двукратного отсека было отобрано не менее 60 эпитопов для каждого из них с антигенными и иммуногенными свойствами, обладающих (1 группа, от 0 до 12 в зависимости от АМК-П) или не обладающих (2 группа, от 0 до 11) аллергенной активностью.

Заключение: определена эпитопная композиция для указанных АМК-П, включая индивидуальные варианты. Установлена перспектива их дальнейшего изучения в качестве компонентов эффективной безопасной экспериментальной листериозной вакцины нового поколения. Обнаружен спектр эпитопов с выраженными аллергенными свойствами, подлежащих исключению из состава указанного препарата.

Источники финансирования: РНФ, проект № 22-16-00165.

ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В ПЛЕОМОРФНЫХ САРКОМАХ

Джуманиязова Э.Д.^{1,2}, Лохонина А.В.^{1,2}, Тиханович А.В.², Косырева А.М.^{1,2}

¹ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Научно-исследовательский институт молекулярной и клеточной медицины, Москва

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Медицинский Институт, Москва

Саркомы мягких тканей (СМТ) — гетерогенная группа злокачественных новообразований мезенхимального происхождения, характеризующаяся редкой встречаемостью и агрессивным клиническим течением. Выявление новых биомаркеров служит предпосылкой для поиска рациональных терапевтических подходов.

Цель. Оценка экспрессии генов *ARG1*, *HIF1A*, *VEGF* и *MMP2* в плеоморфных СМТ в тканях опухоли и перитуморальной области.

Материалы и методы. Панель генов выбрана на основании участия данных генов в механизмах канцерогенеза, описанных в литературе. Биопсийный материал опухолевой ткани и перитуморальной области получен от 15 пациентов с плеоморфной СМТ. Обработка биоматериала выполнялась в асептических условиях стерильными инструментами. Изолирование клеток осуществляли методом энзиматической дезагрегации. Тотальную РНК выделяли из клеток набором Rneasy Mini Kit (Qiagen) с последующей очисткой и концентрацией набором RNA Clean&Concentrator (Zymo Research). Для получения кДНК по матрице РНК использовали готовый набор реактивов MMLV RT Kit («Евроген», Россия), постановку реакции проводили согласно инструкции. С использованием смеси для ПЦР qPCRmix-HS SYBR («Евроген», Россия), содержащей флуоресцентный интеркалирующий краситель Sybr Green I, согласно приложенной инструкции определяли уровни экспрессии мРНК указанных генов относительно уровня экспрессии мРНК *GAPDH* на Real-Time амплификаторе DTprime («ДНК-Технология», Россия).

Результаты. Экспрессия мРНК *ARG1*, *HIF1A*, *VEGF* и *MMP2* обнаружена во всех исследуемых образцах. В образцах опухоли по сравнению с перитуморальной областью повышалась экспрессия *ARG1*, различий между

перитуморальной областью и опухолью по экспрессии остальных генов обнаружено не было.

Выводы. Выявленное повышение экспрессии *ARG1* свидетельствует об иммуносупрессивном потенциале опухолевого микроокружения плеоморфных СМТ. *ARG1* экспрессируется преимущественно иммуносупрессивными миелоидными клетками и истощает запасы L-аргинина, который, в свою очередь, необходим для пролиферации Т-лимфоцитов. Новые знания о регуляции метаболизма аргинина в опухолевых тканях предоставляют ценную информацию для разработки эффективных терапевтических подходов.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 23-65-00003).

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА МУТАЦИЙ ГЕНА *PIK3CA* В РАМКАХ СПЕКТРА СИНДРОМОВ ИЗБЫТОЧНОГО РОСТА (PROS)

Жарнакова Ю.С.^{1,2}, Мартыанов А.С.¹, Венина А.Р.¹, Имянитов Е.Н.¹

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

²ФГАУ ВО «Санкт-Петербургский Политехнический Университет Петра Великого», Санкт-Петербург

Спектр синдромов избыточного роста, связанный с мутациями гена *PIK3CA* [*PIK3CA* — Related Overgrowth Spectrum (PROS)], — группа редких патологий, характеризующаяся аномалиями в развитии и чрезмерным разрастанием различных тканей. Происхождение этих заболеваний связано с соматическими мутациями в гене *PIK3CA*, возникающими на ранних этапах эмбриогенеза. Эти мутации часто имеют мозаичный характер, что создает трудности для молекулярной диагностики. Сигнальный путь PI3K/Akt/mTOR имеет ключевое значение для таких процессов в нормальных клетках, как пролиферация, рост, ангиогенез, выживание клеток и метаболизм. Соматические мутации в гене *PIK3CA* приводят к гиперактивации данного пути, что может способствовать развитию опухолей, аномалий сосудов и избыточному росту тканей. Выявление повреждений в гене *PIK3CA* приобретает особое значение с внедрением ингибитора PI3K, такого как алпелисиб. Изначально он был одобрен для лечения пациентов с раком молочной железы, имеющих мутации в гене *PIK3CA*, однако впоследствии эффективность алпелисиба была подтверждена также и для пациентов с *PIK3CA*-связанным спектром избыточного роста (PROS).

Целью настоящего исследования стал анализ частоты мутаций гена *PIK3CA* у пациентов с подозрением на PROS.

В исследование вошли 116 пациентов (возрастной диапазон от 2,6 мес до 18 лет; 44 мужчины и 72 женщины). Поиск мутаций в 2, 3, 7, 9, 20-м экзонах гена *PIK3CA* выполнялся с использованием комплекса методов: аллель-дискриминантной ПЦР, плавления ПЦР-продукта с высоким разрешением, цифровой капельной ПЦР, таргетного секвенирования нового поколения (NGS, next-generation sequencing).

Мутации были обнаружены в 56/116 случаях (48,3%). Большинство выявленных изменений (44/56, 78,6%) относились к трем распространенным вариантам миссенс-замен: p.E542K, p.E545K и p.H1047R. С применением ПЦР-методик была выявлена 51 мутация, из которых 30 обнаружили только высокочувствительным методом — цифровой капельной ПЦР. Для 65 случаев, негативных по результатам ПЦР-тестирования, был выполнен целевой анализ методом NGS, что позволило выявить еще 5 миссенс-мутаций (p.G106V, p.N107T, p.E109K, p.C378Y, p.C420R). Разработан и успешно апробирован алгоритм для молекулярно-генетической диагностики пациентов с подозрением на PROS.

ОТ FISH ДО ПОЛНОГЕНОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ И ОБРАТНО: СЛОЖНОСТИ ВЫЯВЛЕНИЯ ЗНАЧИМЫХ ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ ПРИ ОСТРЫХ ЛЕЙКОЗАХ У ДЕТЕЙ

Зеркаленкова Е.А., Ильясова К.Р., Солдаткина О.И., Казакова А.Н., Ольшанская ЮВ., Масчан М.А. ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева», Москва

Рекуррентные хромосомные транслокации, приводящие к формированию химерных генов, являются ведущим механизмом патогенеза острых лейкозов (ОЛ) у детей. С помощью FISH возможна быстрая детекция перестроек генов, имеющих много транслокационных партнеров.

Однако в ряде случаев возникает вопрос о соответствии наблюдаемых FISH-аббераций наличию функционального химерного гена, и, как следствие, возможности адекватной стратификации пациента.

Была проанализирована ретроспективная когорта из 914 образцов ОЛ детского возраста с перестройками и частичными делециями генов *KMT2A* (n=528), *E2A* (n=109), *CRLF2* (n=94), *NUP98* (n=67), *ETV6* (n=53), *ZNF384* (n=36), *PAX5* (n=27), выявленными FISH с пробами на разрыв. Наличие соответствующего химерного гена выявляли методами полногеномного секвенирования (n=141), таргетного ДНК-секвенирования (n=165), RNAseq (n=134), ОТ-ПЦР (n=396) и транслокационной FISH (n=121). Классические перестройки чаще всего выявлялись при FISH-исследовании генов *ZNF384* (97,2%), *KMT2A* (87,9%) и *NUP98* (86,6%), при этом функциональные химерные гены были обнаружены в 100%, 98,5% и 98,5% образцов соответственно. Для гена *ETV6* химерные гены были найдены только в 77,4% случаев (46 из 53). В 7 (13,2%) образцах с абберациями 12p13.2, выявляемыми методом FISH, геномные разрывы не затрагивали собственно ген *ETV6*, а еще в 9 (17,0%) образцах перестройки были непродуктивными. *E2A*-химерные гены были найдены во всех случаях с классической перестройкой и только в 80,3% (45 из 56) случаев с частичной делецией *E2A*. Остальные 11 образцов имели геномные разрывы выше *E2A*, что соответствует делециям 5'-пробы. Реже всего классический FISH-паттерн пе-

рестройки встречался у генов *CRLF2* (25,5%) и *PAX5* (19,2%). При этом все *CRLF2*+ образцы имели функциональные слияния за счет интерстициальной делеции Xp22.33 либо перестройки с локусом *IGH*. Среди образцов с абберациями 9p13.2 в 11,1% случаев (3 из 27) ген *PAX5* затронут не был, а имели место перестройки соседнего гена *ZCCHC7*.

Таким образом, наиболее часто при абберантном FISH-паттерне не обнаруживались *ETV6*-химерные гены (13,2% случаев), а также функциональные перестройки *PAX5* и *E2A* (11,1% и 10,2% случаев соответственно). Для перестроек *KMT2A*, *NUP98*, *CRLF2* и *ZNF384* любой абберантный FISH-паттерн в большинстве случаев соответствовал формированию функционального химерного гена (98,5%, 98,5%, 100% и 100% случаев соответственно).

ИЗМЕНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ЛАНДШАФТА ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОД ДЕЙСТВИЕМ АНТРАЦИКЛИН-СОДЕРЖАЩИХ СХЕМ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

Ибрагимова М.К.^{1,2}, Кравцова Е.А.¹, Цыганов М.М.^{1,2}, Литвяков Н.В.¹

¹ФГБНУ «Томский научно-исследовательский медицинский центр РАН», НИИ онкологии, Томск

²ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск

Золотого стандарта лечения первой линии для пациентов с HER2-отрицательным раком молочной железы (РМЖ) по-прежнему не существует, но антрациклин-содержащие схемы неоадьювантной химиотерапии (НХТ) признаны наиболее эффективными и часто используемыми цитостатическими препаратами.

Цель: изучение изменения генетического ландшафта опухоли молочной железы под действием антрациклин-содержащих схем НХТ для выявления предиктивных маркеров объективного ответа на лечение и прогностических маркеров возникновения гематогенного метастазирования.

Материал и методы. В исследование включено 35 пациенток с люминальным В HER2-РМЖ (IIA–IIIB стадии), получавших 4–8 курсов НХТ по схемам FAC/AC, САХ. У 13 пациенток (37,1%) зарегистрировано возникновение гематогенного метастазирования (среднее время $45,7 \pm 0,4$ мес). Материалом служили парные образцы: биопсийный опухолевый материал до лечения и операционный материал после НХТ для каждой пациентки. Для анализа aberrаций числа копий (CNA) проводили микроматричный анализ на ДНК-чипах CytoScan™ HD Array. Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ «Statistica 8.0» (StatSoft Inc., USA).

Результаты. При сравнении частот CNA в опухоли до лечения установлено, что объективный ответ наблюдался при большом количестве делеций (78,3%) в 11q22.3 и 11q23.1 регионах ($p=0,00238$). Потенциально данные локусы могут выступать в качестве предиктивного маркера объективного ответа при применении в режиме НХТ антрациклин-содержащих схем лечения. В результате сравнения частот встречаемости CNA после лечения показано, что возникновение гематогенного

метастазирования наблюдалось при большем количестве амплификаций в 9p22.2 регионе ($p=0,00229$) и делеций в 9p21.3 регионе ($p=0,043$). Потенциально данные локусы могут выступать в качестве прогностического маркера возникновения гематогенного метастазирования у данной группы больных. При оценке показателей безметастатической выживаемости в зависимости от выявленных прогностических CNA-маркеров возникновения гематогенного метастазирования, получены статистически значимые результаты при наличии в опухоли амплификаций в 9p22.2 локусе ($p=0,003$) и делеций в локусе 9p21.3 ($p=0,03$).

Вывод. Выявлены потенциальные предиктивные маркеры объективного ответа на лечение и прогностические маркеры возникновения гематогенного метастазирования для пациенток с люминальным В HER2-РМЖ при применении антрациклин-содержащих схем НХТ.

Источники финансирования. РНФ № 22-15-00169.

ТРАНСКРИПТОМИКА ЕДИНИЧНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ПАЦИЕНТОВ С ГЕМОПОЭТИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЮММЛ И RALD

Иконников А.В.^{1,2}, Волчков Е.В.^{1,3}, Хозяинова А.А.⁴, Меняйло М.Е.^{1,4}, Гуржиханова М.Х.³, Денисов Е.В.^{1,4}, Масчан М.А.³

¹ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва

²ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева», Москва

⁴ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Томск

Ювенильный миеломоноцитарный лейкоз (ЮММЛ) и RAS-ассоциированное аутоиммунное лейкопролиферативное заболевание (RALD) обладают схожими клиническими проявлениями, обусловленными идентичными мутациями в RAS-сигнальном пути (KRAS, NRAS) и характеризуются высоким риском трансформации во вторичный острый миелоидный лейкоз (вОМЛ). До сих пор не выявлены молекулярные механизмы данных заболеваний и диагностические подходы, позволяющие их различить.

Целью данного исследования был биоинформатический анализ данных РНК-секвенирования единичных клеток образцов костного мозга (КМ) пациентов с ЮММЛ и RALD в сравнении с образцами КМ контрольной группы.

В качестве образцов были использованы клетки КМ трех пациентов с ЮММЛ с мутациями генов PTPN11, NF1 и NRAS и 1 пациента с RALD. Контрольную группу составили образцы КМ scRNA-seq от трех здоровых детей из открытой базы данных NCBI GEO. Протокол подготовки для РНК-секвенирования единичных клеток проводился на платформе Chromium X (10x Genomics, США), секвенирование осуществлялось на Genolab M (GeneMind, Китай). Биоинформатический анализ проводился с использованием Scanpy (v.1.9.5) и Seurat (v.5.0.3). Коррекция батч-эффекта выполнялось с помощью пакета Harmony. Анализ метаболических путей проводился с использованием GSEApy и DecoupleR. С помощью биоинформатической аннотации был описан клеточный ландшафт образцов КМ ЮММЛ и RALD.

В образцах ЮММЛ и RALD наблюдалась повышенная относительная представлен-

ность клеток миеломоноцитарной линии в сравнении с контролем. Образец ЮММЛ с агрессивным клиническим прогрессированием и мутацией PTPN11 характеризовался значительным количеством HSCs (гемопоэтических стволовых клеток) и клеток эритроидного происхождения. Кроме того, в образце ЮММЛ с мутацией PTPN11 наблюдалась гиперактивация пути PI3K. Установлено, что клетки HSCs образцов ЮММЛ и RALD отличались большей активностью метаболического пути MAPK по сравнению с контролем. Была обнаружена повышенная активность путей, связанных с ГТФазами и деацетилированием гистонов в GMP (предшественниках гранулоцитов/моноцитов), в образцах ЮММЛ.

На основе анализа корреляции пространства главных компонент (PCA) транскрипционных профилей HSCs было выявлено, что профили клеток у пациентов с ЮММЛ и RALD имеют значительное сходство. Кроме того, отрицательная корреляция между транскрипционными профилями пациентов с ЮММЛ и RALD и контролем свидетельствует о значительных различиях в экспрессии генов между больными и здоровыми пациентами.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ГРУПП KMT2A-R И KMT2A-WT И ОЦЕНКА ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ МАРКЕРОВ ПРИ В-ОСТРОМ ЛИМФОБЛАСТНОМ ЛЕЙКОЗЕ У МЛАДЕНЦЕВ

Ильясова К.Р., Солдаткина О.И., Казакова А.Н., Ольшанская Ю.В., Масчан М.А., Зеркаленкова Е.А.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева», Москва

Введение. В-острый лимфобластный лейкоз (В-ОЛЛ) у младенцев традиционно подразделяется на KMT2A-г и KMT2A-wt. Обе группы демонстрируют значительную гетерогенность: конкретный транслокационный партнер KMT2A может влиять на исход заболевания (AFF1, MLLT10, AFDN ассоциированы с неблагоприятным прогнозом; MLLT1 и некоторые другие имеют менее агрессивное течение). Группа KMT2A-wt также демонстрирует гетерогенный ландшафт и включает как прогностически значимые маркеры, так и аберрации с неоднозначной прогностической информацией, относящиеся к «В-другим» ОЛЛ.

Цель. Исследовать генетическую гетерогенность В-ОЛЛ у младенцев и оценить прогностическую значимость выявленных маркеров.

Методы: был проведен анализ молекулярно-генетических аберраций в большой когорте младенцев с В-ОЛЛ (n=186, в возрасте от 0 до 365 дней). Для скрининга геномных аберраций проводился FISH-анализ, а также RNA-seq для идентификации химерных транскриптов. Все найденные маркеры были валидированы секвенированием по Сэнгеру.

Результаты: среди 186 младенцев 84% случаев были классифицированы как KMT2A-г (n=153), остальные были отнесены к группе KMT2A-wt (n=33; 17,8%). Чаще всего в группе KMT2A-wt встречались перестройки, связанные с генами PAX5 (n=10/24; 45,8%) и NUTM1 (n=9/24; 37,5%), а также были выявлены более редкие варианты: TCF3::ZNF384 (n=3/24; 12,5%) и ETV6::JAK1 (n=1/24; 4,1%). Анализ показателей выживаемости выявил, что БСВ ниже у младенцев в группе KMT2A-г по сравнению с KMT2A-wt: 2-летняя БСВ составила 90,2% (95% ДИ 78–100%) в группе KMT2A-wt против 21% (95% ДИ 11–42%) в группе KMT2A-г (лог-ранг тест,

p=0,001). Группы NUTM1-г и PAX5-г продемонстрировали отличные показатели выживаемости: 2-летняя БСВ составила 75% (95% ДИ, 43–100%) и 100% (95% ДИ, 100–100%) соответственно. Необходимо отметить небольшой размер когорты, что может ограничивать статистическую мощность анализа (лог-ранг тест, p=0,7). Выживаемость в группе KMT2A-г в зависимости от генов-партнеров не различалась, согласно нашим данным, в частности, группа с KMT2A::AFF1 не отличалась худшим прогнозом: 2-летняя БСВ и ОВ составила 46% (95% ДИ, 30–71%) и 48,29% (95% ДИ, 29–80%) против 27% (95% ДИ, 13–54%) и 60% (95% ДИ, 42–86%) в группе с другими генами-партнерами KMT2A (лог-ранг тест, p=0,3).

Выводы: анализ когорты младенцев с В-ОЛЛ показал широкий спектр характерных генетических изменений. Несмотря на отличные показатели выживаемости PAX5-г и NUTM1-г, необходимы дальнейшие исследования на более крупных когортах пациентов для подтверждения этих наблюдений.

ВЛИЯНИЕ СОПУТСТВУЮЩЕГО МУТАЦИОННОГО ПРОФИЛЯ НА ИСХОД ЗАБОЛЕВАНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С FLT3-ITD

Итов А.Б.^{1,2}, Солдаткина О.И.¹, Казакова А.Н.¹, Калинина И.И.¹, Воронин К.А.¹, Процветкина А.В.¹, Масчан М.А.¹, Масчан А.А.¹, Новичкова Г.А.¹, Ольшанская Ю.В.¹, Зеркаленкова Е.А.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева», Москва

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Введение. FLT3-ITD — наиболее часто встречающаяся при ОМЛ поздняя драйверная мутация, является независимым фактором неблагоприятного прогноза. Считалось, что на исход заболевания влияет показатель AR FLT3-ITD: у пациентов с высоким AR показатели выживаемости были хуже по сравнению с пациентами с низким AR. Однако последние исследования демонстрируют, что прогностическое значение имеет не показатель аллельного соотношения, а сопутствующий мутационный профиль.

Цель. Изучить сопутствующий мутационный профиль пациентов с FLT3-ITD и оценить его влияние на исход заболевания.

Материалы и методы. В анализ включены 64 пациента (0,3–18 лет). Цитогенетический профиль оценивался по кариотипированию и FISH. Детекция FLT3-ITD осуществлялась с помощью анализа фрагментов на приборе ABI 3500XL Genetic Analyzer. Для изучения молекулярно-генетического ландшафта проводили NGS с использованием TruSight Myeloid Sequencing Panel и QIASeq HMNP.

Результаты. Пациенты с FLT3-ITD были стратифицированы на 3 группы риска в зависимости от сопутствующих мутаций: 19 с сопутствующими мутациями благоприятного риска (RUNX1::RUNX1T1, CBFB::MYH11, мутации в NPM1 и CEBPA) вошли в группу ITD-FR, 30 пациентов с транслокациями NUP98, DEK::CAN, вариантами в WT1 составили группу ITD-PR, оставшиеся 15 были отнесены в ITD-INT, причем половину из них составляли пациенты с трисомией 8 (n=7). Наличие сопутствующих мутаций неблагоприятного прогноза коррелировало с более высоким числом лейкоцитов (Me-91,59 у ITD-PR по сравнению с 91,14 у ITD-INT и 91 у ITD-FR, p=0,0076). Процент достижения полной пер-

вой ремиссии после индукционной терапии у ITD-FR был выше (73,7% против 40% у ITD-INT и 23,3% у ITD-PR, p=0,00085). У пациентов ITD-INT и ITD-PR чаще наблюдалась первичная рефрактерность (60% и 56,6% соответственно против 5,2% у ITD-FR, p=0,00023). Двухлетняя бессобытийная выживаемость (БСВ) у ITD-FR составила 46% (CI 26–79%), что выше, чем у ITD-INT (20%, CI 6,3–64%, p=0,04) и ITD-PR (13% CI 5,4–33%, p=0,012). Между группами ITD-INT и ITD-PR достоверных различий выявлено не было. Высокий процент ТГСК и применение ингибиторов FLT3 в группах ITD-INT (86,6%) и ITD-PR (66,6%) оказал благоприятное влияние на исход заболевания, показатели общей выживаемости между тремя исследуемыми группами достоверно не различались.

Выводы. Пациенты с FLT3-ITD и ко-мутациями промежуточного и неблагоприятного прогноза (ITD-INT и ITD-PR) показали худшие показатели БСВ по сравнению с группой ITD-FR. Однако высокий процент ТГСК в этих группах помог улучшить исход заболевания.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АБЕРРАЦИИ, ВЫЯВЛЯЕМЫЕ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ *IN SITU*, У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ И ТРАНСЛОКАЦИЕЙ $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$. СВЯЗЬ С ИНИЦИАЛЬНЫМИ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ И ОТВЕТОМ НА ТЕРАПИЮ

Котов И.С.¹, Цаур Г.А.^{1,2,3}, Нохрина Е.С.², Пермикин Ж.В.^{1,2}, Вержбицкая Т.Ю.^{2,3}, Ригер Т.О.^{2,3}, Пономарев А.И.^{1,2,3}, Стрелева О.В.^{2,3}, Аракаев О.Р.^{2,3}, Цвиренко С.В.¹, Ковтун О.П.¹, Фечина Л.Г.^{2,3}

¹ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет», Екатеринбург,

²ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», Екатеринбург

³ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург

Введение. Транслокация $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ характеризуется высокой степенью генетической гетерогенности вследствие частого сочетания с изменениями числа копий невовлеченных в транслокацию аллелей генов *ETV6* и *RUNX1*. Технология флуоресцентной гибридизации *in situ* позволяет детектировать эти дополнительные генетические aberrации (FISH-паттерны).

Цель работы. Детальная характеристика FISH-паттернов у пациентов с В-линейным острым лимфобластным лейкозом (ВП-ОЛЛ) и наличием транслокации $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$.

Материалы и методы. В работу включен 241 пациент с $t(12;21)$ -позитивным ОЛЛ, которым было проведено исследование методом FISH с использованием двухцветного флуоресцентного зонда с двойным слиянием.

Результаты и обсуждение. Наиболее распространенным вторичным генетическим изменением оказалась делеция *ETV6* (43,5%, $n=105$). Реже выявляли дополнительную копию *RUNX1* (40,2%, $n=97$), сочетание делеции *ETV6* и дополнительной копии *RUNX1* (11,2%, $n=27$), дополнительную копию *ETV6* (2,0%, $n=5$). Выявлены 5 прогностически неблагоприятных FISH-паттернов, которые были ассоциированы с высоким риском рецидива (кумулятивная частота рецидива 100%). К ним относились случаи с дополнительными копиями *ETV6* и *RUNX1* (паттерн 2F2G2R), с дополнительными копиями *RUNX1* (паттерн 2F2R-3F2R) и *ETV6* (паттерн 1F1G2R-2F2G4R), частичной делецией *ETV6* (паттерн 2F1Gdim1R) и нерцепрокной транслокацией $t(12;21)$ (паттерн 1F1R-1F1G1R). Объедине-

ние этих прогностически неблагоприятных FISH-паттернов в одну группу позволило спрогнозировать 6 из 13 рецидивов (46%), развившихся у 241 пациента за исследуемый период. Пациенты с прогностически неблагоприятными FISH-паттернами хорошо отвечали на индукционную терапию, как по данным цитологического исследования крови и костного мозга на 8-й, 15-й и 36-й дни терапии, так и по результатам определения МОБ на момент окончания индукционной терапии по протоколу ALL-MB 2015.

Заключение. ВП-ОЛЛ с транслокацией $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ характеризуется большим разнообразием вторичных генетических вариантов, выявляемых с помощью метода FISH, наиболее частым из которых является делеция *ETV6*. Выявленная нами группа прогностически неблагоприятных FISH-паттернов требует пристального внимания и дальнейшего изучения с целью возможной их рестратификации для получения более интенсивного лечения.

КЛЕТОЧНАЯ МОДЕЛЬ ИНВЕРСИИ KMT2A::BTBD18, АССОЦИИРОВАННОЙ С ЛЕЙКОЗОМ

Ломов Н.А.¹, Грушецкий Н.А.¹, Вьюшков В.С.¹, Рубцов М.А.^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Биологический факультет, Москва

²ФГОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Центр промышленных технологий и предпринимательства, Москва

KMT2A (MLL) — ключевой белок-регулятор транскрипции генов в гемопоэзе. Его N-концевая часть отвечает за распознавание промоторов в определенном хроматиновом контексте, C-концевой фрагмент MLL отвечает за взаимодействие с транскрипционными факторами и вносит активирующую метку H3K4Me3. Хромосомные перестройки, вызванные двуцепочечными разрывами, могут приводить к образованию химерных белков, которые объединяют N-концевую часть MLL с различными доменами белков-партнёров, что нарушает регуляцию транскрипции множества генов и может приводить к развитию лейкозов. Перестройки *MLL* встречаются примерно в 10% всех лейкозов, в том числе вторичных лейкозов, обусловленных терапией топоизомеразными ядами. Одной из пока не изученных перестроек является инверсия *MLL::BTBD18 inv(11)(q12.1q23.3)*. Известно, что BTBD18 участвует в регуляции транскрипции в клетках зародышевой линии, однако не ясно, какой может быть роль BTBD18 в слитом белке MLL-BTBD18 при онкогенезе. Для изучения механизмов онкогенеза применяют клеточные модели, содержащие изучаемую мутацию.

Мы разработали протокол получения клеточных линий, содержащих хромосомные перестройки. Клеточная модель, представляющая из себя линию клеток с целевой хромосомной перестройкой, позволяет добиться максимально схожего с опухолевой клеткой уровня экспрессии слитого гена.

С помощью системы CRISPR/Cas мы индуцировали перестройки в клетках линии LCL, выделили из популяции несколько моноклональных линий с перестройкой, подтвердили в них перестройку и экспрессию химерного белка и изучили изменение экспрессии ключевых генов онкогенеза.

Были обнаружены отличия в уровне экспрессии между полученными клонами — это говорит о том, что перестройки не обязательно ведут к однозначному изменению эпигенетического ландшафта, а лейкоз развивается только при появлении пролиферативного преимущества клеток с перестройкой перед другими клетками. Можно предположить, что влияние на транскрипцию клеток обусловлено активирующей функцией BTBD18 и привлечением химерного белка к промоторам генов за счет N-концевой части MLL.

Полученные клеточные линии являются удобными моделями для изучения механизма развития лейкоза при данной хромосомной перестройке.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 24-15-00093.

ОПЫТ СОМАТИЧЕСКОГО ПРОФИЛИРОВАНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАСШИРЕННОЙ NGS-ПАНЕЛИ: КЛИНИЧЕСКИЕ СЛУЧАИ

Макарова М.В.¹, Немцова М.В.¹, Сагайдак О.В.¹, Чекини Д.А.², Сарыгина Е.В.¹, Бяхова М.М.³, Косова Е.В.¹, Уланова П.В.¹, Криницына А.А.¹, Беленикин М.С.¹

¹ООО «Эвоген», Москва

²ООО «ХАВЕН»; Онкоцентр «Лапино-2» «Мать и дитя», Московская обл., д. Лапино

³ГКБ им С.С. Юдина Департамента здравоохранения Москвы, Онкологический центр №1, Москва

Актуальность. Пациентам с метастатическими солидными злокачественными новообразованиями (ЗНО) в случае прогрессирования заболевания, а также с ЗНО невыявленной первичной локализации может быть рекомендовано расширенное молекулярно-генетическое исследование опухолевой ткани методом высокопроизводительного секвенирования (NGS).

Цель. Представить результаты применения комплексного соматического профилирования (КСП) EVOGEN-ОНКОТАРГЕТ (на основе Sentis™ Cancer+Discovery Panel, BGI).

Материалы и методы. Биоматериал — опухолевая ткань (срезы FFPE), доля опухолевых клеток — >20%. Глубина секвенирования ДНК: 900х — опухолевый образец, >300х — контрольный (венозная кровь), размер вставки 140–210 пно, Q30>80%, охват >90%. Анализ 688 генов, микросателлитной нестабильности (MSI), мутационной нагрузки (TMB).

Результаты. Проведено 22 исследования. В 7 случаях (32%) определены потенциально эффективные лекарственные препараты для лечения типа ЗНО пациента (уровень А), в остальных случаях — маркеры потенциальной эффективности уровней В–D.

Клинические случаи. Мужчина 66 лет, ЗНО слепой кишки pT3pN2aM1 (солитарный метастаз в печени, множественные метастазы в легких). ПЦР-исследование: *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* не выявлено. По результатам КСП выявлены варианты G12V (с.35G>T) гена *NRAS* и A59T (с.175G>A) гена *KRAS*, что является противопоказанием к назначению ингибиторов EGFR, при этом рекомендовано добавление к проводимой противоопухолевой лекарственной терапии бевацизумаба. Пациенту назначен бевацизумаб.

Мужчина, 62 года, ЗНО тела желудка cT3cN1cM1a (метастазы в печени, брюшине).

По результатам КСП *KRAS/NRAS/BRAF* V600E не выявлено. Выявлены варианты генов TP53 p.E258Q (с.772G>C) и FGFR2 (увеличение числа копий), что по результатам отдельных исследований может быть маркером чувствительности к пазопанибу, который назначен пациенту по результатам консилиума врачей.

Женщина, 65 лет, ЗНО легкого T3N3M1 (метастаз в th10). Аденокарцинома. Ранее проведенное исследование: *EGFR*, *ALK*, *ROS1* — не выявлено. По результатам КСП выявлена делеция экзона 19 гена *EGFR* p.L747_A750delinsP (с.2239_2248delTTAAGAGAAAGinsC), что является маркером чувствительности к афатинибу и гефитинибу. Пациентке назначен афатиниб.

Заключение. Применение КСП в клинической практике в отдельных случаях повышает эффективность лечения пациентов за счет определения чувствительности или резистентности к противоопухолевым таргетным препаратам и иммунотерапии. Целесообразно продолжить оценку эффективности применения КСП на большей выборке.

СЕКВЕНИРОВАНИЕ ГЕНОВ ГОМОЛОГИЧНОЙ РЕКОМБИНАЦИИ В ОПУХОЛЯХ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Спирина Л.В.^{1,2}, Ковалева И.В.^{1,2}, Чижевская С.Ю.^{1,2}, Цыганов М.М.^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск

²ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», НИИ онкологии, Томск

Введение. Мутации генов, участвующих в репарации ДНК путем гомологичной рекомбинации (HRR), играют важную роль в развитии опухолевой патологии. Цель исследования заключалась в изучении мутационного ландшафта опухолей щитовидной железы.

Материалы и методы исследования. В исследование вошли 6 человек с патологией щитовидной железы (2 пациентки с папиллярным раком щитовидной железы и 4 — с доброкачественными аденомами щитовидной железы). Было проведено секвенирование генов гомологичной рекомбинации при помощи панели «HRR Panel v1.0» (Nanodigmbio, China) на приборе MiSeq™ Sequencing System (Illumina, USA) методом мостиковой амплификации. Генетические варианты, обнаруженные в образцах опухолевой ткани, были аннотированы с использованием инструмента GATK. Для оценки клинической релевантности выявленных вариантов были использованы базы данных, такие как OMIM, ClinVar, Human Gene Mutation Database, Human Genome Variation Society, BRCA Exchange, а также выполнен анализ литературных данных.

Результаты исследования. В ткани папиллярного рака щитовидной железы выявлены мутации *BRCA1*, *BRCA2* и *FANCA*, характерные для доброкачественных образований щитовидной железы. Были отмечены взаимосвязи между мутацией гена *FANCA* и риском развития папиллярного рака щитовидной железы. Кроме того, показано, что *BRCA1* (rs16941) имеет неоднозначное значение в оценке патогенности. При этом в литературе имеются данные о ассоциации опухолей молочной железы и папиллярного рака щитовидной железы у женщин с герминальной мутацией *BRCA1*. В ткани аденомы выявлены мутации *ATR*, *BARD1*, *BLM*, *BRCA2*, *BRIP*, *CHEK1*, *FANCE*, *NBN*, *RPA1*, характерные для доброкачественных новообразований. По-

казано, что в большинстве случаев аденом присутствовали мутации *ATR* (rs1802904) и *BARD1* (rs2070093). Остальные мутации были представлены в доброкачественном варианте и обнаружены только у 2 пациентов. Для одной пациентки с аденомой оценка роли *BARD1* rs752628149 и rs757953605 в патогенности была неоднозначной.

Выводы. Таким образом, вклад генов гомологичной репарации в развитие папиллярного рака щитовидной железы не выявлен. Показана сцепленность мутации гена *FANCA* (rs7195066), а также *BRCA1* (rs16941) с развитием рака щитовидной железы. Получены предварительные данные о связи непатогенных мутаций *BARD1* в фолликулярной аденоме с синдромом развития злокачественных опухолей.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ «ДИКОГО ТИПА»

Цыганова И.В., Мазуренко Н.Н., Югай В.В., Козлов Н.А., Никулин М.П., Стилиди И.С.
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Гастроинтестинальные стромальные опухоли (ГИСО) — наиболее распространенные саркомы ЖКТ. Их отличительными признаками являются экспрессия CD117 (KIT) или DOG-1 и мутации в генах KIT или PDGFRA. Однако 10–15% ГИСО взрослых и 85% ГИСО детей не имеют мутаций KIT/PDGFRA (ГИСО «дикого типа»). ГИСО «дикого типа» — чрезвычайно гетерогенная группа опухолей по клиническому фенотипу, генетической этиологии и по молекулярным путям.

Нами выполнен генетический анализ 415 случаев ГИСО.

ДНК получали из опухолевых клеток, собранных микродиссекцией со срезов операционных биопсий и секвенировали по Сенгеру. Большинство пациентов были женщины (71%), средний возраст составил 46 лет.

Мутации KIT/PDGFRA выявлены в 349 (84%) случаях ГИСО, а 66 (15,9%) были ГИСО «дикого типа». В 10 случаях (15,1%) ГИСО «дикого типа» выявлены мутации BRAF V600E. Опухоли локализовались в желудке у женщин и отличались хорошей выживаемостью. У 2 пациентов с агрессивным ГИСО тонкой кишки наблюдался нейрофиброматоз 1-го типа (NF1). Особую группу ГИСО «дикого типа» составляют опухоли с нарушениями функционирования комплекса сукцинатдегидрогеназы (SDH A, B, C, D). Иммуногистохимически исследовали экспрессию SDH B в 20 ГИСО «дикого типа». Отсутствие экспрессии SDH обнаружено в 13 опухолях, у пациенток с триадой Карни (3 случая), с синдромом Карни–Стратакиса (1 случай), а также у девочек в возрасте до 19 лет. В 30 случаях ГИСО «дикого типа» вышеуказанные мутации не выявлены и отсутствовала чувствительность к иматинибу. Вероятно, эти ГИСО содержат мутации в генах других сигнальных путей. Так, обнаружена ГИСО желудка с нарушением NTRK у девушки 16 лет.

ГИСО «дикого типа» резистентны к иматинибу и нуждаются в детальном генетическом анализе мутаций для выбора мишени таргет-

ной терапии. Так, при мутации BRAF используют ингибиторы BRAF и MEK (дабрафениб, регорафениб). При отсутствии экспрессии SDH B возможно применение сунитиниба. Особенно чувствительны к сунитинибу ГИСО «дикого типа» у детей.

ВЫЯВЛЕНИЕ РАНЕЕ НЕ ОПИСАННОГО ПАТОГЕННОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО ВАРИАНТА В ГЕНЕ BRCA1 У ПАЦИЕНТОВ С BRCA-АССОЦИИРОВАННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ, ПРОЖИВАЮЩИХ В УДМУРТСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ

Четверикова Е.А.¹, Цаур Г.А.^{1,2}

¹ГАОУЗ СО «Областная детская клиническая больница», Екатеринбург

²ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет», Екатеринбург

Гены BRCA1 и BRCA2 кодируют два высокомолекулярных белка, которые участвуют в процессах восстановления ДНК и, таким образом, являются генами-супрессорами опухолей. Поиск мутаций, вызывающих функциональные нарушения в генах BRCA, является важной диагностической задачей, так как они могут быть маркерами повышенного риска раннего развития рака молочной железы, рака яичников и предстательной железы в любом возрасте.

Мы провели NGS тестирование 702 пациентов, используя таргетные панели, позволяющие выявлять генетические варианты во всех кодирующих последовательностях и сайтах сплайсинга в генах BRCA1 и BRCA2. Из 702 исследованных пациентов 424 из Свердловской области, 166 из Удмуртской республики, 51 из Курганской области, 34 из Пермского края, 21 из Челябинской области и 4 из других регионов.

У жителей Удмуртской республики с BRCA-ассоциированными новообразованиями выявлен ранее неописанный индел-вариант в гене BRCA2, который не встречается в российских и международных базах данных, описывающих генетические варианты в гене BRCA2. Вариант c.2520_2521delinsAT влечет изменение Met на Ile в 840-й позиции и образование стоп кодона в 11-м экзоне гена BRCA2, предположительно вызывая NMD. Данный вариант обнаружен у 4 жителей Удмуртской республики, не имеющих между собой генетического родства. Для исключения вероятности контаминации образцов использовался метод типирования аутосомных локусов BIDs.

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА И ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К ДЕЙСТВИЮ ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

Антонов В.А.¹, Кочкалда Ю.И.¹, Шаронов Д.С.¹, Зинченко О.В.¹, Пак В.А.¹, Уколов А.И.^{2,3}, Иваненко Г.А.¹

¹ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии» ФМБА России, Волгоград

²ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. акад. С.Н. Голикова» ФМБА России, Санкт-Петербург

³ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, пос. Кузьмоловский

Персонализированному подходу уделяется все большее внимание при исследовании полиморфизмов, влияющих на эффективность детоксикации ксенобиотиков. Однако до настоящего времени нет общепринятых генетических маркеров, используемых для определения индивидуальной чувствительности к действию химических агентов.

Цель работы заключалась в оценке допустимости использования полиморфных вариантов генов, рекомендованных для выявления предрасположенности к различным видам спорта, в целях определения генетической предрасположенности к развитию негативных последствий влияния химического фактора.

Методы. В исследовании приняли участие 22 спортсмена-легкоатлета и 22 человека, работающих на производстве в условиях воздействия различных химических агентов. Экстракцию и очистку ДНК проводили с помощью коммерческого набора LumiPure® UNI (ООО «Люмипроб РУС», Москва). Для проведения ПЦР использовали тест-систему «Спортивная генетика» (НПФ «Литех» Москва), позволяющую обнаружить полиморфизмы 16-ти генов (ACE, ACTN3, AMPD1, CNTF, IL15RA, LZMBTL4, PPARA, PPARGC1A, UCP2, PPARG2, MTHFR, VDR, HIF1A, ADRB2, NOS3). Наряду с генетическими маркерами проведен анализ комплекса 26 унифицированных биохимических показателей сыворотки крови. Для проведения статистической обработки полученных результатов использовали пакет прикладных программ «Microsoft Excel» и «STATISTICA 10» (StatSoft Inc., США).

Результаты. При генотипировании на основе кластерного анализа обследуемых спортсменов удалось разделить на 2 группы. Одну группу составляли спортсмены с высокой выносливостью. Другая группа, условно отнесенная к «спринтерам», разделена на кластерные группы с высокой предрасположенностью к скоростным нагрузкам, к скоростно-силовым видам спорта и имеющим высокий потенциал ко всем видам спорта. На основе биохимических маркеров ассоциации между наличием генов, отвечающих за быстроту, силу, выносливость, и биохимическими показателями крови выявить не удалось. Четкой корреляции изучаемых полиморфизмов с предрасположенностью к воздействию химического фактора не обнаружено.

Выводы. Набор биохимических и генетических маркеров для мониторинга состояния здоровья спортсмена должен быть индивидуальным. Для работников, связанных с химическим производством, набор биомаркеров также должен быть персонифицирован. Изученные полиморфизмы могут быть рекомендованы лишь в качестве дополнительных генетических критериев при оценке предрасположенности к действию химических агентов.

Источники финансирования: Федеральный бюджет.

АССОЦИАЦИЯ УРОВНЯ ЦИНКА С КОНЦЕНТРАЦИЕЙ ПРЯМОГО БИОМАРКЕРА-МЕТАБОЛИТА ЭТАНОЛА — ФОСФАТИДИЛЭТАНОЛА В КРОВИ КРЫС

Бадун Е.Г., Шуриберко А.В.

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

Введение. Злоупотребление алкоголем часто сопровождается дефицитом цинка, который может возникать вследствие ухудшения питания, сниженной абсорбции и повышенной экскреции, нарушения работы транспортеров (ZnTs, ZIPs). Использование фосфатидилэтанола в качестве прямого биомаркера-метаболита этанола позволит достоверно проследить связь между изменением концентрации цинка и количеством поступившего и метаболизированного этанола. Выявление взаимосвязи фосфатидилэтанола с уровнем цинка является ценным прогностическим маркером для оценки течения заболевания.

Цель работы: выявить взаимосвязь между концентрацией в крови прямого метаболита этанола — 16:0/18:1 фосфатидилэтанола и уровнем цинка в плазме крови крыс.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на крысах-самках линии Wistar с массой тела в начале эксперимента $182 \pm 1,94$ г, содержащихся в стандартных условиях вивария на стандартном рационе питания. Группа контроля, $n=10$ — интактные животные. Группа хронической алкогольной интоксикации (ХАИ), $n=10$ — животные получали в качестве единственного источника питья 20% водный раствор этанола на протяжении 28 нед эксперимента. Элементный анализ плазмы крови выполнен методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной (аргоновой) плазмой (NexION2000B, PerkinElmer, США). Концентрацию 16:0/18:1 фосфатидилэтанола определяли методом ВЭЖХ — tandemной масс-спектрометрией (Agilent 1260 Infinity II – Agilent 6420 LC/TQ, Agilent Technologies, США).

Результаты и обсуждение. ХАИ сопровождается снижением уровня цинка в плазме крови на 17,5% в сравнении с контрольной группой. Концентрация в крови группы ХАИ фосфатидилэтанола, являющегося прямым специ-

фичным биомаркером потребления этанола, составила $199,76$ нг/мл (Q1; Q3) — $161,27$; $258,0$ нг/мл. В крови контрольной группы данный показатель был неопределяемым (ниже $0,01$ нг/мл). Корреляционный анализ продемонстрировал отрицательную взаимосвязь фосфатидилэтанола с уровнем цинка в плазме крови ($r = -0,684$, $p < 0,05$) крыс. Таким образом, уровень потребления этанола ассоциируется со снижением уровня цинка в плазме крови крыс при ХАИ.

Заключение. Хроническая алкогольная интоксикация сопровождается дозозависимым накоплением фосфатидилэтанола в крови и снижением уровня цинка в плазме крови крыс, что подтверждается выявленной отрицательной корреляцией между уровнем цинка в плазме и фосфатидилэтанола в крови. Таким образом, уровень цинка в плазме может служить дополнительным маркером хронического воздействия этанола.

КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ СЛЮНЫ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Бельская Л.В.

ФГБОУ ВО «Омский государственный педагогический университет», Омск

Цель исследования — поиск метаболических особенностей рака молочной железы (РМЖ) в слюне.

Материалы и методы. В исследовании «случай-контроль» приняли участия 1438 человек (РМЖ, $n=543$; фиброаденомы (ФА), $n=597$; контроль, $n=298$). Во всех образцах слюны определяли 36 биохимических показателей, а также содержание аминокислот, цитокинов, онкомаркеров.

Результаты исследования. Биохимический состав слюны зависит от статуса менопаузы, а в случае сохранной менструальной функции — также от ИМТ (пороговое значение ИМТ=25). Выделен комплекс биохимических параметров, которые изменяются в слюне при РМЖ независимо от менопаузы и ИМТ (общий белок, мочеви́на, моче́вая кислота, NO, суммарное содержание α -аминокислот, ГГТ), а также специфические параметры, которые необходимо учитывать при анализе отдельных подгрупп (имидазольные соединения, ЛДГ, каталаза, α -амилаза и др.). Проведен комплексный анализ изменения биохимического состава слюны в зависимости от клинко-патологических и молекулярно-биологических характеристик РМЖ. Показано, что при РМЖ в слюне увеличивается содержание СРБ, EGFR2 и 8-OHdG, а также снижается содержание свободного эстрадиола, прогестерона и ферритина. При анализе онкомаркеров слюны при РМЖ (CA-125, MUC12 [CA 15-3], MUC20 [CA 27.29], MUC22 [MCA], PЭА, CA19-9 и Cyfra 21) установлено, что их проявление строго ассоциировано со статусом экспрессии HER2. Содержание ИНФ- α и ИНФ- γ в слюне зависит от статуса экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона, тогда как провоспалительные (ФНО- α , MCP-1, ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8 и ИЛ-18) и противовоспалительные (ИЛ-2, ИЛ-4 и ИЛ-10) цитокины слюны существенно меняются в зависимости от экспрессии HER2 и индекса пролиферативной активности РМЖ. Впервые

было показано изменение концентрации VEGF в слюне при разных молекулярно-биологических подтипах РМЖ в зависимости от стадии заболевания, дифференцировки, пролиферации и метастазирования в лимфатические узлы. Содержание свободных аминокислот в слюне при РМЖ растет, за исключением глутамина, саркозина и треонина. Повышение концентрации глутаминовой кислоты и понижение концентрации глутамина при раке груди наблюдается только по сравнению с контролем, тогда как увеличение содержания аспарагиновой кислоты и уменьшение содержания аспарагина наблюдается только по сравнению с ФА. Показано, что изменение аминокислотного профиля также зависит от молекулярно-биологических характеристик опухоли.

Заключение. Проведены комплексные исследования и систематизированы данные о метаболических особенностях РМЖ в слюне.

Источники финансирования. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда, проект 23-15-00188.

ГЛУТАТИОН-ЗАВИСИМЫЕ ФЕРМЕНТЫ КАК БИОМАРКЕРЫ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ОПУХОЛЕЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Гаврилук Л.А.¹, Ботнарюк Н.А.², Шевченко Н.В.³, Смирнова И.П.¹

¹ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва

²Институт онкологии Республики Молдова, Кишинев, Республика Молдова

³Государственный университет медицины и фармации им. Н. Тестемицану, Кишинев, Республика Молдова

Введение. Рак молочной железы (РМЖ) распространен во всех странах мира. В 2022 г. РМЖ был диагностирован у 2,3 млн женщин и вызвал 670 000 случаев смерти во всем мире (ВОЗ). Несмотря на достижения диагностики РМЖ, у 30% больных на ранней стадии наблюдается рецидив заболевания. У больных с опухолями молочной железы активируются процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и нарушается обмен веществ. Окислительный стресс приводит к нарушению баланса между образованием активных форм кислорода (АФК) и антиоксидантной защитой. Глутатион-зависимые ферменты отвечают за контроль внутриклеточного редокс-статуса посредством антиоксиданта (ARE), который обнаружен в промоторах многих генов, индуцируемых окислительным и химическим стрессом.

Цель. Провести сравнительное исследование активности глутатион-зависимых ферментов и GSH в сыворотке крови и слюне больных РМЖ и дисгормональной гиперплазией молочной железы (ДГМЖ).

Материал и методы. Перед лечением был установлен диагноз 87 пациентам (26–58 лет), контрольной группой были 30 здоровых женщин. Активность глутатионредуктазы (ГР), глутатионтрансферазы (ГТ), гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ) и содержание GSH определяли в сыворотке крови и слюне, используя СФ Diasys Diagnostics. Результаты обрабатывали статистическим методом Стьюдента.

Результаты. Удельная активность ГР и ГТ в сыворотке крови и слюне у больных РМЖ и ДГМЖ была выше, чем у здоровых лиц, а активность ферментов у больных ДГМЖ превышала активность у больных РМЖ. Удельная активность ГГТ в сыворотке крови и слюне была повышенной у больных РМЖ по

сравнению с больными ДГМЖ и здоровыми. Содержание GSH в сыворотке крови и слюне больных ДГМЖ было выше, чем у больных РМЖ и здоровых.

Заключение. Полученные результаты отражают взаимосвязь активности патологического процесса с дисбалансом антиоксидантной ферментативной системы глутатиона у больных РМЖ и ДГМЖ. Определение активности ГР, ГТ, ГГТ и содержания GSH в сыворотке крови и слюне (неинвазивный метод) может быть использовано для дифференциальной диагностики и мониторинга в процессе лечения как дополнительный биохимический тест.

Источники финансирования: Кафедра биохимии Государственного университета медицины и фармации им. Н. Тестемицану, Республика Молдовы.

МАЛЫЕ МОЛЕКУЛЫ: ОТ МЕЖМОЛЕКУЛЯРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ДО ЦИФРОВЫХ ДВОЙНИКОВ

Гильмиярова Ф.Н.¹, Колотьева Н.А.^{2,3}, Гусякова О.А.¹, Горбачева И.В.¹, Козлов А.В.¹

¹ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара

²ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва

³ФГБОУ ВО «Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана (национальный исследовательский университет)», Москва

Изучение роли малых молекул — переключателей обмена веществ — актуально как с позиции фундаментальной науки, так и с учетом подходов современной медицины. Они играют важную роль в регуляции экспрессии генов, передаче сигналов, активности ферментов, сборке белковых комплексов. Изучение малых молекул началось сравнительно недавно, но уже сейчас появляется все больше информации о том, как они взаимодействуют с макромолекулами, особенно с белками.

Серию работ по изучению свойств интермедиатов проводили в несколько этапов. С помощью компьютерного моделирования определяли возможный спектр биологической активности лактата, пирувата, оксалоацетата, малата программой PASS, потенциальные белки-партнеры — системой STITCH. Эксперименты по изучению взаимодействий белок-малая молекула проводили на оборудовании Monolith NT.115. Изменения конформационной структуры ЛДГ и ГФД под влиянием малых молекул исследовали на приборе Prometheus NT.48. Оценивали жизнеспособность дермальных фибробластов при культивировании с добавлением метаболитов и без добавления метаболитов. Статистическую обработку данных осуществляли в программе SPSS 12.0.

Было показано, что лактат и пируват обладают противовоспалительными свойствами, способностью влиять на клеточные процессы, ингибируют активность ряда ферментов. Был подтвержден факт взаимодействия между малыми молекулами и каталитическими белками, рассчитаны константы диссоциации. Показано влияние различных концентраций малых молекул на процесс формирования пространственной структуры ГФД и ЛДГ. Это подтверждается изменением глубины, формы пиков на кривой первой производной, что

свидетельствует о различном конформационном состоянии молекулы белка. Определено, что аберрантная структура каталитических белков может быть связана с изменением их функциональных характеристик: при физиологическом уровне интермедиатов наблюдается активация каталитической активности белков, при увеличении содержания лигандов происходит ингибирование их активности.

Выявлено влияние малых молекул на жизнеспособность культуры дермальных фибробластов: лактат снижает ее, малат и оксалоацетат увеличивают.

Таким образом, методами моделирования определен широкий структурно-функциональный потенциал малых молекул. Показано влияние лигандов на конформационную структуру, функциональную активность каталитических белков. Изменение жизнеспособности клеток под воздействием малых молекул указывает на возможность регулирования метаболизма, что открывает новые перспективы для диагностики и лечения.

НОВОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О РАСПРЕДЕЛЕНИИ КОНЦЕНТРАЦИИ ОНКОМАРКЕРОВ В СЛЮНЕ МЕЖДУ ГРУППАМИ HER(+) И HER(-) У БОЛЬНЫХ СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Дьяченко Е.И.^{1,2}, Пахалкова Е.В.², Бельская Л.В.¹

¹ФГБОУ ВО «Омский государственный педагогический университет», Омск

²БУЗОО «Городской Клинический Перинатальный Центр», Омск

Цель исследования — поиск клинически значимых онкомаркеров в слюне пациентов с раком молочной железы (РМЖ).

Материалы и методы. В исследовании «случай-контроль» приняли участия 166 человек (РМЖ, n=110; фиброаденомы, n=26; контроль, n=30). У всех пациентов определяли содержание в слюне онкомаркеров СА 15-3, М-20 (Муцин-20), М-22 (Муцин-22), СА-125, СА 19-9, РЭА и Cyfra 21 с использованием иммуноферментных тест-систем «ХЕМА».

Результаты исследования. Статистически значимые различия между больными РМЖ, фиброаденомой и здоровым контролем были обнаружены только по концентрации СА-125 (РМЖ: 351,0 [254,9; 448,7] Е/мл; ФА: 390,4 [223,5; 508,8] Е/мл; контроль: 234,5 [100,8; 308,0] Е/мл, $p < 0,0001$). В зависимости от стадии заболевания мы регистрировали рост концентрации Cyfra 21 на распространенных стадиях на +200,9% ($p=0,0472$) и сохранение высокого уровня СА-125 независимо от стадии РМЖ. Относительно уровня дифференцировки клеток и индекса пролиферативной активности Ki-67 различий в уровне онкомаркеров не выявлено. Показано, что наличие или отсутствие экспрессии рецептора прогестерона не влияет на концентрацию онкомаркеров, в то время как в группе с наличием экспрессии эстрогенового рецептора наблюдался рост концентрации Cyfra 21 на +51,6% по сравнению с группой, где отсутствовала экспрессия эстрогена ($p=0,0303$). Дополнительно был проведен анализ изменения концентрации онкомаркеров в слюне в зависимости от наличия экспрессии рецептора HER2. Установлено, что между HER2(+) и HER2(-) подгруппами была существенная разница в концентрации онкомаркеров. Так, в группе HER2(+) наблюдалось значительное понижение М-20 (-62,4%, $p=0,0005$), М-22 (-57,1%,

$p=0,0026$), СА-15-3 (-47,1%, $p=0,0327$), Cyfra 21 (-38,0%, $p=0,0382$) и повышение концентрации СА-125 (+27,8%, $p=0,0046$) по сравнению с группой HER2(-). При этом для HER2(+) с контрольной группой достоверны различия для М-20 ($p=0,0018$), М-22 ($p=0,0419$), СА-125 ($p=0,0001$), СА-19-9 ($p=0,0314$). В группе люминального А подтипа РМЖ показан достоверный рост концентрации Cyfra 21 (+245,9%, $p=0,0198$), СА-125 (+43,79; $p=0,0080$) и снижение СА-19-9 (-51,8%; $p=0,0324$) по сравнению с контрольной группой. Для люминального В HER2-отрицательного подтипа РМЖ показано достоверное повышение СА-125 (+24,0%, $p=0,0184$).

Заключение. Нами были получены совершенно новые данные о распределении концентрации онкомаркеров в зависимости от экспрессии рецептора HER2, что позволяет уточнить области применения онкомаркеров РМЖ.

Источники финансирования: исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда, проект 23-15-00188.

ОСОБЕННОСТИ ПРОТИВОКОРЕВОВОГО ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ С РАЗНЫМИ ГРУППАМИ КРОВИ ПО СИСТЕМЕ MNS

Игнатова Н.К., Федорова О.И., Семашкова Е.А., Власова Л.Д.

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара

Корь является давно известным высоко контагиозным вирусным инфекционным заболеванием, которое может привести к серьезным осложнениям. Для выявления поствакцинальных антител, а также лиц, восприимчивых к вирусу кори, проводится определение специфических антител класса IgG к вирусу кори. Вместе с тем, устойчивость ко многим заболеваниям инфекционной или неинфекционной природы связана с групповой принадлежностью крови. В литературе отсутствуют сведения о группоспецифических особенностях коревой инфекции, её взаимосвязи с группами крови по системе MNS.

Цель исследования — изучить уровень специфического противокоревого иммунитета у людей с различными группами крови по системе MNS.

Материал и методы. Исследование проводилось на базе кафедры фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. Нами было обследовано 897 практически здоровых людей (664 женщины и 233 мужчины от 18 до 75 лет, которым проводилось количественное определение IgG антител к вирусу кори в образцах сыворотки венозной крови методом иммуноферментного анализа с тест-системой «ВектоКорь-IgG» (ОАО «Вектор-Бест», Россия). Типирование по антигенам M, N системы MNS проведено с использованием наборов моноклональных реагентов «CLONIMED» анти-N, анти-M, предоставленными ООО «ГЕМОСТАНДАРТ», в прямой реакции гемагглютинации.

Результаты и обсуждение. Выполненный кластерный анализ позволил разделить всех обследованных на две однородные группы: в первый кластер вошли обследованные 18–41 лет (младшая возрастная группа), во второй — 42–75 лет (старшая возрастная группа). Анализ частоты фенотипов по системе MNS среди обследованных выявил одина-

ковую тенденцию в обеих возрастных группах: у лиц с наиболее часто встречающимся фенотипом MN отмечается более низкий уровень антител по сравнению с фенотипами MM и NN. Антигены M, N как компоненты гликофорина A способны взаимодействовать с бактериальными токсинами, адсорбировать продукты жизнедеятельности некоторых микроорганизмов. Результаты исследования выявили, что фенотипы MM, MN, NN у мужчин и женщин встречаются с разной частотой ($\chi^2=7,97$, $p=0,019$). Интересно, что аллель M преобладает у мужчин. При изучении корреляционных связей антигенов эритроцитарной системы MNS с уровнем антител к вирусу кори нами выявлены гендерные различия в частоте фенотипов MN.

ПОКАЗАТЕЛИ ОБМЕНА ЖЕЛЕЗА КАК МАРКЕРЫ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ПАЦИЕНТОВ С МУКОВИСЦИДОЗОМ

Козлов А.В., Гусякова О.А., Ерещенко А.А.

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара

На сегодняшний день муковисцидоз является самым частым генетическим заболеванием, передающимся по аутосомно-рецессивному типу наследования. В основе этиологии муковисцидоза лежит мутация гена Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator (CFTR), что приводит к нарушению синтеза и работы одноименного белка. Следствием этого становится изменение электролитного состава и дегидратации желез внешней секреции, в том числе выделяющих мокроту. В респираторном тракте возникает благоприятная среда для инфицирования бактериями и развития воспаления, что может привести к осложнениям и смерти пациента. Однако микробиологическое исследование не позволяет спрогнозировать осложнения и не всегда доступно для пациентов.

В исследовании проводился анализ мокроты и сыворотки крови от 88 пациентов с муковисцидозом. В качестве группы сравнения были обследованы пациенты с другими заболеваниями бронхолегочной системы: 19 пациентов с пневмонией, 15 пациентов с бронхитом. Биохимическое исследование мокроты и сыворотки крови с определением показателей обмена железа проводилось на автоматическом биохимическом анализаторе Cobas integra 400 plus (Roche, Германия).

По результатам исследования было выявлено, что в мокроте у пациентов с муковисцидозом содержание железа было значительно выше, чем у пациентов с другими нозологиями: уровень железа у пациентов с муковисцидозом по медиане составил 14,10 мкмоль/л, в то время как у пациентов с бронхитом 2,40 мкмоль/л, у пациентов с пневмонией 2,80 мкмоль/л ($p < 0,001$). Уровень ферритина у пациентов с муковисцидозом по медиане составил 1477,75 мкг/л, в то время как у пациентов с бронхитом 32,00 мкг/л, у пациентов с пневмонией 26,60 мкг/л ($p < 0,001$). Трансферрин в мокроте у обследуемых пациентов обнаружен не был.

При анализе результатов биохимического

исследования сыворотки крови также были выявлены статистически значимые отличия: уровень железа у пациентов с муковисцидозом по медиане составил 7,25 мкмоль/л, в то время как у пациентов с бронхитом 12,40 мкмоль/л, у пациентов с пневмонией 14,10 мкмоль/л ($p < 0,001$). Уровень ферритина у пациентов с муковисцидозом по медиане составил 41,65 мкг/л, в то время как у пациентов с бронхитом 116,90 мкг/л, у пациентов с пневмонией 121,00 мкг/л ($p < 0,001$). Количество трансферрина в крови у пациентов исследуемых групп статистически не отличалось.

Таким образом, показатели обмена железа в мокроте и сыворотке крови можно использовать в качестве дополнительных маркеров инфекционно-воспалительных осложнений у пациентов с муковисцидозом.

АДАПТАЦИОННЫЕ МЕХАНИЗМЫ БЕЛКОВО-АЗОТИСТОГО ОБМЕНА У ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ В УСЛОВИЯХ КАТАБОЛИЧЕСКОГО СТРЕССА

Кузнецова О.Ю., Горбачева И.В., Гильмиярова Ф.Н.

ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, Самара

В настоящее время при не снижающемся уровне белково-энергетической недостаточности (БЭН) у детей отмечается изменение структуры причин БЭН в сторону увеличения эндогенных факторов.

Цель настоящей работы заключалась в анализе показателей белково-азотистого обмена у детей первого года жизни с различными степенями тяжести БЭН.

У 30 здоровых детей и 82 детей с БЭН в возрасте от 2 до 12 мес было проведено определение биохимических показателей крови: общего белка, белковых фракций, гемоглобина, трансферрина, мочевины, креатинина, активности КФК, АЛАТ, АСАТ.

У 38 детей с БЭН в соответствии с МКБ-10 диагностирована I степень тяжести, у 30 — II степень и у 14 — III. Исследование проводилось на кафедре фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава РФ и отделения младшего возраста ГБ УЗ «Самарской Областной Клинической Больницы (СОКБ) им. В.Д. Середавина».

Выявлено, что по мере прогрессирования дефицита массы тела идет значительное увеличение уровня мочевины (при I степени БЭН +50%; II +58%; III +97%), креатинина (при I степени БЭН +155%; II +180%; III +150%), повышение активности АСАТ (при I степени БЭН +57%; II +31%; III +25%), КФК (при II +24%; III +27%). Это отражает метаболическую картину острого катаболического стресса. При этом уровни общего белка, альбумина, α_1 - и β -глобулинов, гемоглобина, трансферрина у детей с БЭН не отличаются от показателей группы сравнения независимо от величины дефицита массы тела. На этом фоне обращает внимание нарастание фракции α_2 -глобулинов у детей при III степени БЭН и особенно γ -глобулинов (при I степени БЭН +25%; II +77%; III +51%).

Данные изменения, по-видимому, можно расценить, как перераспределение общего фонда аминокислот, образующегося в результате протеолиза белков мышечной массы для синтеза специфических белков иммунной защиты. Это дает повышение устойчивости к инфекционным агентам в условиях острого катаболического стресса.

СПОСОБЫ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ КРУПНОГО ПЛОДА И ПЛОДА С ЗАДЕРЖКОЙ РАЗВИТИЯ У ЖЕНЩИН С ОЖИРЕНИЕМ В РАННЕМ СРОКЕ БЕРЕМЕННОСТИ

Макарова Е.Л.^{1,2}, Терехина Н.А.²

¹ГБУЗ ПК «Городская клиническая больница им. М.А. Тверье», Пермь

²ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А Вагнера» Минздрава России, Пермь

Целью исследования была разработка способов прогнозирования крупного плода и плода с задержкой развития у женщин с ожирением в раннем сроке беременности.

В исследовании принимали участие 85 беременных с ожирением в сроке гестации 6–9 недель, 34 беременных с нормальной массой тела. Среди женщин было 39 с андроидным типом ожирения (АТО), 46 женщин с гиноидным типом ожирения (ГТО). В сыворотке крови беременных определяли содержание лептина, растворимого рецептора лептина, общей меди, церулоплазмينا, вычисляли процентное содержание свободной меди и индекс свободного лептина (ИСЛ).

Содержание лептина в сыворотке крови беременных с нормальной массой тела оказалось в 4 раза ниже, чем у беременных с ожирением. При АТО содержание лептина в сыворотке крови было выше, чем при ГТО. Содержание лептиновых рецепторов в сыворотке крови беременных с ожирением находилось в обратной корреляции с содержанием лептина. При АТО у беременных показатель лептиновых рецепторов был самым низким. Макросомия развилась в 2 раза чаще у пациенток с ожирением, при АТО — в 2,7 раза чаще в сравнении с женщинами с нормальной массой тела.

При проведении анализа взаимосвязи изучаемых предикторов возникновения макросомии с использованием метода логистической регрессии выявлены следующие предикторы: индекс массы тела $>30 \text{ кг/м}^2$, андроидный тип ожирения, $\text{ИСЛ} > 500 \text{ ЕД}$. Разработан способ прогнозирования макросомии при ожирении у беременных путем расчета ИСЛ. При значении $\text{ИСЛ} > 500 \text{ ЕД}$ у беременных с АТО прогнозируется формирование макросомии (патент №2779994 от 30.06.2021г.).

Содержание меди в сыворотке крови бе-

ременных с ожирением оказалось выше, чем у беременных с нормальной массой тела. При содержании свободной меди $>25\%$ в 1,5 раза чаще формировалась хроническая плацентарная недостаточность и в 6,5 раз чаще — синдром задержки роста плода, чем у беременных с содержанием свободной меди $<25\%$. Разработан способ прогнозирования задержки развития плода в раннем сроке беременности (патент №2785904 от 26.09.2022г.). Определяемый в первом триместре беременности показатель свободной меди, равный или более 25%, служит предиктором формирования задержки роста плода у беременных с ожирением.

Источники финансирования: собственные средства.

НОВЫЙ СПОСОБ ОЦЕНКИ НАЧАЛЬНОЙ СКОРОСТИ РЕАКЦИИ ДЛЯ КОРРЕКТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТА

Малыгина Н.М.^{1,2}, Лянгузов А.Ю.², Петрова Т.А.², Иванов А.М.¹

¹ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России, Санкт-Петербург

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

Из теории ферментативной кинетики следует, что для корректного расчета активности фермента необходимо оценить начальную скорость реакции в максимально близкий к нулевому момент времени («нулевое» время). Однако на практике эта задача до сих пор не нашла адекватного решения.

Нами предложен новый алгоритм расчета начальных скоростей реакций при проведении прямых кинетических фотометрических измерений активностей ферментов.

В работе использовали коммерческие наборы реагентов (Spinreact, Испания) для определения активности амилазы по регистрации накопления продукта реакции и лактатдегидрогеназы по регистрации расхода субстрата. В отличие от исходных протоколов использования наборов, мы ежесекундно регистрировали поглощение инкубационной среды. Регистрацию начинали за 15–20 с до добавления образца фермента (запись базовой линии). Начальный участок собственно кинетической кривой в пределах 10–40 с аппроксимировали полиномом второй степени. Момент начала реакции устанавливали по пересечению аппроксимированной кривой с базовой линией. Скорость реакции определяется как первая производная аппроксимированной кривой по времени. Экстраполяция значения скорости на момент старта реакции представляет собой начальную скорость реакции в «нулевое» время. Для обработки экспериментальных данных нами разработан скрипт на открытом языке программирования R.

Расчеты показали, что средняя интервальная скорость реакции в пределах нескольких минут измерений, которую принято использовать в лабораторной практике, может отличаться от начальной скорости в «нулевое» время почти на порядок [1, 2].

Представленная новая стратегия расчета

начальной скорости ферментативной реакции является практически универсальной и пригодна для анализа кинетики разных ферментов при прямых измерениях их активности (например, кислой и щелочной фосфатаз, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, γ -глутамилтрансферазы и других диагностически значимых ферментов). Исключение составляют аналитические методы с использованием систем сопряженных ферментов, так как в этих случаях на кинетических кривых наблюдается длительная начальная лаг-фаза [3, 4].

Литература.

1. Malygina N.M., Petrova T.A., Lianguzov A.Yu., Ivanov A.M. Dokl. Biochem. Biophys., 2019, V. 488, P. 311–312.
2. Lianguzov A.Yu., Malygina N.M., Petrova T.A. Biophysics, 2023, V. 68, P. 924–928.
3. Cleland W.W. Anal. Biochem., 1979, V. 99, P. 142–145.
4. Lyangusov A.Yu., Petrova T.A., Stefanov V.E. Dokl. Biochem. Biophys., 2009, V. 424, P. 49–52.

Источники финансирования. Исследования выполнены с использованием оборудования и расходных материалов ресурсного центра Научного парка Санкт-Петербургского государственного университета «Обсерватория экологической безопасности».

ЭФФЕКТИВНОЕ ПОДАВЛЕНИЕ РОСТА ОПУХОЛЕЙ ПОД ДЕЙСТВИЕМ МИКРОРНК НАПРАВЛЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Зенкова М.А.

ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск

С расширением возможностей геномных и молекулярно-биологических методов исследования становится все более бесспорным признание коротких некодирующих РНК микроРНК (миРНК) — важнейшими элементами систем регуляции в клетке. Нарушение уровня и функциональной активности миРНК приводит к глобальной патологической перестройке обширных сетей молекулярных белковых взаимодействий, и как следствие, инициации и развитию многих заболеваний человека, в том числе онкологических. Перспективным подходом борьбы со злокачественными новообразованиями является разработка высоко селективных препаратов на основе синтетических олигонуклеотидов, обеспечивающих подавление функциональной активности гиперэкспрессированных опухоль-ассоциированных миРНК.

В настоящее время разработано несколько стратегий снижения уровней гиперэкспрессированных микроРНК под действием миРНК-направленных ингибиторов, среди которых наибольшую биологическую и терапевтическую активность продемонстрировали антисмысловые олигонуклеотиды и конъюгаты антисмысловых олигонуклеотидов с РНК-расщепляющими конструкциями — миРНКазы.

В докладе будет представлено детальное сравнение данных подходов к регуляции уровня и активности онкогенных миРНК, рассмотрены последствия применения миРНК-направленных препаратов как в опухолевых клетках, так и на опухолевых моделях *in vivo*, а также предложены пути дальнейшего развития данных стратегий миРНК-опосредованного подавления процессов канцерогенеза.

Литература

1. Miroshnichenko S.K., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2019, 116, 1229 – 1234. Doi:10.1073/pnas.1813376116.
2. Patutina O.A., et al., Frontiers in Pharmacology, 2019, 10, 1 - 13. Doi: 10.3389/fphar.2019.00879.

3. Patutina O.A., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2020, 117, 32370 – 32379. Doi:10.1073/pnas.2016158117.

4. Gaponova S., et al., Cancers, 2022, 14, Art. 4396, Doi: 10.3390/cancers14184396.

5. Chiglintseva D., et al., Biomaterials, 2024, 309, 122604. Doi:10.1016/j.biomaterials.2024.122604.

Источники финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ проект № 19-74-30011.

СИСТЕМНЫЙ АНАЛИЗ КРИСТАЛЛОСТАЗА БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ ПРИ АЛЬВЕОКОККОЗЕ

Мартусевич А.К.^{1,2,3}, Жданова О.Б.¹, Тужилкин А.Н.³

¹ФГБОУ ВО «Вятский государственный агротехнологический университет», Киров

²ФГБОУ ВО «Нижегородский государственный агротехнологический университет», Нижний Новгород

³ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород

Цель исследования — анализ динамики кристаллогенной активности биожидкостей пациентов с альвеококкозом.

Материалы и методы. Изучены образцы слюны и мочи 42 пациентов с альвеококкозом печени. Постановку диагноза верифицировали инструментальными (ультразвуковое исследование, компьютерная и/или магнитно-резонансная томография) и лабораторными (латекс-агглютинация, иммуноферментный анализ) тестами. Всем больным выполнены оперативные вмешательства: в 30 случаях — радикального, в остальных — паллиативного характера. Забор биожидкостей производили при поступлении в стационар и перед выпиской из него. Наблюдение за больными продолжали в течение года и более, причем в контрольные сроки (через 2 нед после операции, а также через 1 и 3 мес) выполняли повторный забор слюны и мочи. Все образцы биосубстратов исследовали согласно методике тезиокристаллоскопии.

Результаты. Установлено, что по параметрам, характеризующим сложность структуропостроения и плотность кристаллических элементов, уже через 2 нед после выписки регистрируются значения, минимально отличающиеся от физиологических ($p > 0,05$). Степень деструкции фации биосреды оставалась на достаточно высоком уровне при выписке из стационара. Она существенно снижается через 2 нед после операции), но статистически значимо превышает уровень показателя, установленный для здоровых людей ($p < 0,05$). Через 1 мес после выписки параметр уже не отличается от физиологических значений, а через 3 мес он продолжает снижаться, оставаясь при этом в диапазоне нормы. Аналогичная динамика выявлена и для выраженности краевой зоны образца,

однако значение параметра оставалось выше значений образцов слюны представителей группы сравнения и полученных значений через 1 мес после операции. Только через 3 мес после выписки больных в микропрепаратах слюны происходит нормализация данного показателя. При оценке динамики сдвигов кристаллогенных свойств мочи в отдаленном послеоперационном периоде обнаружено, что в кристаллограммах данной биожидкости выраженность изменений была более существенной, чем в слюне.

Заключение. Изучение параметров кристаллогенных и иницирующих свойств слюны и мочи показало, что в отдаленном послеоперационном периоде у пациентов, которым была проведена радикальная операция, наблюдается постепенная нормализация метаболизма, тогда как осуществление паллиативного вмешательства обеспечивает только временную частичную его оптимизацию, метаболический эффект которой практически нивелируется уже через 3 мес после выписки.

Источники финансирования. Исследование поддержано грантом РНФ № 24-26-00043.

ИССЛЕДОВАНИЕ СЫВОРОТОЧНЫХ УРОВНЕЙ МОЛЕКУЛ HIF-1 α И HIF-2 α У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19

Мельников Д.О., Райцев С.Н., Звягина В.И., Бельских Э.С., Марсянова Ю.А.

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Рязань

COVID-19 — инфекционное заболевание, вызываемое вирусом SARS-CoV-2. Инфекция сопровождается повреждением ткани лёгких, что ведёт к развитию системной гипоксии. Центральным звеном ответа клетки на снижение уровня внутриклеточного кислорода является фактор, индуцируемый гипоксией (HIF). Роль HIF-молекулы — адаптация к гипоксии путём регуляции генов-мишеней. Существует несколько HIF-молекул, основными из которых являются HIF-1 α и HIF-2 α . Известно, что в динамике гипоксического состояния влияние на клеточные процессы вначале определяются HIF-1 α , а затем HIF-2 α .

Целью нашего исследования стало исследование взаимосвязей между сывороточными уровнями HIF-1 α и HIF-2 α и клиническими показателями больных COVID-19.

В исследование было включено 100 пациентов (51 женщина и 49 мужчин), проходивших лечение в ковидном госпитале ГБУ РО «ГКБ-СМП» (г. Рязань) и получавших стандартную терапию. Средний возраст составил 65 лет. Исследование одобрено ЛЭК ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. Информацию о поле, возрасте, сопутствующих заболеваниях, степени тяжести заболевания собирали из историй болезни, количество HIF-2 α в плазме крови определяли с помощью наборов фирмы «Cloud-Clone Corp.». Статистическая обработка проводилась с помощью JASP Team (2024, Version 0.18.3 [Computer software]). Оценка параметров проводилась дважды: при поступлении и на 7-й день госпитализации.

Корреляционный анализ выявил статистически значимые взаимосвязи слабой силы между пробами HIF-2 α и количеством койко-дней, койко-дней ОРТ, показателями гемодинамики (ЧСС, среднее и диастолическое АД) и данными ОАК, такими как количество эозинофилов, концентрация гемоглобина и уровень гематокрита. Корреляционный

анализ, включающий пробы HIF-1 α , выявил принципиально отличную область корреляционных взаимосвязей слабой силы: с индексом ROX, сатурацией, ЧДД, FiO₂, потоком кислорода, а также отличных показателей ОАК в виде уровней моноцитов и нейтрофилов. Наблюдалась связь средней силы с уровнем лимфоцитов. Оба транскрипционных фактора проявили взаимосвязи с числом койко-дней.

Связь уровней HIF-1 α и HIF-2 α с числом койко-дней может указывать на потенциальную роль данных молекул в качестве прогностического маркера.

Источники финансирования. ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ЗВЕНЬЯХ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ АССОЦИИРОВАННОЙ С ОНКОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ АНЕМИИ

Миронова К.А.

БУ ВО ХМАО-Югры «Сургутский государственный университет», Сургут

Введение. Этиология рак-ассоциированной анемии (РАА) у онкобольных, установленной до начала лечения, мультифакторна. Неэффективность лечения связывают с провоспалительными цитокинами, которые также снижают способность костного мозга реагировать на эритропоэтин. Возникает потребность в поиске биохимических маркеров раннего развития РАА и коррекции метаболических сдвигов.

Цель. Сравнить ключевые показатели метаболизма в эритроцитах у пациентов с раком различной локализации с анемией и без нее. Предложить биохимический маркер повреждения эритроцитов у онкобольных с помощью метода Вальда.

Материал и методы. Исследовали эритроцитарную массу 100 пациентов зрелого и пожилого возраста с раком различной локализации Т3N0-хM0-у стадий. 1-я группа — пациенты с анемией легкой степени ($n=42$), 2-я — без анемии ($n=58$), группа контроля ($n=40$); все пациенты одной возрастной группы. Использовали спектрофотометрический, фотоэлектрокалориметрический, статистический методы, рН-метрию, данные гемманализатора. Применяли стандартные современные методики для определения активности ферментов [D-глюкозо-6-фосфат: НАДФ-оксидоредуктазы (Г6ФДГ) 1.1.1.49; L-лактат: НАД-оксидоредуктазы (ЛДГ) 1.1.1.27; аденозин гидролазы (АДА) К.Ф. 3.5.4.4] и регистрации концентрации метаболитов.

Результаты. Активность Г6ФДГ в 1-й группе снижалась в 0,6 раз ($p<0,05$), а во 2-й — повышалась в 2,7 раза ($p<0,001$) по сравнению с контролем. ЛДГ повышалась в обеих группах в 4 и 2 раза соответственно ($p<0,001$). Деаминаза сигнального аденозина достоверно снижала активность в 3,5 и 1,5 раза ($p<0,001$), а молярная концентрация аденозина возрастала в 2 и 1,2 раза ($p<0,001$). К (ВНИСММ)

в обеих группах повышался в 1,7 раз ($p<0,001$). Анализ ОРЭ показал, что в 1-й группе гемолиз повышен, а во 2-й, наоборот, клетки более резистентны. Эритроциты больных характеризуются повышением сорбционной способности (ССЭ) в 1-й группе в 2, а во 2-й — в 1,5 раза ($p<0,001$). Активность АДА эритроцитов обратно коррелировала с уровнем аденозина ($r=-0,504$, $p=0,02$) и ССЭ ($r=-0,522$, $p=0,03$); а Г6ФДГ — с ОРЭ ($r=-0,502$, $p=0,01$).

Выводы. Биохимическим маркером для прогноза раннего развития анемического синдрома у онкобольных можно считать параллельное снижение активности Г6ФДГ и АДА (более 3,5 раз). Ведущую роль в развитии повреждения эритроцитов имеет повышение порога концентрации аденозина, который связан с образованием 2,3-дифосфоглицерата гликолизом, пурин индуцированных пор в клетках и их повышенному гемолизу.

ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ МАРКЕРЫ COVID-19 В РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ

Назаркина И.А., Селезнева И.А., Балдина О.А., Кузнецова О.Ю.

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара

В основе патогенеза COVID-19 лежит цитокиновый шторм, сопровождающийся избыточной генерацией провоспалительных цитокинов. Следует отметить, что многие метаболические компоненты способны проникать в ротовую жидкость, благодаря чему можно судить о состоянии организма при исследовании данной биологической среды. Таким образом, представляет интерес поиск провоспалительных маркеров COVID-19 в ротовой жидкости.

Цель. Изучить содержание ИЛ-6, ИЛ-8 и С-реактивного белка (СРБ) в ротовой жидкости при COVID-19 относительно здоровых лиц.

Материалы и методы. Исследование проводилось на базе кафедр фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой и инфекционных болезней ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. В исследовании приняли участие 122 человека, из них в контрольной группе 67 человек — клинически здоровые лица и опытная группа 55 человек больных COVID-19. Материалом для исследования была ротовая жидкость, в которой определяли содержание ИЛ-6, ИЛ-8 и СРБ. Статистическую обработку данных проводили с помощью статистического пакета SPSS Statistics 21.

Результаты и обсуждение. В ходе исследования было установлено резкое увеличение содержания в ротовой жидкости больных COVID-19 относительно здоровых лиц ИЛ-6 и ИЛ-8: в несколько сотен раз для ИЛ-6 (+650%, $p < 0,0001$: $Me = 3,0780$ пг/мл и $Me = 0,4080$ пг/мл) и в несколько тысяч раз для ИЛ-8 (+26513%, $p < 0,0001$: $Me = 33950,56$ пг/мл и $Me = 127,57$ пг/мл). Обнаружено увеличение уровня СРБ в 2 раза (+115%, $p < 0,0001$: $Me = 0,515$ мг/л и $Me = 0,24$ мг/л).

Заключение: патобиохимические процессы при COVID-19 способствуют повышению проницаемости гематосаливарного барьера, что сопровождается увеличением содержания ИЛ-6, ИЛ-8 и СРБ в ротовой жидкости больных коронавирусной инфекцией. Преи-

муществом использования ротовой жидкости перед кровью является неинвазивность способа и возможность многократного применения данной биологической среды.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ВЫЯВЛЕНИЯ МУТАЦИИ FLT-ITD С ПОМОЩЬЮ ФРАГМЕНТНОГО АНАЛИЗА

Осипович М.А.^{1,2}, Финашутина Ю.П.², Жарова М.В.¹, Кесаева Л.А.², Слынько Е.Е.¹, Мисюрин А.В.^{2,3}

¹ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)», Москва

²ООО «ГеноТехнология», Москва

³ФГБУН «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова» РАН, Москва

Актуальность. Для пациентов, страдающих острым миелоидным лейкозом (ОМЛ), особенно важно выявление таких мутаций в гене FLT3, как внутренние дупликации в 14 и 15 экзонах (FLT-ITD) и мутация D835Y/V в 20 экзоне гена. Мутация FLT-ITD часто обнаруживается при первом рецидиве заболевания. Хотя эти мутации обычно можно обнаружить стандартными методами молекулярной диагностики, при низкой аллельной нагрузке существует риск ложноотрицательных результатов. Капиллярный электрофорез широко используется, как метод для выявления дупликаций.

Цель работы. Разработка быстрого и чувствительного метода детекции внутренних дупликаций гена FLT3 (FLT-ITD).

Материалы и методы. Для определения наличия мутаций в гене FLT3 была выделена ДНК из гранулоцитов периферической крови у 65 пациентов с предварительным диагнозом ОМЛ. Была проведена полимеразная цепная реакция (ПЦР) с последующей детекцией методом фрагментного анализа. Этот метод позволяет обнаруживать мутации в конкретных участках гена FLT3 путем амплификации ДНК-фрагментов и последующего анализа их размеров с использованием капиллярного электрофореза.

Результаты. С помощью ПЦР-теста, основанного на амплификации ДНК-фрагментов, мы можем определить наличие мутации FLT3-ITD в гене FLT3. В случае наличия мутации мы наблюдаем дополнительный ПЦР-продукт большего размера, помимо фрагмента, соответствующего аллелю дикого типа (329 п.н.). При использовании электрофореграммы для анализа полученных результатов мы детектируем два пика: один соответствует нормальному аллелю, а второй соответствует мутантному аллелю. Из 65 исследованных

образцов с помощью фрагментного анализа мы обнаружили мутацию у 30 пациентов, а у 35 пациентов мутация не была обнаружена. Используя классический электрофорез, мы обнаружили мутацию у 28 пациентов и не обнаружили у 37 пациентов. Таким образом, методом фрагментного анализа мы обнаружили больше пациентов с мутацией, чем методом классического полиакриламидного электрофореза.

Заключение. Разработанный высокочувствительный метод для обнаружения вставки в гене FLT3 (FLT3-ITD) может быть применен в молекулярной диагностике острого миелоидного лейкоза. Следовательно, мы можем определить наличие или отсутствие мутаций в гене FLT3 у каждого пациента с высокой точностью.

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМА rs75945125 С УРОВНЕМ БЕЛКА BDNF В СЫВОРОТКЕ КРОВИ В ДИНАМИКЕ СИНДРОМА ОТМЕНЫ АЛКОГОЛЯ И КЛИНИЧЕСКИМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ ЗАВИСИМОСТИ И АБСТИНЕНЦИИ

Перегуд Д.И., Корольков А.И., Баронец В.Ю., Козлов К.С., Лобачева А.С., Аркус М.Л., Павлова О.В., Павлов К.А., Теребилина Н.Н.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского» Минздрава России, Москва

Повышение периферического уровня нейротрофического фактора мозга (BDNF) в период абстиненции после отмены алкоголя может быть связано с клиническими проявлениями алкогольной зависимости, аффективными и когнитивными нарушениями, что позволяет использовать его в качестве биомаркера процесса выздоровления. Между тем генетические детерминанты циркулирующего BDNF в контексте отмены алкоголя и абстиненции изучены недостаточно.

Основной целью исследования была оценка взаимосвязи однонуклеотидного полиморфизма rs75945125, расположенного в межгенном пространстве рядом с геном *BDNF*, с изменениями уровня BDNF в сыворотке крови после отмены алкоголя.

Уровень BDNF в сыворотке крови оценивали на 2-й, 7-й и 21-й день после отмены алкоголя. Тяжесть синдрома отмены алкоголя, выраженность тяги, аффективные симптомы и когнитивные нарушения оценивали на 7-й и 21-й день. Полиморфизм rs75945125 был генотипирован с использованием ПЦР в реальном времени.

С увеличением длительности абстиненции отмечается значимое увеличение концентрации BDNF в сыворотке крови, что ассоциировано с редукцией симптоматики синдрома отмены и влечения к алкоголю, а также снижением уровня депрессивности и увеличением когнитивных способностей. Концентрация BDNF у носителей аллеля С полиморфизма rs75945125 на 21-й день была выше по сравнению с носителями генотипа ТТ. Носители аллеля С имели большую продолжительность проблемного употребления алкоголя, потребляли меньший объем алкоголя за последние 3 мес и имели меньшую выраженность абстинентного синдрома на 7-й день по сравнению с носителями генотипа ТТ.

Таким образом, полиморфизм rs75945125 ассоциирован с траекторией изменений BDNF в сыворотке крови при воздержании от алкоголя, а также с клиническими проявлениями алкогольной зависимости и абстиненции.

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского» Минздрава России, Москва (рег. № 122031000267-0).

СВЯЗЬ МЕЖДУ УРОВНЕМ УПОТРЕБЛЕНИЯ АЛКОГОЛЯ И КОНЦЕНТРАЦИЕЙ НЕКОТОРЫХ НЕЙРОПЕПТИДОВ И БЕЛКОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

Попов К.А., Быков И.М., Ермакова Г.А.

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

Разработка новых высокоинформативных подходов к оценке хронического употребления алкоголя остается актуальной проблемой, особенно на фоне выявленного в 2023 г. роста заболеваемости алкоголизмом впервые за последние два десятилетия. В качестве одного из лабораторных маркеров алкогольной зависимости рассматривается мозговой нейротрофический фактор (BDNF), периферическая концентрация которого снижается у больных, длительно злоупотребляющих спиртными напитками.

Целью настоящего исследования была оценка уровня BDNF, глиального нейротрофина (GDNF), нейропептида Y (NPY) и пептида, активирующего аденилатциклазу гипофиза (PACAP) в крови испытуемых лиц с разным уровнем употребления алкоголя.

Для этого были сформированы группы: здоровые испытуемые лица (1-я группа), лица с периодическим употреблением алкоголя (2-я группа), употреблением алкоголя с последствиями (3-я группа), с синдромом алкогольной зависимости в острой фазе (4-я группа) и на реабилитации (5-я группа). В результате проведенных исследований было установлено наличие зависимости от формы алкоголизма или уровня употребления этанола сывороточной концентрации BDNF, которая была снижена относительно контроля на 20% у больных 3-й группы, в 2,5 раза у больных 4-й группы и на 40% у больных 5-й группы. Концентрация NPY была увеличена в сыворотке крови больных 2-й группы в 2,3 раза, 3-й группы — в 4,3 раза. Содержание GDNF и PACAP в крови испытуемых лиц 2–5-й групп от контроля существенно не отличались. Изменения уровня BDNF, вероятно, ассоциированы с хроническим употреблением алкоголя, формированием новых нейроадаптаций и нарушений медиаторного обмена при синдроме зависимости. Изменения уровня NPY, который плотно распределен

в областях, связанных с психопатологией, и играет ключевую роль в регуляции эмоциональной реакции, скорее всего, реагируют на острый стресс, более характерный для испытуемых лиц с начальными формами развития алкогольной болезни.

Таким образом, мы считаем, что использование данных биомаркеров может объективизировать стратегию дифференциальной диагностики психических расстройств и расстройств поведения, связанных с употреблением алкоголя.

Источники финансирования. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-15-20010, <https://rscf.ru/project/24-15-20010/>.

РАСТВОРИМЫЕ ФОРМЫ ГАЛЕКТИНОВ 1, 3, 4, 7, 9 ПРИ ОПУХОЛЯХ КОСТЕЙ У ДЕТЕЙ

Прищеп П.Л., Ковалева О.В., Грачев А.Н., Алферов А.А., Кузьмин Ю.Б., Рогожин Д.В., Варфоломеева А.Р., Кушлинский Н.Е.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Галектины – растворимые белки, широко экспрессируются в различных типах клеток и могут участвовать в канцерогенезе на достаточно раннем этапе развития опухоли.

Цель. Сравнительный анализ содержания растворимых форм галектинов 1, 3, 4, 7, 9 у детей, больных злокачественными, доброкачественными, пограничными опухолями костей и здоровых доноров.

Материал и методы. Обследовали 95 детей, больных опухолями костей из них: злокачественными (66), доброкачественными (25), пограничными (4) новообразованиями (средний возраст 12,3 года). Группу контроля составляли 29 здоровых доноров (средний возраст 13,5 лет). У всех клинический диагноз новообразования кости подтвержден данными морфологического исследования опухоли согласно Международной гистологической классификации опухолей костей (ВОЗ, 2020). Концентрацию галектинов определяли в сыворотке крови до начала лечения наборами реактивов для прямого ИФА: Human Galectin-1, -3, -9 Quantikine ELISA (R&D Systems, США) и Galectin-4, -7 Quantikine ELISA (RayBiotech, США). Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе BEP 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия). Полученные данные обрабатывали с помощью программы GraphPad Prism 10.0. При сравнении показателей и анализе их взаимосвязей использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Различия и корреляции считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Выявлено, что медиана содержания галектина-3 в контрольной группе составила 6,69 нг/мл ($n=29$) и достоверно ниже, чем у больных саркомами костей 7,94 нг/мл ($n=66$; $p=0,044$). Медианы концен-

трации галектина-9 достоверно снижены у пациентов злокачественными (5,35 нг/мл; $n=43$) и доброкачественными опухолями (5,40 нг/мл; $n=14$) по сравнению с контролем (7,37 нг/мл; $n=19$; соответственно $p=0,0001$ и $p=0,003$). Для галектинов 1 и 7 не наблюдается изменения их уровней при развитии доброкачественных и злокачественных опухолей костей. Для галектина-3 показано значимое повышение содержания в случае развития сарком костей, в то время как для галектина-4 отмечено значимое повышение содержания белка при развитии доброкачественных новообразований костей. Уровни исследованных галектинов не связаны с гистологическим строением опухолей костей. Выявили, что в контроле содержание галектина-9 обратно коррелировало с уровнем галектинов 1 и 7 ($r=-0,533$; $p=0,019$ и $r=-0,473$; $p=0,041$ соответственно). В группе пациентов содержание галектина-1 прямо коррелировало с уровнем галектина-3 ($r=0,360$; $p=0,004$), а уровень галектина-7 с галектином-9 ($r=0,420$; $p=0,001$), что свидетельствует об изменении баланса содержания данных белков при развитии опухолевой патологии костей скелета. ROC-анализ показал, что определение сывороточных концентраций галектинов 3 и 9 не позволяет использовать полученные данные для диагностически опухолей костей.

Выводы. У детей, больных саркомами костей, отмечено достоверное повышение содержания галектина-3 и снижение галектина-9 в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой. Концентрации галектинов 1, 4, 7 не отличались между больными саркомами костей и контролем. Не обнаружили различий в уровнях сывороточных галектинов 1, 3, 4, 7, 9 между различными морфологическими типами сарком костей у детей.

ОЦЕНКА УРОВНЯ HIF-2A В ПЛАЗМЕ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19

Райцев С.Н.^{1,2}, Звягина В.И.¹, Марсянова Ю.А.^{1,2}, Бельских Э.С.¹, Мельников Д.О.¹

¹ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Рязань

²ГБУ Рязанской области «Областной клинический онкологический диспансер», Рязань

Вирус SARS-CoV-2 вызывает повреждение тканей лёгких, что приводит к системной гипоксии, характеризующейся угнетением функций многих тканей, гипознергетическим состоянием и повышенным риском развития окислительного стресса и апоптоза клеток. COVID-19 остаётся проблемой и требует решения вопросов оценки прогноза, состояния пациентов и характера течения заболевания. Одним из показателей активации механизмов адаптации к гипоксии является транскрипционный фактор, индуцируемый гипоксией (HIF), который в рамках нашей работы был исследован в роли маркера оценки тяжести течения этого заболевания.

В исследование было включено 25 пациентов (14 женщин и 11 мужчин), проходивших лечение в ковидном госпитале ГБУ РО «ГКБСМП» (г. Рязань) и получавших стандартную терапию. Средний возраст составил 64 года. Исследование одобрено ЛЭК ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. Информацию о поле, возрасте, сопутствующих заболеваниях, степени тяжести заболевания собирали из историй болезни, количество HIF-2a в плазме крови определяли с помощью наборов фирмы «Cloud-Clone Corp.». Статистическая обработка проводилась с помощью JASP Team (2024, Version 0.18.3 [Computer software]). В соответствии с временными методическими рекомендациями по профилактике, диагностике и лечению COVID-19 было выделено две группы пациентов: со средней и тяжёлой степенями тяжести. Оценка параметров проводилась дважды: при поступлении и на 7-й день госпитализации.

При поступлении группы были сопоставимы по показателю HIF2-a. На 7-й день госпитализации в группе средней тяжести по сравнению с группой с тяжёлым течением заболевания отмечался более высокий уровень SpO₂, ЧСС и более низкий балл по шкале NEWS2. В динамике наблюдения у обеих групп пациентов отмечалось повы-

шение индекса ROX и снижение числа баллов по шкале NEWS2, а также снижался уровень С-реактивного белка, что положительно характеризует отклик на лечение. Замечена тенденция более высокого уровня глюкозы в крови у пациентов с тяжёлым течением заболевания. Количество HIF-2a статистически значимо не менялось в группах на 7-й день по сравнению с 1-м днем.

Была зафиксирована отрицательная корреляционная связь средней силы с общим количеством койко-дней госпитализации, обнаруживаемая как при поступлении, так и через 7 дней, что позволяет предположить прогностический характер определения HIF-2a в крови у пациентов с COVID-19.

ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ НИКОТИНОВЫХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ, ДЛИННЫХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК И РИБОСОМАЛЬНЫХ ГЕНОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СТЕПЕНЯХ ДИСПЛАЗИИ ШЕЙКИ МАТКИ

Резекина А.И.¹, Петросян Э.Г.¹, Мазур Д.В.¹, Леваков С.А.², Антипова Н.В.¹

¹ФГБУН ГНЦ РФ «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

²ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

Рак шейки матки является восьмым наиболее часто диагностируемым злокачественным новообразованием и девятой наиболее частой причиной смерти от рака у женщин в 2022 г. Основной причиной его развития считается инфицирование вирусом папилломы человека, который может привести к развитию диспластических изменений эпителия шейки матки и, в последующем, к раку шейки матки. Методы стратегий скрининга, вакцинации, устранения факторов риска, а также ранняя диагностика с выявлением потенциальных маркеров аномалий эпителия и предраковых состояний наряду со своевременным лечением могли бы способствовать снижению распространенности данного заболевания. Целью исследования был поиск корреляции между стадиями развития диспластических изменений шейки матки и экспрессией генов на уровне мРНК (матричной РНК) никотиновых ацетилхолиновых рецепторов (nAChR) (субъединиц $\alpha 2$ -10, $\beta 1$ -4, γ , δ , ϵ), нескольких длинных некодирующих РНК (днРНК) (MALAT1, HOTAIR, CASC2 и linc-ROR) и рибосомальных белков RPL22 и RPL22L1.

Исследование проводилось на образцах ткани эпителия шейки матки, взятых у следующих групп пациентов: группа 1 с установленной лёгкой степенью дисплазии шейки матки, группа 2 с установленной первой степенью дисплазии, но проходившая лечение препаратом Цервикон-ДИМ, группа 3 с установленной умеренной степенью дисплазии и группа 4 с установленной тяжёлой степенью дисплазии. В работе для определения экспрессии генов были использованы следующие методы: ПЦР real-time, обратная транскрипция, а также ПЦР с дальнейшим электрофорезом.

При обработке данных ПЦР real-time было

обнаружено усиление экспрессии мРНК $\alpha 3$ и ϵ субъединиц nAChR с развитием дисплазии шейки матки. Применение препарата Цервикон-ДИМ способствовало заметному повышению экспрессии мРНК $\alpha 6$ и понижению b3. В то же время экспрессия днРНК MALAT1 была высокой только на начальной стадии заболевания. Также показано, что экспрессия RPL22 высока на начальных стадиях заболевания, а применение препарата Цервикон-ДИМ среди данной группы приводило к её снижению. Оцениваемая экспрессия на уровне мРНК прочих субъединиц nAChR, а также днРНК HOTAIR, CASC2 и linc-ROR была минимальной.

Полученные данные по экспрессии мРНК $\alpha 6$, $\alpha 3$, b3 и ϵ субъединиц nAChR и днРНК MALAT1 представляются релевантными для дальнейших изучений механизмов развития заболевания, а также их потенциального использования как маркеров. Экспрессия генов RPL22 и RPL22L1 на уровне мРНК также является интересным объектом для дальнейшего исследования.

КРИОКОНСЕРВАНТ ДЛЯ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ

Рыбчинская Э.Е., Сорокина У.Е.

ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский Федеральный университет», Ставрополь

Введение. Для сохранения живых систем в условиях низких температур применяют защитные вещества — криопротекторы. На сегодняшний день метод криоконсервации разных видов биоматериала весьма актуален. Длительное сохранение жизнеспособности образцов позволяет решать ряд проблем в различных областях биологии, медицины, трансплантологии и др.

Цель работы — оценка морфофункциональных особенностей цельной крови в комбинированном криоконсерванте с учетом воздействия субумеренно и умеренно низких температур.

Материалы и методы исследования. Материал исследования — венозная кровь, взятая в утренние часы из локтевой вены. Методы исследования — гематологический анализ, компьютерная цитоморфометрия клеток крови.

Результаты. В ходе экспериментальной работы был подобран оптимальный состав модельного криоконсерванта: глицерин — 25%, ДМСО — 10%, лактулоза — 2,5%, вода для инъекций 62,95%, соли хлорида натрия и натрия фосфата двузамещенного до 100%. В результате исследования лейкоцитарные, тромбоцитарные и эритроцитарные показатели ОАК и показатели цитофотометрии лейкоцитов, тромбоцитов и эритроцитов демонстрируют тенденцию к снижению по всем показателям, однако полученные значения укладываются в пределы допустимых изменений характеристик форменных элементов. Установлено, что показатели клеток крови человека, полученные в группе с применением криоконсервирующей добавки с лактулозой при воздействии отрицательных температур -20°C и -40°C , лежат в пределах допустимых значений и применимы для выполнения различных исследований в клинко-диагностических лабораториях.

Вывод. Впервые был применен дисахарид лактулоза в составе эффективного ком-

понента криоконсервирующей смеси для сохранения форменных элементов крови в условиях низких температур. Разработанный криоконсервант является нетоксичным, эффективным, доступным для широкого использования, что позволяет расширить спектр применяемых криоконсервантов в условиях чрезвычайных ситуаций, при ликвидации последствий аварий техногенного происхождения, террористических актов, вооруженных конфликтов, хранения биоматериала в длительных экспедициях.

Источники финансирования: средства, выделенные с гранта.

МЕТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ В CD4+ Т-КЛЕТКАХ ПАЦИЕНТОВ, ЗАРАЖЕННЫХ ВИЧ

Сайдакова Е.В.^{1,2}, Власова В.В.¹, Королевская Л.Б.¹

¹ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения РАН», «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения РАН», Пермь

²ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», Пермь

Патогенез ВИЧ-инфекции сопряжен со снижением числа CD4+ Т-лимфоцитов. Антиретровирусная терапия (АРТ), как правило, подавляет репликацию ВИЧ, способствуя регенерации пула CD4+ Т-клеток. Однако 30% пациентов с неопределяемой вирусной нагрузкой не демонстрируют увеличения числа CD4+ Т-лимфоцитов. Эти больные — «иммунологические неответчики» (ИН) — больше других зараженных ВИЧ лиц подвержены риску болезней и смерти. Причины нарушения восстановления числа CD4+ Т-клеток у ИН неизвестны. Так как регенерация иммунцитов обеспечивается уникальным метаболическим профилем делящихся клеток, можно предположить, что у ИН изменены показатели метаболизма CD4+ Т-лимфоцитов.

Целью работы было определить особенности обмена глюкозы в CD4+ Т-клетках пациентов, зараженных ВИЧ.

Обследовали 2 группы зараженных ВИЧ больных, приверженных АРТ (вирусная нагрузка <50 копий/мл): ИН — число CD4+ Т-клеток менее 350/мкл крови; «иммунологические ответчики» (ИО) — число CD4+ Т-клеток более 350/мкл крови. В контрольную группу (К) вошли относительно здоровые добровольцы без ВИЧ-инфекции. Все CD4+ Т-клетки и CD4+ Т-клетки памяти выделяли из цельной крови методом негативной магнитной сепарации. Потребление глюкозы CD4+ Т-клетками определяли по флуоресценции 2-NBDG методом проточной цитометрии. Показатели интенсивности гликолиза изучали, определяя скорость закисления среды (ECAR) методом фиксации внеклеточных потоков (Seahorse XF). Стимуляцию клеток производили в течение 40 мин добавлением фитогемагглютинаина (15 мкг/мл).

Установили, что CD4+ Т-лимфоциты и CD4+ Т-клетки памяти ИН потребляют больше глюкозы, чем аналогичные клетки ИО ($P < 0,05$) и К ($P < 0,01$). В соответствии с этим в пуле

CD4+ Т-лимфоцитов ИН по сравнению с ИО ($P < 0,001$) и К ($P < 0,001$) был увеличен показатель ECAR, отражающий скорость гликолиза. Напротив, в CD4+ Т-клетках памяти ИН ($P < 0,01$) и ИО ($P < 0,001$) скорость гликолиза была значительно ниже показателя группы К. Стимуляция CD4+ Т-клеток памяти увеличивала скорость гликолиза во всех исследованных группах ($P < 0,001$). Однако показатели ECAR в группах ИН ($P < 0,001$) и ИО ($P < 0,001$) остались ниже соответствующих значений в группе К. Недостаточное обеспечение активно делящихся в процессе регенерации CD4+ Т-клеток памяти метаболитами гликолиза может приводить к остановке клеточного цикла и даже гибели лимфоцитов.

В соответствии с результатами исследования можно предположить, что у ВИЧ-инфицированных больных нарушение регенерации иммунной системы при приеме АРТ связано с недостаточностью продуктов обмена глюкозы в CD4+ Т-клетках памяти.

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках государственного задания «Исследование функциональной активности лейкоцитов и клеток опухолевых линий в условиях хронических инфекций и под влиянием соединений химического и биологического происхождения», номер государственной регистрации темы: 124021900006-5.

СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ CD4+ Т-ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ РАССЕЯННОМ СКЛЕРОЗЕ

Тухватуллин А.В., Кузьмина У.Ш., Вахитова Ю.В.

ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр РАН, Институт биохимии и генетики, Уфа

В центральной нервной системе (ЦНС) обнаруживаются скопления иммунных клеток, проникших через гематоэнцефалический барьер. Среди различных субпопуляций CD4+ Т-лимфоцитов ведущую роль в патогенезе заболевания отводят Th1, Th17, и Th17.1 клеткам, рассматриваемых в качестве одних из самых перспективных мишеней для терапии РС.

В рамках исследования было проведено иммунофенотипирование периферических CD4+ Т-хелперов здоровых доноров и больных РС с использованием моноклональных антител к CD маркерам и хемокиновым рецепторам методом непрямого иммунофлуоресцентного окрашивания.

Обнаружено повышение общего пула CD4+ Т-лимфоцитов в группе больных РС по сравнению со здоровыми донорами. Анализ отдельных субпопуляций Т-хелперов не выявил различий в относительном содержании Th1 и Th2 лимфоцитов между исследуемыми группами. Обнаружено достоверное снижение доли Th17 и Th17.1 клеток в группе больных РС по сравнению со здоровыми донорами ($p < 0,05$). Известно, что субпопуляции Th17 и 17.1 считаются критическими регуляторами активности РС. Они обладают повышенной адгезионной активностью за счет высокой экспрессии молекул адгезии. Их снижение в периферической крови, вероятно, связано с массивной инфильтрацией в ЦНС. Доля Th17 клеток увеличивалась при обострении заболевания ($p = 0,03$), что указывает на их повышенную дифференцировку на периферии, которая еще больше усугубляет нейровоспаление. Корреляционный анализ относительного содержания отдельных субпопуляций CD4+ Т-лимфоцитов выявил достоверную сильную положительную зависимость доли Th17 клеток от тяжести РС по шкале EDSS и от скорости прогрессирования заболевания.

Полученные результаты предполагают, что субпопуляция Т-хелперов 17 типа может слу-

жить предиктором тяжести и прогрессирования РС. Таким образом, анализ субпопуляционного состава CD4+ Т-лимфоцитов больных РС предоставил возможность с новых позиций подойти к объяснению патогенеза заболевания, и в перспективе позволит обнаружить новые клеточные маркеры оценки течения заболевания.

Источники финансирования. Работа выполнена в соответствии с планом госзадания ИБГ УФИЦ РАН № 122041400169-2. Исследования проводились с использованием оборудования ЦКП «Агидель» УФИЦ РАН.

ОСОБЕННОСТИ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИМФОЦИТОВ У ПОЖИЛЫХ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМ ПИЕЛОНЕФРИТОМ

Федорова О.И., Игнатова Н.К., Воробьева А.В., Ягодкина К.А.

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара

В современном обществе наблюдается рост средней продолжительности жизни и постарение населения. Хронический пиелонефрит — распространенное заболевание, особенно в популяции пожилых.

Целью исследования было изучение особенностей морфометрических параметров лимфоцитов периферической крови при хроническом пиелонефрите у больных пожилого возраста в сравнении с пациентами молодого и среднего возраста.

Материалы и методы. Исследование проводилось на базе кафедры фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. Обследован 81 больной хроническим пиелонефритом в фазе обострения. Все больные были разделены на три возрастные группы, согласно рекомендациям ВОЗ: 1-я группа — больные молодого возраста (18–44 года) — 13 мужчин, 29 женщин; 2-я — больные среднего возраста (45–59 лет) — 6 мужчин, 11 женщин; 3-я — больные пожилого возраста (60–74 года) — 6 мужчин, 16 женщин. С помощью системы анализа изображения, состоящей из микроскопа проходящего света «AxioStar+» фирмы «Carl Zeiss» (Германия) с использованием 100-кратного увеличения, видеокамеры «JVC 1/2» (Япония), персонального компьютера и программы анализа изображений «Image Tool» всем обследованным была проведена компьютерная морфометрия лимфоцитов периферической крови.

Результаты и обсуждение. При анализе морфометрических показателей лимфоцитов оказалось, что в группах больных молодого и среднего возраста у мужчин размеры клеток увеличиваются, а у женщин — уменьшаются. Цитоплазменно-ядерное отношение увеличивается в группах мужчин 1-й и 2-й возрастной групп, у женщин — не меняется или уменьшается. Это свидетельствует о разной реакции на воспаление у мужчин и женщин в возрасте 18–59 лет.

Таким образом, получены косвенные указания на снижение иммунитета у женщин в молодом и среднем возрасте при развитии хронического воспаления в почках. У пожилых больных хроническим пиелонефритом размеры и цитоплазменно-ядерное отношение лимфоцитов увеличиваются. Это указывает сохранность защитных реакций лимфоцитов в этом возрасте. У больных хроническим пиелонефритом пожилого возраста гендерных различий нет. Полученные данные могут помочь врачу выбрать терапевтические стратегии, соответствующие возрасту.

МАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ РАКЕ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Черногубова Е.А., Машкарин А.Н.

ФГБУН «Федеральный исследовательский центр Южный научный центр» РАН, Ростов-на-Дону

Воспаление — важный патогенетический фактор, способствующий пролиферации клеток с развитием как доброкачественных, так и злокачественных заболеваний. В поисках причин непрерывно возрастающей частоты выявления рака предстательной железы (РПЖ) отмечают взаимосвязь этой онкоурологической патологии с предшествующим воспалением простаты.

В связи с этим перспективным представляется анализ роли воспаления в онкогенной трансформации предстательной железы.

В исследование включено 38 пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы (ДГПЖ), 22 — с простатической интраэпителиальной неоплазией (ПИН-3) и 48 — с РПЖ. Контрольную группу составили 24 практически здоровых мужчины. Для оценки уровня воспаления в секрете простаты проведен анализ ингибиторной активности белков острой фазы воспаления — α_2 -макроглобулина (α_2 -МГ) и α_1 -протеиназного ингибитора (α_1 -ПИ).

Показано, что ингибиторная активность α_1 -ПИ в секрете простаты при доброкачественных и злокачественных процессах в предстательной железе превышает таковую в контрольной группе. Ингибиторная активность α_1 -ПИ при ДГПЖ не отличается от таковой при ПИН-3. При этом ДГПЖ представляет собой доброкачественный пролиферативный процесс, в то время как ПИН-3 является морфологическим предшественником РПЖ с высокой вероятностью злокачественной трансформации. Ингибиторная активность α_1 -ПИ при РПЖ выше, чем при ДГПЖ и при ПИН-3. Ингибиторная активность α_2 -МГ в секрете предстательной железы при ДГПЖ и при ПИН-3 не отличается от таковой в контрольной группе, в то время как при РПЖ — значительно возрастает. Таким образом, высокая ингибиторная активность α_2 -МГ в простате играет, по-видимому, важную роль в регуляции злокачественного роста. Сбалансированность антипротеолитической защиты в секрете предстательной железы оценивали

по соотношению ингибиторной активности α_1 -ПИ и α_2 -МГ. При ДГПЖ α_1 -ПИ/ α_2 -МГ не отличается от такового в контрольной группе. Максимально дисбаланс антипротеолитической защиты выражен при ПИН-3. При РПЖ α_1 -ПИ/ α_2 -МГ ниже, чем при ПИН-3, однако отмечена самая высокая ингибиторная активность и α_1 -ПИ и α_2 -МГ.

Таким образом, полученные данные подтверждают концепцию о роли воспаления в онкогенной трансформации предстательной железы. Ингибиторная активность α_1 -ПИ в секрете предстательной железы является перспективным маркером инициации и развития рака предстательной железы.

Источники финансирования. Публикация подготовлена в рамках реализации ГЗ ЮНЦ РАН, № гр. проекта 122020100304-5.

АДАПТАЦИЯ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА ДЛЯ ОЦЕНКИ АМИНОКИСЛОТНОГО ПРОФИЛЯ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Шатрова Ю.М., Винель П.К.

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск

Результаты нецелевых метаболомных исследований позволяют рассматривать пул свободных аминокислот крови в качестве перспективных групп биомаркеров при развитии широкого спектра патологических состояний. Однако клинко-диагностический анализ аминокислот осложняется многообразием применяемых технологий, методологических подходов на преаналитическом/аналитическом этапах и интерферирующими факторами самой матрицы, все это приводит к значительной вариативности конечных результатов. Основные технологии анализа аминокислот — ионообменная жидкостная хроматография (ИОЖ) и масс-спектрометрия, требуют подготовки высококвалифицированных кадров и являются дорогостоящими в обслуживании оборудования, что ограничивает доступность целевой метаболомики в широкой клинической практике. Капиллярный электрофорез сопоставим с ИОЖ по эффективности разделения аминокислот, но отличается экспрессностью, экономичным расходом реагентов, биологического материала, простотой эксплуатации и экологичностью.

В виду технологической и экономической доступности систем капиллярного электрофореза, в частности отечественного производства, целесообразно изучить возможности адаптации электрофоретического метода разделения ФТК-производных аминокислот согласно М 04-38-2009 «Корма, комбикорма и сырье для их производства. методика измерений массовой доли аминокислот методом капиллярного электрофореза с использованием системы капиллярного электрофореза "Капель", издание 2014 года» в фосфатном буфере (рН=7,8) с β-циклодекстрином для клинических целей, изучить аналитические характеристики метода и аспекты стандартизации методологии при работе с разными видами биологического материала. Работа в этом направлении в последние годы

привлекает интерес отечественных исследователей. Наша исследовательская работа проводилась с использованием системы капиллярного электрофореза «Капель 105М» (ООО «Люмэкс», Россия) с программным обеспечением «Эльфран». Метод позволил разделить 20 протеиногенных аминокислот, а также орнитин, цитруллин и таурин. На основе литературных данных и собственного опыта разработан внутрилабораторный протокол анализа гепаринизированной плазмы крови, исследованы основные характеристики метода (селективность, LOD, LOQ, рабочий диапазон, аналитическая чувствительность, прецизионность, устойчивость).

Полученные результаты позволяют оптимистично расценивать возможности применения исследуемой технологии разделения аминокислот для клинических целей.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГАЛЕКТИНОВ 1, 7, 9 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ И ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ

Якунина Е.Ю.¹, Кузьмин Ю.Б.², Алферов А.А.², Ковалева О.В.², Кочкина С.О.², Зыбина Н.Н.³, Мамедли З.З.², Зуков Р.А.¹, Кушлинский Н.Е.²

¹КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского», Красноярск

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

³ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург

Введение. Функциональная роль галектинов при онкологических заболеваниях достаточно противоречива, однако для некоторых типов новообразований эти маркеры играют роль промотора опухолевого роста.

Цель. Сравнительный анализ содержания растворимых форм галектинов 1, 7, 9 у больных колоректальным раком (КРР) и их связь с основными клинико-морфологическими характеристиками заболевания и прогнозом.

Материал и методы. Обследовали 140 больных КРР (средний возраст 60,7 лет) и 20 здоровых доноров группы контроля (средний возраст 54,7 года). Клинический диагноз у пациентов подтвержден данными морфологического исследования опухоли согласно Международной гистологической классификации опухолей пищеварительной системы [ВОЗ, 2019], у всех выявлена аденокарцинома. Концентрацию галектинов определяли в сыворотке крови до лечения наборами реактивов для прямого ИФА: Human Galectin-1, 7, 9 Quantikine ELISA (R&D Systems, США). Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе BEP 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия), данные обрабатывали с помощью программы GraphPad Prism 9.0. Для оценки потенциального влияния различных факторов риска на выживаемость выполняли многофакторный анализ с использованием непараметрической модели пропорциональных рисков Кокса. Различия и корреляции считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Медиана концентрации галектина-9 в контроле составила 9,61 нг/мл и была достоверно выше, чем в общей группе

больных КРР (11,05 нг/мл; $p < 0,05$). Медиана содержания галектина-1 в контроле не отличалась от группы больных КРР (24,83 и 27,82 нг/мл соответственно), что отмечено и для галектина-7 (24,69 и 26,36 пг/мл соответственно). Провели анализ диагностической информативности исследованных галектинов сыворотки крови с учетом чувствительности и специфичности каждого маркера с помощью построения ROC-кривых и вычисления площади под ними (AUC), который показал, что в настоящее время галектины 1, 7, 9 не могут быть использованы в диагностике КРР. Не выявили ассоциаций галектинов с клинико-морфологическими характеристиками КРР, однако отметили тенденцию к повышению содержания галектина-9 в крови пациентов с отдаленными метастазами и при прорастании опухоли всех слоев стенки кишки. Регрессионный анализ уровней исследованных галектинов методом Кокса показал отсутствие прогностической значимости уровней галектинов 1, 7, 9 у больных КРР. Однако при высоких уровнях галектина 7 наблюдали тенденцию, а для галектина-9 статистически значимо благоприятный прогноз у больных КРР.

Заключение. Необходимо продолжить исследование клинической значимости белков семейства галектинов у больных КРР в сочетании с другими биохимическими маркерами для разработки комплексных диагностических панелей в клинической онкологической практике.

РАЗРАБОТКА СЕЛЕКТИВНОГО ИНГИБИТОРА ЦИКЛИН-ЗАВИСИМОЙ КИНАЗЫ 2 ДЛЯ ТЕРАПИИ НЕЙРОБЛАСТОМЫ ВЫСОКОГО РИСКА

Абдюшева Я.Р., Новиков Ф.Н.

ФГБУН «Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского» РАН, Москва

Актуальность. Нейробластома высокого риска (HR-NB) является одним из наиболее тяжелых детских онкологических заболеваний с 5-летней выживаемостью 20%. Отсутствие ответа на терапию коррелирует с уровнем амплификации гена MYCN, который обнаруживается у большинства пациентов с HR-NB. Установлено, что инактивация циклин-зависимой киназы 2 (CDK2) синтетически летальна для клеток нейробластомы с амплификацией MYCN. Однако все клинические ингибиторы CDK2 обладают низкой селективностью относительно близкородственных киназ, в частности, CDK1 и CDK9, что приводит к развитию токсичности в ходе терапии. Таким образом, существуют потребность в создании высокоселективного ингибитора CDK2 для терапии HR-NB.

Цель. Разработка селективного ингибитора циклин-зависимой киназы 2 для терапии нейробластомы высокого риска.

Методы. Вычислительный протокол на основе методов неравновесной термодинамики (NEQ) для прогнозирования относительной свободной энергии связывания ($\Delta\Delta G$) и селективности новых ингибиторов CDK2 по отношению к CDK1, CDK9 и CDK5.

Результаты. На основе гепатотоксичного пан-CDK ингибитора РНА-793887 нам удалось разработать селективные ингибиторы CDK2. Разработанный вычислительный протокол позволил эффективно прогнозировать $\Delta\Delta G$ и изменение селективности в ряду гомологичных мишеней. Метод показал сопоставимую точность оценки $\Delta\Delta G$, со средней ошибкой 0,83 ккал/моль; работа заняла на ~40% меньше времени, чем расчеты FEP. Результаты позволили выделить соединение, обладающее низкой наномолярной активностью относительно целевого фермента ($IC_{50}=0,16 \mu M$). Кроме того, данный ингибитор обладал 6-кратной селективностью к CDK2 по сравнению с другими CDK. Анализ жизнеспособности клеточных линий

нейробластомы и здоровых клеток показал, что соединение цитотоксично при низких микромолярных концентрациях в линии клеток нейробластомы и не проявляет цитотоксичности в отношении здоровых клеток.

Выводы. Разработан наномолярный ингибитор CDK2, обладающий селективностью к близкородственным киназам и проявляющий цитотоксичность относительно клеточных линий нейробластомы. В настоящий момент соединение находится на этапе доклинических исследований безопасности.

Источники финансирования. Фонд поддержки молодых ученых имени Геннадия Комиссарова.

ТРАНСМЕМБРАННЫЕ ДОМЕНЫ БЕЛКОВ КАК ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ МИШЕНИ: ВЗГЛЯД *IN SILICO*

Ефремов Р.Г.

ФГБУН ГНЦ «Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

Понимание на молекулярном уровне структуры, динамики и механизмов функционирования мембранных белков (МБ) важно как с фундаментальной, так и с прикладной точек зрения — для разработки новых лекарственных препаратов и методов лечения ряда социально значимых заболеваний. Традиционно особый интерес в последние годы вызывает изучение трансмембранных доменов (ТМД) рецепторов и ионных каналов. В настоящей работе мы сосредоточимся на представителях двух классов МБ — рецепторных тирозинкиназах (РТК) и ионных каналах семейства TRP. Это связано с наличием определенных в экспериментах моделей пространственной структуры таких МБ в различных функциональных состояниях. Компьютерное моделирование предоставляет важную информацию об особенностях МБ, позволяя на основе экспериментально полученных моделей оценить тонкие детали их конформационной динамики, проанализировать эволюцию их физико-химических свойств, оценить интегральные мембранные эффекты и роль отдельных связанных липидов и т.д. Результаты расчетов способствуют выявлению на атомарном уровне взаимосвязи этих характеристик МБ разных типов с параметрами их действия в клетке.

Представлены результаты моделирования *in silico* ряда белков из семейства РТК и TRP, находящихся в нескольких функциональных состояниях и встроенных в гидратированные липидные бислои, имитирующие клеточную мембрану. В качестве основных методов вычислительного эксперимента использованы расчеты молекулярной динамики в полномом представлении, а также оригинальные компьютерные технологии картирования и визуализации физико-химических свойств белок-мембранных систем (с акцентом на их ТМД).

Полученные результаты существенно дополняют информацию, полученную на основе

структурных моделей, расшифрованных с использованием экспериментальных подходов.

Источники финансирования: работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 23-14-00313.

РАЗРАБОТКА ПЕПТИДНОГО БЛОКАТОРА КАЛИЕВОГО КАНАЛА EAG КАК ПРОТОТИПА НОВОГО ПРОТИВОРАКОВОГО ЛЕКАРСТВА

Заварзина Я.И.¹, Василевский А.А.^{1,2}, Чугунов А.О.^{1,2}

¹ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)», Долгопрудный

²ФГБУН ГНЦ РФ «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

Калиевый канал EAG (Kv10.1), гиперэкспрессированный в клетках различных видов рака, является гомологом калиевого канала сердца hERG (Kv11.1). Блокирование ионных токов через EAG могло бы стать базой в разработке противоопухолевых препаратов, однако природных веществ с такой активностью не найдено. Между тем, ионный ток через канал hERG можно заблокировать пептидным нейротоксином BeKm-1 из яда пестрого скорпиона *Mesobuthus eupeus*.

В силу гомологии каналов hERG и EAG, мы предлагаем компьютерный редизайн токсина BeKm-1 — такой, что тот приобретет высокую аффинность связывания с EAG и станет прототипом противоракового препарата. В данном исследовании мы использовали молекулярную динамику (МД) и ансамблевый докинг, направляемые результатами двойного мутагенеза [1], чтобы предсказать структуру комплекса hERG–BeKm-1. Наша модель выявляет ключевую роль остатка токсина Arg20, который формирует три одновременных взаимодействия (солевой мост и водородные связи) с вестибюлем канала. Мы валидировали модель комплекса путем *in silico* мутации Arg20 на Lys: анализ траекторий МД показал, что даже такая «несущественная» замена заметно нарушает взаимодействие пептида с каналом. Это наблюдение было подтверждено и *in vitro* в электрофизиологическом эксперименте с рекомбинантными каналом и мутантным токсином [2].

На базе модели hERG–BeKm-1 мы построили «виртуальный» комплекс EAG–BeKm-1 и рассчитали траектории МД, чтобы детально проанализировать межмолекулярные контакты блокатора с каналами и выявить факторы, препятствующие взаимодействию BeKm-1 с EAG. В результате мы предложили точечные мутации токсина BeKm-1, которые

должны обеспечивать сродство к каналу EAG. В настоящее время проводится экспериментальная проверка этих предсказаний с последующей разработкой прототипа противоопухолевого препарата.

Литература

1. Tseng G-N, Sonawane KD, Korolkova YV et al. Probing the outer mouth structure of the HERG channel with peptide toxin footprinting and molecular modeling. *Biophys J*. 2007;92:3524–3540.
2. Zavarzina II, Kuzmenkov AI, Dobrokhotov NA et al. The scorpion toxin BeKm-1 blocks hERG cardiac potassium channels using an indispensable arginine residue. *FEBS Lett*. 2024;598:889–901.

Источники финансирования. Исследование поддержано грантом РФФ № 22-74-10028.

РЕПОЗИЦИОНИРОВАНИЕ ЛЕКАРСТВ ДЛЯ ТЕРАПИИ БОЛЬШОГО ДЕПРЕССИВНОГО РАССТРОЙСТВА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ СЕТЕВОЙ ФАРМАКОЛОГИИ

Иванов С.М.^{1,2}, Сухачёв В.С.¹, Поройков В.В.¹

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича», Москва

²ФГАОУ ВО «Российский Национальный Исследовательский Медицинский Университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Большое депрессивное расстройство (БДР) является причиной снижения качества жизни миллионов людей во всем мире. Применение существующих лекарственных препаратов во многих случаях не позволяет достичь устойчивой ремиссии, вероятно, из-за недостаточного понимания причин заболевания. Таким образом, анализ молекулярных механизмов и поиск новых лекарств для лечения БДР, в том числе за счет репозиционирования существующих, является актуальной задачей. Нами был разработан *in silico* подход, основанный на комплексном анализе данных о генетических полиморфизмах, ассоциированных с БДР, с использованием методов сетевой фармакологии.

Подход включает следующие этапы: (1) оценка однонуклеотидных полиморфизмов, связанных с повышенным риском развития БДР, с использованием доступных данных по полногеномным ассоциативным исследованиям; (2) применение методов полнотранскриптомного поиска ассоциаций, включая S-PrediXcan, для оценки направления изменения транскрипции генов в различных отделах мозга под влиянием найденных полиморфизмов. На данном этапе были предсказаны ассоциации между увеличением риска развития БДР, гиперэкспрессией 187 генов и гипоекспрессией 207 генов в коре полушарий и подкорковых структурах мозга; (3) анализ обогащения путей KEGG и процессов Gene Ontology к выявленным генам позволил идентифицировать, что генетический риск развития БДР ассоциирован с нарушением метаболизма аминокислот, жирных кислот, гликозилирования белков, реакций клеточного стресса и регуляции апоптоза, синтеза и транспорта нейромедиаторов; (4) оценка мастер-регуляторов, представляющих собой белки в сигнальной сети, регули-

рующие транскрипцию выявленных генов, и являющиеся наиболее перспективными мишенями для терапии БДР. Анализ включал в себя поиск соответствующих транскрипционных факторов (ТФ) при помощи анализа обогащения с последующим поиском белков (мастер-регуляторов) в сигнальной сети, в свою очередь регулирующих активность ТФ. В результате была получена регуляторная сеть, содержащая белки, ключевые для развития БДР; (5) на последнем этапе были идентифицированы фармакологические вещества, находящиеся на разных стадиях разработки, которые, согласно известным данным об их белках-мишенях и результатам анализа «структура-активность», воздействуют на идентифицированные мастер-регуляторы и могут рассматриваться в качестве кандидатов для лечения БДР.

Источники финансирования. Исследование поддержано грантом РНФ № 24-25-00453.

СТРУКТУРНЫЕ И ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МНОЖЕСТВЕННОГО СВЯЗЫВАНИЯ АСПИРИНА С СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ ЧЕЛОВЕКА

Лужков В.Б.

ФГБУН Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии
РАН, Черноголовка

Важной чертой действия лекарственных соединений (ЛС) является возможность связывания нескольких молекул с биологической мишенью. Этот эффект необходимо учитывать при анализе механизмов действия лекарств и при прогнозировании их распределения внутри организма.

В настоящей работе проведено молекулярное моделирование термодинамических характеристик связывания двух молекул аспирина (Ас) с сывороточным альбумином (СА), ключевым белком-переносчиком эндогенных соединений и лекарств в организме человека. Аспирин выбран как прототипический малый анионный лиганд, способный подобно жирным кислотам образовывать полилигандные комплексы с СА. Для нахождения центров посадки Ас были проведены расчеты строения комплексов «белок-лиганд» методом докинга и определены свободные энергии и энтропии связывания из молекулярной динамики (МД) комплексов в воде.

Докинг Ас предсказал возможность посадки по трем известным центрам связывания ЛС в порядке их стабильности $1 > 3 > 2$. Расчеты МД показали, что комплексы СА-Ас по сайту 3 не стабильны, а комплексы в сайтах 1 и 2 стабильны, но меняют свою структуру по сравнению с полученной из докинга. Комплекс СА с 2 молекулами Ас также стабилен. Таким образом, стехиометрия комплексов СА-Ас из расчетов равна 2. Полученные из МД константы равновесия для детальной схемы последовательно-параллельных шагов посадки молекул Ас в два неэквивалентных центра СА хорошо согласуются с экспериментальными значениями эффективных констант связывания. Показано существование отрицательного кооперативного эффекта связывания лигандов.

Источники финансирования: гос. тема
124020500019-2.

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДОСТУПНЫХ В СЕТИ ИНТЕРНЕТ РЕСУРСОВ О БИОЛОГИЧЕСКИХ АКТИВНОСТЯХ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В КОМПЬЮТЕРНОМ КОНСТРУИРОВАНИИ ЛЕКАРСТВ НА ПРИМЕРЕ ChEMBL

Погодин П.В.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва

В настоящее время компьютерное конструирование является важным подходом к проблеме поиска и разработки лекарств. Вычисления позволяют снижать временные и финансовые затраты, а также принимать в рассмотрение такое количество потенциальных лекарств, биологических мишеней и взаимодействий между ними, которое не поддается оценке иными способами. Таким образом достигаются изменения на качественном уровне. Применение вычислительных методов требует наличия разнородных данных: структур химических соединений и их биологических мишеней; измерений, характеризующих их взаимодействие *in vivo* и *in vitro*; установленных взаимосвязей с патологическими процессами в организме. Такого рода данные могут быть получены из литературных источников и специализированных ресурсов в сети Интернет, одним из которых является база данных ChEMBL (<https://www.ebi.ac.uk/chembl/>) Европейского института биоинформатики.

В докладе будут рассмотрены основные способы доступа к базе данных ChEMBL и особенности работы с представленными в ней данными, а также возможные пути использования ресурса в компьютерном конструировании лекарств.

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021–2030 годы) (№ 122030100170-5).

ПРОГНОЗ СПЕКТРА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ С УЧЕТОМ ИХ МЕТАБОЛИЗМА

Рудик А.В.¹, Дмитриев А.В.¹, Лагунин А.А.^{1,2}, Филимонов Д.А.¹, Поройков В.В.¹

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Большинство лекарственноподобных соединений могут взаимодействовать с несколькими фармакологическими мишенями и проявлять сложные спектры биологической активности. Анализ этих спектров помогает создавать и оптимизировать новые фармацевтические препараты. В организме человека фармакологические вещества подвергаются биотрансформации, поэтому при разработке и исследовании лекарств необходимо учитывать спектры биологической активности их метаболитов.

На данный момент единственными ресурсами, позволяющими анализировать возможный спектр биологической активности с учетом метаболизма соединений, являются разработанные нами веб-приложения MetaPASS (<https://www.way2drug.com/metapass/>) и MetaTox (<https://www.way2drug.com/metatox/>). В MetaPASS содержатся известные схемы метаболизма, а в MetaTox пользователь может сгенерировать потенциальные метаболиты. Для построения возможного метаболического дерева в MetaTox применяются как правила SMIRKS, так и собственные алгоритмы модификации структур на основе прогноза сайтов метаболизма. Используя алгоритм программы PASS модели оценки вероятности образования метаболитов позволяют с точностью более 0,85 оценить принадлежность сгенерированного продукта к истинным метаболитам.

Для решения задачи прогноза спектра биологической активности с учетом метаболизма в MetaTox и MetaPASS была использована программа PASS Refined 2022, которая включает в себя оценку 1957 наиболее важных для медицинских химиков, фармакологов и врачей видов биологической активности, прогнозируемых со средней инвариантной точностью (IAP), рассчитанной при скользя-

щем контроле с исключением по одному (LOO CV), превышающей 0,97.

Источники финансирования. Исследование поддержано грантом РФФИ № 19-15-00396.

ОЦЕНКА МЕХАНИЗМОВ ВОЗНИКНОВЕНИЯ БОЛЬШОГО ДЕПРЕССИВНОГО РАССТРОЙСТВА ПРИ ПОМОЩИ АНАЛИЗА ГЕНОМНЫХ ДАННЫХ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ СЕТЕЙ

Сухачёв В.С.¹, Иванов С.М.^{1,2}

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова», Москва

Большое депрессивное расстройство (БДР) — заболевание, которое снижает качество жизни многих людей. Активное изучение разнообразных аспектов БДР началось только 20 лет назад: начиная с 2004 г. было опубликовано практически 90% всех работ, проведенных за все время исследований. Выявление причин БДР, как правило, заключается в статистической оценке различий разнообразных факторов (пол, место жительства, вредные привычки и другие) среди населения. Однако молекулярные основы патогенеза данного заболевания освещены в меньшей степени. В пользу значительного участия сигнальных путей в развитии БДР свидетельствуют и механизмы действия основных лекарственных препаратов, применяемых в терапии: они направлены на регуляцию обмена нейромедиаторов; однако существует такое понятие, как «резистентность БДР», при котором медикаментозные способы лечения не оказывают желаемого эффекта. По этим причинам оценка механизмов возникновения БДР важна как с точки зрения прогнозирования рисков развития заболевания, так и для целей выявления новых перспективных мишеней лекарственных препаратов и оптимизации медикаментозного компонента терапии.

Целью данной работы является применение методов биоинформатики для обработки общедоступных результатов полногеномного поиска ассоциаций (GWAS) для БДР и анализ возможных механизмов, лежащих в основе развития заболевания.

С использованием программы MAGMA было идентифицировано 843 гена на основе данных по однонуклеотидным полиморфизмам, ассоциированным с БДР [1]. С применением пакета clusterProfiler для R мы провели анализ перепредставленности (ORA) [2], который позволил выявить молекулярные пути, статисти-

чески значимо пересекающиеся с имеющимся набором генов, ассоциированных с БДР [2]. Оценка наиболее значимых для развития БДР генов была выполнена с использованием метода Diamond (A DIseAse MOdule Detection (DIAMOnD) algorithm), в основе которого лежит применение гипергеометрического теста к количествам ребер между вершинами в сети белок-белковых взаимодействий [3]. Полученные результаты могут расширить представления о молекулярных основах патогенеза большого депрессивного расстройства.

Литература

1. Howard DM, Adams MJ, Clarke TK et al. Genome-wide meta-analysis of depression identifies 102 independent variants and highlights the importance of the prefrontal brain regions. // Nat Neurosci. 2019;22(3):343–352.
2. Huang DW, Sherman BT, Lempicki RA. Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists. // Nucleic Acids Research. 2009;37(1):1–132009.
3. Ghiassian SD, Menche J, Barabási A-L. A DIseAse MOdule Detection (DIAMOnD) Algorithm Derived from a Systematic Analysis of Connectivity Patterns of Disease Proteins in the Human Interactome. // PLoS Comput Biol. 2015;11(4):e1004120.

Источники финансирования. Исследование поддержано грантом РФФ № 24-25-00453.

МЕХАНИЗМЫ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ С АТОМАРНЫМ РАЗРЕШЕНИЕМ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ МНОГОУРОВНЕВОГО МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

Хренова М.Г.^{1,2}, Кривицкая А.В.^{2,3}, Поляков И.В.^{1,2}

¹ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», Москва

² ФГБУН «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля» РАН, Москва

³ ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва

Среди механизмов антибиотикорезистентности выделяются те, что связаны с взаимодействием бактериальных ферментов с бета-лактамными антибиотиками, поскольку именно эта группа соединений занимает приблизительно две трети рынка антибактериальных терапевтических средств. К этим белкам относятся мишени антибиотиков — пенициллин-связывающие белки, а также бета-лактамазы, возникшие эволюционно для инактивации антибиотиков. С точки зрения энзимологии все эти ферменты относятся к классу гидролаз. Поэтому для комплексного изучения механизмов реакций, включая их сопоставление и поиск путей контроля ферментативной активности, требуется разработка общих подходов. В литературе накоплен большой экспериментальный материал по субстратной специфичности протеаз различного типа, включая сериновые и цинк-зависимые, к которым относятся рассматриваемые бактериальные ферменты. В докладе будут представлены результаты молекулярного моделирования, включающего в себя расчёты молекулярно-динамических траекторий с классическими и комбинированными КМ/ММ потенциалами, анализ геометрических параметров и характеристик электронной плотности, а также обработку данных методами искусственного интеллекта для определения различий в стационарных каталитических параметрах, наблюдаемых в эксперименте. В качестве примеров будут представлены механизмы взаимодействия металло-бета-лактамаз L1 и NDM-1 с цефалоспоридами, карбапенемами и ингибиторами — органическими борными кислотами и унитиолом, а также будет представлена интерпретация влияния аминокислотных замен в пенициллин-связывающем белке PBP-2 на взаимодействие с цефтриаксоном.

Источники финансирования. Исследование поддержано грантом РФФИ № 19-73-20032.

НЕПРЯМОЕ СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕТОДОВ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ СИСТЕМНЫХ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Васькейкина М.Ю.¹, Угольников Я.А.^{1,2,3}, Песков К.В.^{2,3}, Волкова А.А.³

¹ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Москва

²ФГОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

³ФГБУН «Институт вычислительной математики им. Г.И. Марчука» РАН, Москва

Миозит и системная склеродермия — аутоиммунные заболевания, характеризующиеся воспалением тканей, фиброзом и последующим повреждением органов. Оба состояния имеют ограниченные терапевтические возможности, что подчеркивает острую необходимость разработки таргетной терапии. Такие методы лечения включают моноклональные антитела и низкомолекулярные ингибиторы, которые могут стать многообещающей альтернативой традиционным иммуносупрессивным методам лечения. На данный момент для лечения склеродермы одобрены три таргетных препарата: тоцилизумаб и нинтеданиб в США и ритуксимаб в Японии. При миозите единственным одобренным биологическим препаратом является внутривенный иммуноглобулин для индикации дерматомиозита. Помимо этого, еще ряд новых методов лечения находятся в разработке на разных стадиях клинических испытаний.

Чтобы оценить эффективность этих таргетных методов, используются различные тесты, оценки и клинические шкалы для мониторинга прогрессирования заболевания, например: модифицированная шкала Роднана для оценки фиброза кожи, форсированная жизненная емкость легких, дистанция ходьбы за 6 минут. Однако разнообразие этих инструментов оценки и вариабельность их результатов в разных клинических исследованиях усложняют прямое сравнение эффективности методов лечения.

Для решения этой проблемы был проведен мета-анализ, чтобы сравнить влияния различных таргетных препаратов на клинические показатели у пациентов с миозитом и системной склеродермией. Систематический поиск клинических испытаний был

проведен в базах данных ClinicalTrials.gov и PubMed в соответствии с международными рекомендациями PRISMA. В анализ включались испытания, в которых оценивалась эффективность таргетной терапии для миозита или системной склеродермии в сравнении с плацебо или стандартом лечения. В результате мета-анализ включал 51 исследование для 27 таргетных терапий. Для найденных клинических испытаний были оцифрованы данные о клинических показателях, которые используют для оценки эффективности терапий, а также характеристики исследуемой популяции пациентов. Для оцифровки графических данных использовалась программа WebPlotDigitizer. Статистический анализ и мета-анализ проводились в R statistics.

В ходе работы была составлена база данных клинических испытаний таргетных методов терапии для изучаемых аутоиммунных заболеваний. Также проведено не прямое сравнение эффективности методов лечения склеродермы и миозита на основе значений клинических показателей пациентов.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 23-71-10051.

РАЗРАБОТКА МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ИММУННЫХ ПРОЦЕССОВ В ИДИОПАТИЧЕСКИХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ МИОПАТИЯХ ДЛЯ ПОИСКА НОВЫХ МИШЕНЕЙ И РАЗРАБОТКИ ПРЕПАРАТОВ

Киреев Б.В.^{1,2}, Никитич А.А.^{1,3}, Соколов В.В.³, Песков К.В.^{1,3}, Волкова А.А.³

¹ФГОАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

²Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Сочи

³ФГБУН «Институт вычислительной математики им. Г.И. Марчука» РАН, Москва

Дерматомиозит — системное аутоиммунное заболевание, которое относится к группе воспалительных миопатий и характеризуется поражением кожи и скелетной мышечной ткани [1]. Стандартным методом терапии служит прием кортикостероидов в высоких дозах и иммуносупрессивных препаратов. Такое лечение не всегда демонстрирует высокую эффективность.

Несмотря на продолжительное изучение аутоиммунных миопатий, их точный патогенез остается недостаточно изученным. Это затрудняет разработку таргетных методов лечения, направленных на предотвращение прогрессирования заболевания, а не на устранение его симптомов. В этой связи, установление количественных взаимосвязей между ключевыми звеньями патологического процесса имеет большое значение для выбора максимально эффективной терапии [2].

Таким образом, целью данной работы было создание системно-фармакологической модели дерматомиозита с последующим применением для оценки перспективности потенциальных мишеней и их возможных комбинаций.

Первым этапом разработки математической модели было построение биологической схемы патогенеза дерматомиозита. Для этого был проведен систематический поиск литературных данных и анализ взаимодействий между компонентами патогенеза на качественном уровне. На основе составленной схемы заболевания была построена математическая модель, представляющая собой систему обыкновенных дифференциальных уравнений.

На втором этапе был проведен поиск количественных данных по стационарным уровням иммунных клеток и цитокинов, вовлеченных

в патогенез, с последующим мета-анализом. По результатам мета-анализа можно заключить, что концентрации следующих популяций лимфоцитов снижены в плазме крови больных по сравнению со здоровым контролем: наивных CD19+ В-клеток [162 [41, 284]клеток/мкл и 207[72, 341]клеток/мкл соответственно, $p\text{-value} < 0,01$), CD4+ [431[259, 604] клеток/мкл и 885[693, 1077] клеток/мкл соответственно, $p\text{-value} < 0,01$) и CD8+ [223[99, 347] клеток/мкл и 498[348, 648] клеток/мкл соответственно, $p\text{-value} < 0,01$) Т-лимфоцитов. Математическая модель описывает стационарные уровни иммунных клеток и цитокинов для больных дерматомиозитом и учитывает основные взаимосвязи патогенетических процессов. В дальнейшем математическая модель будет использована для тестирования гипотетических и существующих иммунотерапий при дерматомиозите.

Литература

1. Lily Kao, Lorinda Chung, David F. Fiorentino Pathogenesis of dermatomyositis: role of cytokines and interferon // Curr Rheumatol Rep 2011 June; 13(3):225–32.
2. Anant Patil et al. Adult and Juvenile Dermatomyositis Treatment // September 2022, 22(8).

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 23-71-10051.

ВИРТУАЛЬНАЯ КЛЕТКА

Колпаков Ф.А.

Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Сочи

В данном проекте предлагается новый подход, который можно представить в виде пирамиды (по убыванию объема данных): 1) исходные омиксные данные; 2) их анализ и интеграция данных; 3) мета-анализ; 4) математическая модель (виртуальная клетка). В идеале, построенная модель виртуальной клетки должна с достаточной точностью воспроизводить полученные экспериментальные омиксные данные для заданного типа клетки (клеточной линии) человека: — уровень экспрессии генов (транскриптомика) — количество белков (протеомика) — количество метаболитов (метаболомика). Разработанная модель виртуальной клетки, верифицированная на таком разнообразии омиксных данных, послужит основой для проведения экспериментов *in silico*, направленных на создание современной рациональной стратегии по фундаментальному пониманию и улучшению целевых свойств исследуемых культур клеток и даже целых организмов.

Создаваемая компьютерная модель — виртуальная клетка — разрабатывается с использованием следующих подходов, реализованных в платформе BioUML.

1) Модульный подход — подсистемы описываются отдельными подмоделями (блоками). Взаимодействие блоков моделируется связями между переменными модулей, которые указывают на пути передачи сигналов между ними. Модули представляют собой математические модели различных подсистем, также они могут содержать целые модульные модели, составляя иерархическую структуру. Данный подход позволяет сочетать в одной модели несколько уровней описания биологических систем и исследовать взаимодействие как различных подсистем, так и уровней организации системы, модели которых могут быть разработаны отдельно различ-

ными группами исследователей.

2) Визуальное моделирование — математическая модель создается и редактируется как графическая диаграмма. Такой подход облегчает создание и работу с моделями для биологов и медиков, не имеющих навыков программирования.

Разрабатываемая модель включает в себя следующие основные модули: модуль транскрипции; модуль трансляции; модуль деградации белков; модуль метаболизма (представлен в виде потоковых моделей) + модули гликолиза, цикла Кребса, глюконеогенеза (в виде систем обыкновенных дифференциальных уравнений); отдельные сигнальные пути.

Источники финансирования. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-14-20031, <https://rscf.ru/project/24-14-20031/>.

ПРИМЕНЕНИЕ ВОРОНКООБРАЗНОЙ МЕТАДИНАМИКИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СВЯЗЫВАНИЯ МАЛЫХ МОЛЕКУЛ С РЕЦЕПТОРОМ ГПП-1

Кривошеев А.С.¹, Головин А.В.^{1,2}

¹Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Научный центр генетики и наук о жизни, Сочи

²ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Факультет биологии и биоинформатики, Москва

Актуальность и цель. Глюкагоноподобный пептид-1 (ГПП-1) является гормоном, выделяющимся после приёма пищи, и играет ключевую роль в регулировании уровня глюкозы в организме. Активация рецептора ГПП-1 (ГПП-1Р) с помощью ГПП-1 приводит к различным физиологическим реакциям, включая задержку опорожнения желудка, повышение чувства сытости, снижение приёма пищи и, как следствие, уменьшение массы тела. По этой причине воздействие на ГПП-1Р стало многообещающей терапевтической стратегией для лечения таких заболеваний как сахарный диабет 2-го типа (СД2) и ожирение. Одобрённые для лечения СД2 лекарства, в частности семаглутид и лираглутид, вводятся с помощью подкожных инъекций, доставляя пациентам неудобства, что подчеркивает необходимость поиска лекарственных молекул с более простым методом доставки — приёмом внутрь. Однако изучение взаимодействий лиганд-рецептор для отбора наиболее перспективных кандидатов для дальнейших исследований с помощью компьютерного моделирования требует больших ресурсов и времени.

Мы предлагаем использовать уже хорошо зарекомендовавшую себя воронкообразную метадинамику — вычислительный метод, который повышает эффективность моделирования за счёт использования ограничивающего потенциала в форме воронки. В результате, в частности, удаётся предотвратить исследование нерелевантных областей. Таким образом, в рамках работы мы хотим исследовать связывание малых молекул с ГПП-1Р, используя воронкообразную метадинамику, чтобы показать точность этого метода.

Методы. Частичные заряды атомов были рассчитаны с помощью PsiRESP, который использует квантово-химический движок

Psi4. Молекулярные топологии были сгенерированы с использованием ACPYPE, включающего заряды, полученные с помощью PsiRESP и силового поля GAFF2. В рамках молекулярной динамики использовалась воронкообразная метадинамика для ограничения доступного пространства во время моделирования с расстоянием вдоль оси конуса от его начала и расстоянием от оси конуса в качестве коллективных переменных.

Результаты: в ходе исследования были получены результаты, демонстрирующие точность метода воронкообразной метадинамики. Удалось показать хорошее соответствие расположений сайтов связывания, определённых в ходе моделирования, сайтам связывания, определённым экспериментально. Также были определены значения свободной энергии связывания комплексов лиганд-рецептор.

Полученные результаты могут быть использованы при разработке препаратов для приёма внутрь, активирующих ГПП-1Р.

МЕТА-АНАЛИЗ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ДИНАМИКИ Т-ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

Кулеш В.С.^{1,2}, Песков К.В.^{1,2,3}, Бочаров Г.А.^{1,2}

¹ФГОАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

²ФГБУН «Институт вычислительной математики им. Г.И. Марчука» РАН, Москва

³Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Сочи

Важнейшей частью иммунной системы человека является клеточно-опосредованный иммунитет, включающий в себя работу различных популяций антиген-специфичных CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов, направленную как на непосредственное удаление патогена, так и на опосредованную помощь другим иммунным клеткам. Развитие Т-клеток после созревания в тимусе представляет собой последовательную дифференцировку из наивных, ранее не взаимодействовавших с антигеном, клеток в клетки памяти и эффекторных клетки, способные к быстрой реализации иммунного ответа, что обеспечивает функционирование системы иммунитета на протяжении всей жизни человека. Уменьшение количества и изменение функциональных способностей Т-клеток в разных органах является важным показателем иммунного старения и, как следствие, снижения способности организма противостоять инфекциям. Данная работа посвящена количественной оценке возрастного гомеостаза широкого спектра популяций Т-лимфоцитов в норме. С целью сбора актуальной количественной информации о концентрации различных популяций Т-клеток был проведён систематический обзор литературы с выделением экспериментальных данных проточной цитометрии, а также фиксацией возраста пациентов. Для оценки возрастного гомеостаза каждой популяции Т-клеток был проведён мета-анализ с расчётом взвешенного среднего в рамках отдельных возрастных интервалов.

В результате систематического обзора были собраны результаты 124 исследований, содержащих 11722 уникальных измерения концентрации 20 популяций клеток — как общих популяций лимфоцитов (CD45+; CD3+;

CD4+ и CD8+), так и более дифференцированных популяций: наивных, активированных, эффекторных клеток, клеток центральной и эффекторной памяти, а также резидентных Т-клеток. Полученный набор данных содержал индивидуальные и агрегированные значения измерений концентрации в абсолютных и в относительных значениях для широкого диапазона субъектов — от новорожденных до долгожителей (старше 100 лет). Концентрация CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов, а также наименее дифференцированных популяций в крови уменьшается на протяжении всего возрастного диапазона. Наиболее существенное снижение концентрации наблюдается в первые 10 лет жизни. Напротив, количество Т-клеток памяти имеет тенденцию к увеличению после 50 лет.

Предложенный анализ показал, что максимальная концентрация клеток в детском возрасте достигается позже для более дифференцированных популяций клеток (в возрасте от 1 до 5 лет), по сравнению с менее дифференцированными (в возрасте от 0 до 1 года).

ПРИМЕНЕНИЕ БАЙЕСОВСКОГО ПОДХОДА ДЛЯ ОЦЕНКИ ЗНАЧЕНИЙ ПАРАМЕТРОВ МЕХАНИСТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ САХАРНОГО ДИАБЕТА ПЕРВОГО ТИПА

Михайлова А.А.¹, Песков К.В.^{1,2,3}, Соколов В.В.³

¹ФГОАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

²Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Сочи

³ФГБУН «Институт вычислительной математики им. Г.И. Марчука» РАН, Москва

Разработка новых лекарственных средств занимает порядка 12–15 лет и оценивается в 113–6000 млн долларов, при этом вероятность успешного прохождения всех стадий клинических исследований в среднем не превышает 20% [1–3]. За последние десятилетия математическое моделирование зарекомендовало себя как неотъемлемая часть данного процесса, повышающая его эффективность, и интегральный элемент в принятии решений, позволяющий ответить на разнообразные вопросы, включающие подбор оптимальной дозы, выбор первой дозы для клинических испытаний, оценка эффективности комбинированной терапии и др.

Одной из задач при построении математических моделей является оценка неизвестных параметров. В большинстве случаев эта задача решается с использованием методов фреквентистской статистики. Оценки параметров в таком случае являются точечными и основываются только на наблюдаемых данных. Альтернативный способ — оценка параметров при помощи методов Байесовской статистики. Он имеет ряд преимуществ перед фреквентистским, например, возможность включения априорной информации о распределении параметров и оценки вероятностного распределения параметров.

В данной работе предложена методология создания математических моделей количественной фармакологии, основанная на Байесовской статистике. Методология применена для моделирования фармакокинетики дапаглифлозина, ингибитора натрий-глюкозного котранспортера-2. Кроме того, было произведено сравнение эффективности и функциональности трех наиболее распро-

страненных программ для байесовского моделирования в фармакометрии: GNU MCSim, nimble и Torsten.

Литература

1. Deore A.B., Dhumane J.R., Wagh R., Sonawane R. The Stages of Drug Discovery and Development Process // Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development. 2019. 7(6). 62–67.
2. Rennane S., Baker L., Mulcahy A. Estimating the Cost of Industry Investment in Drug Research and Development: A Review of Methods and Results // Inquiry. 2021 Jan-Dec; 58:469580211059731.
3. Takebe T., Imai R., Ono S. The Current Status of Drug Discovery and Development as Originated in United States Academia: The Influence of Industrial and Academic Collaboration on Drug Discovery and Development // Clinical And Translational Science. 2018. 11. 597–606.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 23-71-10051.

КЛЮЧЕВЫЕ МЕТРИКИ ДЛЯ ДИСКРИМИНАЦИОННОГО АНАЛИЗА РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ ДАННЫХ В КЛИНИЧЕСКОЙ ФАРМАКОЛОГИИ

Мишина А.Е.^{1,2}, Жуденков К. В.¹⁻³, Песков К.В.^{1,3,4}

¹ФГОАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

²ООО «Эм энд Эс Десижанс», Москва

³ФГБУН «Институт вычислительной математики им. Г.И. Марчука» РАН, Москва

⁴Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Сочи

В клинической фармакологии систематически возникают прикладные задачи классификации, требующие применения соответствующих методов статистики и математического моделирования. Такие методики позволяют предсказывать клинически значимые исходы, например возникновение прогрессии, резистентности к терапии, общую выживаемость с использованием прогностических биомаркеров и других значимых характеристик субъектов.

В данной работе мы рассматривали различные метрики эффективности классификаторов в рамках типичных задач анализа биомедицинских данных с целью определить оптимальные наборы диагностических метрик с учетом их информативности и условий применения.

В рамках проведенного анализа было разработано несколько вычислительных проектов в среде R Statistics, реализующие различные типы классификаторов. Первый проект представляет собой детерминистический категориальный классификатор [1], который прогнозирует развитие приобретенной резистентности к таргетной терапии онкологических заболеваний на основе промежуточных (первые 3 мес наблюдений) измерений биомаркера размера опухоли SLD (Sum of the longest diameters in target lesions [2]). Второй вычислительный проект включал в себя совместную модель для непрерывных данных и ассоциированную с ними модель выживаемости, использующую аналогичные промежуточные измерения избранных биомаркеров (SLD и отношение нейтрофилов к лимфоцитам в крови), для прогнозирования выживаемости пациентов с раком легкого, проходящих лечение иммунотерапией [3]. Оба классификатора были оценены с использованием различных метрик дискриминационной эффективности. Всего было проанализировано 14 показателей. Основным результатом работы является диа-

грамма «дерево решений», иллюстрирующая рекомендации по выбору метрик для оценки дискриминационной способности классификаторов.

Для детерминистического классификатора с несбалансированным тренировочным датасетом и высокой значимостью ложноотрицательных результатов наиболее информативными метриками оказались: Recall, Precision, F2 Score, Cohen's Kappa и Matthews Correlation Coefficient.

Для классификатора, использующего совместную вероятностную модель, оптимальный набор метрик включает ROC AUC и Brier Score, которые взаимодополняют друг друга: ROC AUC демонстрирует способность модели эффективно идентифицировать выживших субъектов, а Brier Score — меру отклонения предсказываемой моделью вероятности от 0 и 1 для пациентов с различным исходами [4].

Литература

1. PAGE 32 (2024) Abstr 10860 [www.page-meeting.org/?abstract=10860]
2. Eisenhauer E.A., Therasse P., Bogaerts J. et al. New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1). // European Journal of Cancer. 2009;45(2):228–247.
3. Gavrilov S., Zhudenkov K., Helmlinger G. et al. Longitudinal Tumor Size and Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio Are Prognostic Biomarkers for Overall Survival in Patients With Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Treated With Durvalumab. // CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol. 2021;10(1):67–74.
4. Zhudenkov K., Gavrilov S., Sofronova A. et al. A workflow for the joint modeling of longitudinal and event data in the development of therapeutics: Tools, statistical methods, and diagnostics. // CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol. 2022;11(4):425–437.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОДХОДОВ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА ПРИ LCMV-ИНФЕКЦИИ

Никитич А.А.^{1,2}, Песков К.В.^{1,2,3}, Бочаров Г.А.^{1,2}

¹ФГОАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

²ФГБУН «Институт вычислительной математики им. Г.И. Марчука» РАН, Москва

³Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Сочи

Мыши, инфицированные вирусом лимфоцитарного хориоменингита (LCMV) — хорошо изученная экспериментальная модель вирусных инфекций, применяющаяся для изучения фундаментальных вопросов иммунологии. Варьируя штамм и количество вируса, которым заражено животное, можно вызвать острое или хроническое течение инфекции. Тестирование гипотез о механизмах острого и хронического протекания LCMV инфекции возможно с помощью методов математического моделирования.

В данной работе представлена расширенная версия ранее разработанной математической модели вирусной инфекции LCMV [1]. Базовая модель [1] описывала динамику острой и хронической иммунной реакции на инфекцию LCMV штамма Docile, однако динамика вирусной нагрузки для хронического течения была описана недостаточно точно. При хроническом течении LCMV-инфекции эффекторные Т-лимфоциты замещаются «истощенными» нефункциональными Т-клетками. Однако даже при отсутствии функциональных Т-киллеров наблюдается снижение уровня вируса на второй неделе после заражения.

Чтобы объяснить такое поведение вирусной нагрузки, были сформулированы следующие гипотезы о дополнительных механизмах элиминации вирусных частиц: 1) отсутствие клеток-мишеней, что препятствует дальнейшему размножению вируса; 2) наличие субпопуляции «истощенных» Т лимфоцитов с остаточной цитотоксической активностью. Данные гипотезы были протестированы с помощью расширенной версии математической модели, включающей такие переменные как клетки-мишени, инфицированные клетки, истощенные Т-клетки с частичным или полным ослаблением функциональной активности.

Результаты математического моделирования показывают, что падение уровня вируса на 12–14-й день может быть обусловлено ограниченным числом клеток-мишеней только при незначительном уровне пролиферации клеток-мишеней. Однако, согласно экспериментальным данным, в динамике клеток-мишеней при LCMV-инфекции наблюдается неоднородность, что затрудняет определение скоростей пролиферации и гибели данных клеток. Для оценки значимости дефицита мишеней как механизма снижения уровня вируса при хроническом течении необходимы дополнительные экспериментальные данные.

По результатам тестирования модели с включением «истощенных» Т-лимфоцитов был сделан вывод о возможности такого механизма выведения вируса: поведение решений математической модели соответствует экспериментальным данным.

Литература

1. G.A. Bocharov. Modelling the dynamics of LCMV infection in mice: conventional and exhaustive CTL responses. // J Theor Biol. 1998 Jun 7;192(3):283–308.

СПОСОБЫ ПОСТРОЕНИЯ ОБОБЩЕННОЙ ПОПУЛЯЦИОННОЙ МОДЕЛИ ФАРМАКОКИНЕТИКИ ТЕНОФОВИРА ДИЗОПРОКСИЛА ФУМАРАТА

Овсенева М.И.^{1,2}, Кулеш В.С.^{1,2}, Песков К.В.^{1,3}

¹ФГОАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

²ФГБУН «Институт вычислительной математики им. Г.И. Марчука» РАН, Москва

³Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Сочи

Благодаря применению антиретровирусной терапии (АРВТ) инфекция вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) стала хроническим управляемым заболеванием. По данным клинических рекомендаций Российской Федерации, тенофовира дизопроксил фумарат (ТДФ) является наиболее применяемым препаратом АРВТ.

Поскольку ТДФ входит в большинство комбинаций препаратов АРВТ, воспроизведение фармакокинетики (ФК) данного препарата представляет актуальную задачу для разработки новых более эффективных комбинаций. Одним из методов количественного описания ФК служит метод популяционного моделирования — стандарт при регистрации оригинальных препаратов. Однако ТДФ был зарегистрирован до появления данного регуляторного требования, поэтому в его досье отсутствует единая популяционная модель ФК. Наличие в научной литературе разнообразия ФК моделей ТДФ, построенных на разных наборах данных, обуславливает анализ опубликованных моделей с целью получения обобщенной модели для её дальнейшего использования в разработке новых режимов терапии.

В результате систематического обзора литературы и последующего анализа публикаций в анализ были включены 10 научных работ, описывающих построение популяционных моделей ФК ТДФ на независимых наборах данных.

Анализ структуры моделей показал единообразие выбора двухкомпарментной модели ФК с абсорбцией первого порядка и линейной элиминацией. Популяционные значения параметров моделей, их мера неопределенности, а также доступные агрегированные индивидуальные характеристики субъектов каждого исследования были оцифрованы

и включены в базу данных. Высокая вариабельность прогнозов ФК ТДФ, а также неоднородность групп субъектов по состоянию здоровья, возрасту, массе тела, клиренсу креатинина и приему ингибиторов протеазы обусловили разработку способов построения обобщенной популяционной модели ФК ТДФ. Были предложены и протестированы 2 методологии построения обобщенной модели: мета-анализ и мета-регрессия параметров моделей (обобщенная модель №1) и применение методологии нелинейного моделирования со смешанными эффектами к популяционным прогнозам ФК каждой модели (обобщенная модель №2). Каждая методология включала в себя тестирование влияния индивидуальных особенностей субъектов на параметры модели. Оба метода построения обобщенной модели воспроизводили истинную теоретическую ФК ТДФ.

Валидация полученных обобщенных моделей на данных ФК независимых исследований показала преимущество обобщенной модели №2 в описании независимых данных над обобщенной моделью №1.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ PARP ИНГИБИТОРА НИРАПАРИБА В ОСОБЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ ПРИ ПОМОЩИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ-ОБОСНОВАННОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ФАРМАКОКИНЕТИКИ

Покладюк А.Ю.¹, Косинский Ю.А.², Песков К.В.³

¹Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Сочи

²ООО «Эм энд Эс Десижанс», Москва

³ФГБУН «Институт вычислительной математики им. Г.И. Марчука» РАН, Москва

Нирапариб — ингибитор поли(АДФ-рибоза) полимеразы (PARP), используемый для лечения определённых видов рака. Препарат ингибирует PARP-опосредованный механизм репарации ДНК, что приводит к гибели опухолевых клеток. Приём нирапариба нередко сопровождается гематологическими нежелательными явлениями, такими как тромбоцитопения, анемия, нейтропения, что ограничивает применение препарата [1]. Нирапариб метаболизируется в печени, а также выводится почками. Таким образом, нарушения функций печени и почек могут значительно влиять на концентрации нирапариба в крови и его токсичность. При этом фармакокинетика препарата при тяжелых нарушениях печеночной функции на данный момент не изучена.

Изучение фармакокинетики нирапариба и других PARP ингибиторов в различных популяциях также необходимо для выявления механизмов, обуславливающих наблюдаемые нежелательные явления, и поиска фармакологических предикторов, позволяющих количественно описывать и предсказывать токсичность. Для этого применяются физиологически-обоснованные фармакокинетические (ФОФК) модели, способные предсказать распределение препарата в органах и тканях пациента.

В данной работе на базе программного обеспечения PK-Sim [2] нами впервые разработана ФОФК модель нирапариба. Расчёт параметров модели осуществлялся на основе фармакокинетических данных из клинического исследования, суммарно включающего в себя 100 пациентов, принимавших одну из 10 различных доз [3]. Валидация модели произведена на данных шести клинических исследований, собранных в ходе система-

тического обзора фармакокинетики нирапариба. С помощью построенной модели получены предсказания значений концентрации препарата в крови и тканях в норме и при нарушениях функции печени.

В результате анализа чувствительности выявлены параметры, наибольшим образом влияющие на значения концентраций в определенных тканях. Таким образом, определены фармакологические предикторы токсичности нирапариба, которые могут быть использованы в подборе индивидуального режима дозирования.

Литература

1. GlaxoSmithKline. Niraparib summary of product characteristics (SmPC). https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zejula-epar-product-information_en.pdf.
2. Open Systems Pharmacology. OSP platform on GitHub: <https://github.com/Open-Systems-Pharmacology>.
3. Sandhu SK, Schelman WR, Wilding G. et al. The poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor niraparib (MK4827) in BRCA mutation carriers and patients with sporadic cancer: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet Oncol*. 2013. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(13\)70240-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(13)70240-7).

МЕХАНИСТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ В-КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА В СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКЕ

Угольков Я.А.^{1,2,3}, Волкова А.А.³, Песков К.В.^{2,3}, Соколов В.В.³

¹ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Москва

²ФГОАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

³ФГБУН «Институт вычислительной математики им. Г.И. Марчука» РАН, Москва

Системная красная волчанка (СКВ) — хроническое аутоиммунное заболевание, поражающее множество органов и тканей, включая кожу, суставы, почки, сердце и легкие. Патогенез СКВ опосредован сложным взаимодействием между окружающей средой, генетическими факторами риска и нарушениями в регуляции различных компонентов иммунного ответа, среди которых гиперактивация В-клеточного ответа считается одним из ключевых. У пациентов с СКВ аутореактивные В-клетки избегают апоптоза на ранних стадиях развития в костном мозге и впоследствии производят аутоантитела, которые повреждают здоровые ткани.

Ряд современных стратегий лечения СКВ включают применение биологических препаратов, таких как антитела против В-клеточного фактора роста и антитела против CD20 рецептора на поверхности В-клеток, нацеленных на подавление патологической активности В-клеток. Однако, по результатам клинических исследований, до половины пациентов не испытывают значимого улучшения симптомов заболевания даже на фоне современной терапии, что создает предпосылки для исследования новых биологических мишеней и их комбинаций. Системнофармакологическое математическое моделирование, описывающее биологические механизмы патогенеза заболевания, является подходящим инструментом для решения подобной задачи.

Целью нашей работы была разработка системнофармакологической модели, объясняющей роль В-клеточного ответа в возникновении и прогрессировании СКВ, для дальнейшего анализа сравнительного анализа эффективности существующих и потенциальных методов лечения.

В рамках данного исследования была создана физиологически обоснованная модель

фармакокинетики биопрепаратов-антител, а также созревания и динамики В-лимфоцитов. Структура модели состоит из 85 обыкновенных дифференциальных уравнений и 147 параметров, большинство из которых взяты из литературы и зафиксированы на физиологических значениях. Неизвестные параметры В-клеточного гомеостаза были определены на основе количественных данных из 12 источников, собранных при помощи систематического обзора литературы.

Модель описывает перетоки экзогенных антител по организму, их попадание в ткани и взаимодействие с антигеном, а также образование В-клеток в костном мозге, их переток в селезёнку и лимфатические узлы, созревание в плазматические клетки и В-клетки памяти. На базе модели был проведен анализ чувствительности для исследования потенциальных терапевтических мишеней для новых методов лечения.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 23-71-10051.

ЛЕКАРСТВА КАК МАТЕРИАЛЫ

Болдырева Е.В.

ФГАОУ ВО «Новосибирский государственный университет», Новосибирск

Разработка новых и улучшение известных лекарственных препаратов имеет важное значение. При этом синтез лекарственного вещества (активного фармацевтического ингредиента) является только началом длительных и дорогостоящих исследований и затем реального производства. В данном докладе будет прослежен путь от лекарственного вещества к лекарственным формам на его основе.

Будут рассмотрены проблемы, связанные с переводом лекарственного вещества в форму, биологическая доступность которой позволит провести необходимые испытания на клеточном, тканевом и организменном уровне, в частности, провести корректные исследования токсичности препарата, его распределения по тканям и органам организма, метаболизма, выведения, эффективности, побочных эффектов. Будет показано, как, рассматривая лекарственную форму как материал, возможно создавать различные формы для адресной доставки лекарственных веществ, управлять скоростью поступления лекарственного вещества в организм, улучшать механические характеристики, снижать гигроскопичность, а также решать проблемы, связанные с патентной защитой.

Будут рассмотрены проблемы неконтролируемого изменения характеристик лекарственной формы из-за изменений, происходящих во время технологического цикла или при хранении, а также методы их решения. Будут также рассмотрены приемы направленного получения лекарственных форм, в которых лекарственные вещества находятся в термодинамически метастабильном состоянии — аморфном или в виде метастабильных полиморфных модификаций.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ, Программы стратегического академического лидерства «Приоритет-2030».

МЕТОДЫ ГЕНЕРАЦИИ ОДНОЦЕПОЧЕЧНОЙ ДНК В ПРОЦЕДУРЕ SELEX

Гаранин А.Ю., Плевако Д.С., Кацуба К.Е., Гринькова Е.Я., Малек А.В.

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Аптамеры представляют собой одноцепочечные олигонуклеотиды, которые имеют специфическую трехмерную структуру и благодаря этой структуре проявляют аффинность к определенным лигандам. Процесс разработки функциональных аптамеров известен как SELEX (англ. SELEX — Systematic Evolution of Ligands by EXponential Enrichment). Суть метода заключается в многократном повторении циклов (1) инкубации рандомизированной ДНК-библиотеки с целевыми молекулами-мишенями и (2) отделением и амплификацией аффинных аптамеров. Успешность всей процедуры определяется эффективностью генерации одноцепочечной ДНК (оцДНК) по завершении каждого раунда. Методы генерации оцДНК можно условно разделить на две группы: (i) основанные на удалении ненужной цепи, (ii) основанные на прямом получении оцДНК с помощью разновидностей асимметричной ПЦР (АПЦР). Однако лучший метод до сих пор не определен. В данной работе мы провели прямое сравнение четырех методов с точки зрения эффективности, специфичности, воспроизводимости, потребления времени и реагентов. Результаты могут быть использованы при планировании и применении технологии SELEX, что определяет их актуальность и практическую значимость.

Цель работы состояла в воспроизведении и сравнении четырех различных методов генерации оцДНК.

В качестве исходной матрицы для ПЦР была использована ДНК-библиотека длиной 76 нуклеотидов. Центральная область из 30 нуклеотидов рандомизирована и фланкирована с обеих сторон посадочными местами для праймеров. В каждом случае праймеры имели специфические особенности структуры, дополняющие участок взаимодействия с матрицей. ПЦР-амплификация проводилась с помощью Taq-полимеразы в 25 мкл реакционной смеси, содержащей буфер для ПЦР, 1 нг ДНК-библиотеки и праймеры. Программы амплификаций

были трехступенчатыми и состояли из денатурации (95°C), отжига (60°C) и элонгации (72°C) в течении 5–25 циклов с предварительной денатурацией (95°C, 5 мин). Время этапов отжига и элонгации было оптимизировано и отличалось для каждого из методов. Специфичность каждого метода оценивалась путем анализа продуктов ПЦР на разных циклах. Эффективность каждого метода оценивалась путем сравнения количества оцДНК, полученной из 1 нг ДНК-библиотеки по завершении каждого протокола.

Оптимальное сочетание специфичности и эффективности наблюдалось для методов на основе асимметричной ПЦР (АПЦР), которые позволяют генерировать оцДНК непосредственно на этапе амплификации. Применение блокирующего праймера (primer-blocker asymmetric PCR, PBA-PCR) позволило повысить эффективность классической АПЦР. По совокупности критериев (эффективность, специфичность, воспроизводимость, экономичность и трудоемкость) предпочтение было отдано технологиям на основе АПЦР.

Таким образом, четыре метода генерации оцДНК показали различные результаты по ряду параметров (эффективность, воспроизводимость, затраченное время, стоимость), но наиболее эффективным оказался метод PBA-PCR, который может быть рекомендован для использования в рамках процедуры SELEX.

НАНОАРХИТЕКТОНИКА ПОРИСТЫХ АЛЮМОСИЛИКАТОВ КАК ОСНОВА СОЗДАНИЯ НОВЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ МЕДИЦИНЫ

Голубева О.Ю.¹, Бразовская Е.Ю.¹, Аликина Ю.А.¹, Артамонов А.Ю.², Шамова О.В.²

¹ФГБУ «Национальный исследовательский центр Курчатовский Институт», Институт химии силикатов им. И.В. Гребенщикова, Санкт-Петербург, Россия

²ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Пористые алюмосиликаты обладают целым рядом характеристик, позволяющих говорить об их перспективах для применения в медицине. Помимо значительной сорбционной емкости в отношении веществ различной молекулярной массы и ионогенности, они способны адсорбировать экссудат, бактерии, экзотоксины, микроорганизмы, фибриноген, продукты распада тканей, обладают высокой сорбционной способностью в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий. Установлено, что природные минерал-сметитовые комплексы обладают явно выраженными биологически активными свойствами, в том числе способностью активизировать регенерацию поврежденных тканей. Кроме того, за счет особенностей своей кристаллической структуры и свойств поверхности такие алюмосиликаты могут эффективно адсорбировать и осуществлять пролонгированный выход лекарственного вещества из своей пористой матрицы в течение определенного промежутка времени, а также выступать в качестве матриц-носителей биологически активных компонентов.

В докладе будут представлены результаты анализа и экспериментальных исследований возможностей использования синтетических наноструктурированных алюмосиликатов (аналогов природных монтмориллонитов, каолинитов, цеолитов) в медицине, в частности в области энтеро- и гемосорбции, при разработке систем адресной доставки лекарственных препаратов с пролонгированным и pH-контролируемым выходом активного вещества в различных средах, а также компонентов раневых покрытий. Монтмориллониты, алюмосиликаты подгруппы каолинита с различной морфологией частиц (нанотрубки, сферы, наногубки), и цеолиты были получены в гидротермальных условиях и охарактеризованы комплексом физико-химических методов исследования.

Будут представлены результаты изучения адсорбции и десорбции модельных лекарственных препаратов (тиамина гидрохлорида, 5-фторурацила) из пористых алюмосиликатных матриц различного химического состава в различных средах, моделирующих среды организма, адсорбции маркеров эндогенной интоксикации (метиленового голубого), способности алюмосиликатов к биodeградации в средах организма, а также исследования биологической активности, в частности цитотоксичности и гемолитической активности синтетических алюмосиликатов. Показана зависимость токсичности алюмосиликатов от морфологии их частиц. Полученные результаты показывают значительные перспективы применения синтетических алюмосиликатов для получения нетоксичных высокоэффективных сорбентов медицинского назначения и носителей лекарственных препаратов.

МАТЕРИАЛ БИОМЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ — ЧАСТИЧНО КРИСТАЛЛИЗОВАННЫЙ БИОПОЛИМЕР ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ, И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАН

Евсеенков О.В.

ООО «Биополимед», Москва

ФГОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова»
Минздрава России, Москва

Разработан новый биополимер на основе гиалуроновой кислоты. Его особенностью является перевод аморфного гиалурона на в ячеистый трехмерный биополимер с частичной кристаллизацией. Размер ячеек в среднем составляет около 10 мкм, что позволяет размещать в них (или захватывать) некоторые биологические объекты, например, эритроциты и тромбоциты. При этом на макроуровне материал представляет собой ватоподобное вещество, удобное для осуществления манипуляций, в отличие от летучего порошка аморфного гиалуронана. Кроме того, материал может выступать носителем различных биологически активных, в том числе лекарственных, веществ, образуя с ними конъюгаты и сокристаллы.

В зависимости от целей и характера применения данный носитель может обеспечивать как ускоренное, так и постепенное высвобождение биологически активного вещества по мере растворения биополимера или его биоразложения гиалуронидазой. Так, соединение данного биополимера с глицином (в котором глицин в 7 раз превышает по массе гиалуронан) образует легко растворимые таблетки, которые (в эквивалентной дозе 100 мг) подязычно растворяются за несколько секунд, в отличие от таблеточной формы, растворение которой занимает порядка минуты.

Еще более значимым различием в свойствах материал обладает в гемостатическом применении. С добавлением фактора свертываемости крови в количестве, на порядок меньшем, чем в популярном гемостатике «Тахокомб», на ранах печени и бедра в эксперименте на кролике он показал рекордную скорость остановки кровотечения порядка 15 с. Обусловлено это комплексным действием материала: гиалуронат быстро связывает

воду и резко повышает концентрацию компонентов плазмы крови в зоне контакта. Это, в свою очередь, ускоряет агрегацию тромбоцитов. Кроме того, тромбоциты и эритроциты, видимо, «застревают» в ячейках материала как фильтре, что дополнительно уплотняет образующийся сгусток. Усиливает эффект высвобождение фактора свертываемости крови — тромбина, который ускоренно в плотном растворе-геле активирует фибриноген, и образующиеся фибриновые нити дополнительно укрепляют биополимерную матрицу гиалуронана с захваченными тромбоцитами и эритроцитами.

Необходимо отметить, что гиалуронан, как внеклеточный матрикс млекопитающих, является наиболее биосовместимым для человека полисахаридом, в сравнении с применяемым в гемостатических средствах окисленной целлюлозой и крахмалом (структурный материал растений) или хитозаном (структурный материал ракообразных).

НЕМОДИФИЦИРОВАННЫЕ КЛАСТЕРЫ ФУЛЛЕРЕНА В ВОДНОМ РАСТВОРЕ КАК СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Евстигнеев М.П.

ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», Институт перспективных исследований, Севастополь

Обсуждаются физико-химические особенности формирования кластеров немодифицированного фуллерена в водном растворе, а также взаимодействие кластеров с типичными противоопухолевыми соединениями (доксорубицин, митоксантрон, цисплатин, ландомицин А, топотекан) и возникающие при этом биологические эффекты *in vitro* и *in vivo*.

Представлены результаты структурно-термодинамического исследования комплексообразования систем «кластер-препарат» различными физико-химическими методами, обсуждена проблематика экспериментального анализа комплексов подобного рода.

Показано, что связывание препаратов с кластерами фуллерена носит характер неспецифической адсорбции, сравнительно слабо коррелирующей с химической структурой препарата, но в то же время наделяющей кластеры фуллерена новой, ранее неизвестной, транспортной функцией, позволяющей рассматривать их в качестве новых потенциальных систем адресной доставки лекарственных соединений.

РАЗРАБОТКА ГИБРИДНЫХ ИМПЛАНТАТОВ НА ОСНОВЕ СВЕРХВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ПОЛИЭТИЛЕНА И БИОАКТИВНОЙ КЕРАМИКИ С РЕКОМБИНАНТНЫМИ БЕЛКАМИ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИМИ ОСТЕОГЕННЫЕ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА, ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПАТОЛОГИЙ КОСТНОЙ ТКАНИ, В ТОМ ЧИСЛЕ ОСЛОЖНЕННЫХ ИНФЕКЦИЕЙ

Зайцева С.В.^{1,2}, Карягина-Жулина А.С.¹, Сенатов Ф.С.²

¹ФГБУ «ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва

²ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС», НОЦ Биомедицинской инженерии, Москва

Разработка подходов для создания новых имплантируемых материалов для профилактики и лечения патологий костной ткани, в том числе осложненных инфекцией, является одной из ключевых проблем трансплантологии и регенеративной медицины.

Настоящая работа направлена на разработку полимерных имплантатов с пористой структурой, имитирующей костную ткань, с добавлением частиц биоактивной керамики, обладающих одновременно остеоиндуктивными и антибактериальными свойствами, что может стать эффективным решением проблемы лечения костных патологий, осложненных инфекцией.

Компонентами разрабатываемого имплантата в настоящей работе являются: молекулы рекомбинантных белков — индуктор остеогенеза костный морфогенетический белок 2 (BMP-2), антибактериальный/антибиопленочный белок лизоцим; частицы биоактивной силикатной керамики (диоксида $(\text{CaMgSi}_2\text{O}_6)$); биodeградируемый гидрогель на основе желатиновой и хитиновой камедей; пористые скаффолды на основе нерезорбируемого синтетического полимера — сверхвысокомолекулярного полиэтилена (СВМПЭ), выполняющие каркасную функцию. В ходе данной работы ведется разработка методов, позволяющих оптимальным образом соединить все компоненты имплантата.

Процесс получения образцов на текущем этапе работы включает несколько стадий. Первоначально пористые биомиметические скаффолды из СВМПЭ с частицами диоксида или без них получают путем горячего прессования смеси порошков СВМПЭ, диоксида, соли NaCl и последующей отмывки соли. BMP-2 наносится непосредственно на об-

разец, а для внесения антибактериального агента в образец вводят желатин-хитиновый гидрогель, на который после стадии лиофилизации наносится лизоцим. На завершающем этапе образцы ещё раз лиофилизируют. Для таких образцов размер пор скаффолда имеет среднее значение 260 ± 120 мкм, что соответствует диапазону пор губчатой кости. Диоксид равномерно распределен. Краевой угол смачивания составил $84,7 \pm 6,3^\circ$. На данный момент ведется исследование возможных способов модификации поверхности скаффолдов для увеличения её гидрофильности. Проводится оценка эффективности и безопасности разрабатываемых препаратов на моделях *in vitro* и *in vivo*, таких как воздействие материалов на образование и разрушение биопленок золотистого стафилококка, модель введения гидрогелей с микрочастицами диоксида под надкостницу свода черепа мышей, модель имплантации материалов в краниальные дефекты критического размера у мышей, модель сегментарных дефектов конечностей мышей, в том числе инфекционные модели.

Источники финансирования. Грант Российского научного фонда, Номер проекта: 22-15-00216.

РАЗРАБОТКА ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ НЕРВНОЙ ТКАНИ СПИННОГО МОЗГА ПРИ ОСТРОЙ ТРАВМЕ

Зеленова Э.Д.¹, Каршиева С.Ш.¹, Ковалева П.А.¹, Фурса Г.А.², Чадин А.В.², Степанова О.В.², Сенатов Ф.С.¹

¹ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС», Москва

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России, Москва

Травма спинного мозга — нейродегенеративное повреждение тканей спинного мозга, которое может вызывать постоянную или временную потерю чувствительности и функциональности органов. На сегодняшний день существующие методы терапии не обеспечивают восстановление тканей и в основном направлены на снятие воспалительной реакции. Для восстановления проводимости необходимо создать условия, которые будут обеспечивать физико-химические, структурные, биологические и механические характеристики. В свою очередь, при создании структуры для восстановления нервного волокна, необходимо учитывать размер пор и степень пористости подложки, оптимальной для роста аксонов.

Методом 3D-печати была напечатана решетка — механически стабильный слой, замещающий твёрдую оболочку спинного мозга. Подобраны режимы и условия печати, для получения конструкций с размером пор до 70–100 мкм. После печати происходило напыление волокон из водорастворимого полимера методом электроспиннинга.

Оценку цитотоксичности и клеточной адгезии проводили на культурах клеток NIH3T3, ROEC, EA.hy926. Для заселения подложки с волокнами были выбраны глиальные клетки, напечатанной сетки — эндотелиальные клетки. На основе результатов проведенных исследований ИК-спектроскопии, сканирующей электронной микроскопии и *in vitro* экспериментов были выбраны подходящие режимы получения и последующей обработки конструкций.

In vivo испытания были проведены на самках крысы линии Wistar на базе НМИЦ им. В.П. Сербского. Имплантация структур происходила после нанесения острой травмы спинного мозга. Результаты использования тканеинженерной конструкции из полимер-

ной структуры и клеточного компонента, полученного из обкладочных клеток обонятельной выстилки крысы, показали наибольшую эффективность в терапии острой травмы спинного мозга, а также ускорение восстановления двигательных функций животных.

Источники финансирования: Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках программы стратегического академического лидерства «Приоритет 2030» (Университет МИСИС, Стратегический проект «Биомедицинские материалы и Биоинженерия»).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФОСФОЛИПИДНЫХ ВЕЗИКУЛ С ЛИЗОЦИМОМ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ БИОДОСТУПНОСТИ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ПРИМЕРЕ АГРИМОНИИНА

Калашникова И.В., Смирнова О.Д., Пацаев Т.Д.

ФГБУ «Национальный исследовательский центр Курчатовский Институт», Москва

Мы рассматриваем включение агримониина (полифенола, выделяемого из *Agrimonia pilosa* L.) в состав везикул эссенциальных фосфолипидов, модифицированных лизоцимом, для улучшения биодоступности и возможности преодоления тканевых барьеров. Множество растительных препаратов известно как потенциальные бактериостатические, противоопухолевые и иммуномодулирующие вещества [1, 2], однако их биодоступность и адресность зачастую часто оказывается неудовлетворительной [3, 4], как в силу плохой растворимости, так и по причине быстрой инактивации *in vivo* [4]. В то же время ряд исследований показал качественное улучшение адресной доставки таких препаратов за счёт ассоциации с фосфолипидными везикулами [5, 6]. Более того, фосфолипидные везикулы возможно модифицировать лизоцимом, который, являясь неиммуногенным, способен встраиваться во внутреннюю поверхность везикул [7] и улучшать биодоступность труднорастворимых препаратов [8]. Некоторые модифицированные жирными кислотами формы лизоцима обладают выраженной антибактериальной активностью не только по отношению к грамположительным, но и к некоторым грамотрицательным бактериям [9], что способствует хранению комплексных препаратов.

Ранее нами, вслед за рядом коллег, уже показана эффективная самосборка фосфолипидных везикул после выделения их из донорских тканей и лиофильной сушки [10]. Самосборка везикул в растворе с лизоцимом способствует проникновению этого белка внутрь [7], а при предварительном соосаждении агримониина на лизоциме получаемые агрегаты имеют размеры 100–200 нм, с дзета-потенциалом -12 ± 2 мВ, хорошо диспергируются в воде и содержат до 12% растительного полифенола. Эссенциальные фосфолипиды, выделенные из лиофили-

зированных донорских тканей головного мозга, лёгких либо печени, видятся нами перспективным и коммерчески доступным источником экзосомоподобных везикул, способным решать задачи адресной доставки препаратов, в частности, агримониина.

Литература

1. ISBN 5-02-029240-0.
2. doi:10.2478/s11756-019-00242-x.
3. doi:10.3390/ijms11041321.
4. doi:10.1038/mt.2010.105.
5. doi:10.1007/s13346-021-01026-0.
6. doi:10.1186/s12906-021-03476-y.
7. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.07.106.
8. doi:10.56304/S1992722323601350.
9. doi:10.1111/1750-3841.12460.
10. doi:10.29003/m3376.sudak.ns2023-19/264-265.

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках Госзадания НИЦ Курчатовский институт. Техплан 1П.4.3. Приказ № 86 от 20.01.2023 г.

«AUNP-APTASENSOR» ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И МОНИТОРИНГА ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Кацуба К.Е., Шаронова Т.В., Малек А.В.

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Ключевые слова: золотые наночастицы, ДНК-аптамеры, внеклеточные везикулы

Актуальность разработки и внедрения в практику новых, более эффективных методов диагностики онкологических заболеваний очевидна. Эффективность может быть обеспечена путем идентификации новых аналитов и/или разработкой инновационных, более чувствительных или более специфичных, методов анализа. Внеклеточные везикулы (ВНВ) секретируются всеми клетками организма и циркулируют в составе плазмы. Биохимическая стабильность и сходство с клетками-продуцентами делает ВНВ плазмы перспективным маркером онкологических заболеваний. Поэтому разработка технологий количественного анализа специфических и/или диагностически значимых популяций ВНВ является актуальной задачей. Целью исследования является разработка и оценка диагностического потенциала технологии количественного анализа специфических ВНВ (AuNP-aptasensor), основанной на фермент-миметической активности наночастиц золота и феномене специфического взаимодействия ДНК-аптамеров с белковыми маркерами ВНВ.

Золотые наночастицы были синтезированы модифицированным методом Туркевича. Последовательности ДНК-аптамеров были заимствованы из научных публикаций и воспроизведены путем синтеза. Фермент-миметическая активность частиц оценивалась путем перекисного окисления субстрата — тетраметилбензидина (ТМВ), результат оценивается посредством снятия спектров UV/vis. В экспериментах были использованы ВНВ, выделенные из плазмы здоровых доноров (n=20) и пациентов с колоректальным раком (КРР) (n=20), с помощью двухфазной полимерной системы. В результате проведенных исследований, подтверждена специфичность взаимодействия ряда ДНК-аптамеров с маркерами ВНВ, секретируемых клетками КРР. Оптимизированы условия процедуры

количественного анализа ВНВ, несущих маркеры КРР, в составе ВНВ плазмы. Показана диагностическая эффективность разработанной технологии на ограниченной выборке образцов: при использовании девяти разных аптамеров показана статистически значимая разница ($p < 0,005$) концентрации КРК-специфичных ВНВ между группой доноров и пациентов.

Выводы. Результаты апробирования полученной системы в качестве диагностического инструмента для обнаружения колоректального рака показывают ее перспективность.

СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ АКТИВАЦИИ ЭФФЕКТА ПАМЯТИ ФОРМЫ КОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИЛАКТИДА ДЛЯ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Ковалева П.А.¹, Черемных А.И.¹, Булыгина И.Н.¹, Сенатов Ф.С.²

¹ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС», НОЛ Текстильной инженерии и регенеративной медицины, Москва

²ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС», Институт Биомедицинской инженерии, Москва

Применение функциональных полимерных материалов в медицине становится все более распространенным, например, при использовании имплантатов для восстановления поврежденных тканей различных типов или замещения их функций. Такие материалы должны обладать низким риском возникновения иммунного ответа в организме, возможностью стимулировать регенеративные процессы и, предпочтительно, безопасным процессом биорезорбции. Синтетические биосовместимые полимеры, такие как поликапролактон, полилактид и другие уже нашли широкое применение в медицине. В отличие от природных полимеров, они обладают высокими механическими свойствами, но в значительно меньшей степени взаимодействуют с окружающими тканями. В связи с этим, большое внимание уделяется композиционным материалам с биоактивными наполнителями, такими как фосфат кальция и силикатно-кальцевая керамика, которые усиливают биоактивные свойства материала и могут влиять на проявляемые свойства.

Достижения в области материаловедения привели к разработке класса «умных» материалов, которые могут изменять свои свойства в ответ на внешние воздействия. Среди этих материалов полимеры с памятью формы привлекли значительное внимание благодаря своей способности фиксировать временную форму и восстанавливать первоначальную. Тем не менее, исследователи продолжают сталкиваться с трудностями в точном управлении процессом восстановления формы, а также с недостаточной степенью восстановления и возникающими напряжениями.

В данной работе рассматривается эффект памяти формы композиционных материалов на основе полилактида, наполненных биоак-

тивной силикатной керамикой (диопсидом, $\text{CaMgSi}_2\text{O}_6$). Полимерная матрица такого материала может быть организована в виде сферолитной или аморфно-ламеллярной структуры в зависимости от способа изготовления, что вносит вклад в процесс реализации эффекта памяти формы. Диопсид характеризуется длительным периодом резорбции, высокой способностью к биоминерализации, а также обладает антибактериальным действием и может сорбировать и высвобождать лекарственные вещества. Дисперсный наполнитель будет по-разному влиять на распределение аморфной и кристаллической фаз в матрице, оказывая влияние на эффект памяти формы. Такие материалы и реализуемые в них эффекты являются перспективными объектами исследований, актуальными для создания различных адаптивных медицинских конструкций, а также самопозиционирующихся имплантатов в фокусе реконструктивной медицины.

Источники финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (№ 21-73-20205).

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОНЬЮГАТА НА ОСНОВЕ ВЫСОКООКИСЛЕННОГО ОКСИДА ГРАФЕНА, ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ И ЦИТОСТАТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ЦИТАРАБИН

Кожухов П.К.¹, Семёнов К.Н.¹⁻³, Молчанов О.Е.³, Майстренко Д.Н.³, Шаройко В.В.¹⁻³

¹ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

³ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова» Минздрава России, Санкт-Петербург

В настоящее время продолжается совершенствование и создание новых химиотерапевтических, а также таргетных препаратов для лечения онкологических заболеваний. Специалисты в области наноматериалов и медицинского материаловедения создают наноплатформы на основе наночастиц различной природы, в частности, на основе оксида графена (GO). Данные материалы перспективны для создания конъюгатов с различными цитостатическими препаратами и векторами для адресной доставки лекарств.

Графен состоит из атомов углерода в sp^2 -гибридном состоянии, объединенных в гексагональную плоскую структуру. В практическом отношении большой интерес представляет высокоокисленный графен, включающий различные кислородсодержащие функциональные группы.

В нашей научной группе впервые был синтезирован GO, содержащий 85% кислородсодержащих функциональных групп с использованием модифицированного метода Хаммерса и Оффмана.

В данной работе GO был ковалентно модифицирован фолиевой кислотой (FA), затем был загружен цитостатический препарат цитарабин (Cyt). Кинетическая зависимость адсорбции Cyt на ковалентном конъюгате GO-FA была описана с использованием различных моделей: Брунауэра, Эммета и Теллера, Ленгмюра; установлено, что загрузка препарата составляет 91 масс. %. Экспериментальные данные по высвобождению Cyt были описаны с использованием кинетических моделей нулевого порядка, первого порядка и Корсмейера–Пеппаса.

Исследование биосовместимости и биологической активности показало, что конъюгат не

вызывает гемолиза, агрегации тромбоцитов, обладает антирадикальной активностью. Для определения сайтов связывания конъюгата GO-FA-Cyt с человеческим сывороточным альбумином (HSA) были проведены эксперименты по конкурентному связыванию в присутствии маркеров сайтов связывания. Полученные данные свидетельствуют о том, что GO-FA-Cyt образует комплекс с HSA в субдомене IB (сайт связывания дигитонина), а также в субдомене IIA (сайт связывания варфарина). Изучение жизнеспособности клеток линий Jurkat в присутствии конъюгата GO-FA-Cyt показало, что конъюгат обладает большей цитотоксичностью по сравнению с индивидуальным цитарабином.

Источники финансирования. 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).

СКРИНИНГ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ И ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПОЛИМЕРНЫХ КОМПЛЕКСОВ СЕРЕБРА

Кузнецова Е.В., Немтарев А.В., Салахиева Д.В., Абдуллин Т.И.

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань

Разработка эффективных медикаментозных средств для лечения бактериальных инфекций является актуальной задачей. Современные антибактериальные агенты должны быть эффективны в отношении широкого спектра бактерий, включая резистентные, и при этом не должны иметь серьезных побочных эффектов и противопоказаний. Среди них соединения серебра остаются важным классом антибактериальных агентов, к которым большинство микроорганизмов не вырабатывает резистентности. Протеинаты серебра, такие как протаргол, традиционно используют для создания антисептических лекарственных средств в отоларингологии, однако, наличие ряда побочных проявлений протеинатов серебра ограничивает их широкое применение в различных медицинских практиках.

В настоящей работе в качестве альтернативы протеинатам серебра получены новые полимерные комплексы и нанокомпозиты серебра с контролируемым содержанием металла в степени окисления +1 и 0. Коллоидные характеристики полученных комплексов в водных растворах определяли методом динамического рассеяния света. Показано, что комплексы серебра в растворе формируют стабильные ассоциаты с гидродинамическим диаметром 90–280 нм и индексом дисперсности 0,2–0,5. Антибактериальную активность соединений исследовали методом серийных разведений в жидких питательных средах в отношении *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *B. subtilis*.

Полученные комплексы эффективно ингибировали бактериальный рост сходным образом для грамположительных и грамотрицательных бактерий. Значения МИК соединений были пропорциональны содержанию в них серебра и находились в диапазоне 0,1–2,4 мг/мл. Антибактериальная активность комплексов была сопоставима с таковой для протаргола. Методом МТТ-теста оценено влияние полученных комплексов на жизнеспособность

первичной культуры и клеточных линий фибробластов млекопитающих. Установлено, что по сравнению с протарголом исследуемые комплексы серебра обладают пониженной цитотоксической активностью, что указывает на их большую безопасность относительно протеинатов серебра.

Результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшего изучения механизмов антибактериального и цитотоксического действия разработанных полимерных комплексов серебра *in vitro* и *in vivo*.

Источники финансирования. Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности (проект FZSM-2022-0020).

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА УЛЬТРАМИКРОСКОПИИ В БИОХИМИИ И МЕДИЦИНЕ

Курыяков В.Н.

ФГБУН «Институт проблем нефти и газа» РАН, Москва

Метод ультрамикроскопии, благодаря специальному освещению лазером, позволяет визуализировать нанообъекты в жидкости, наблюдать за их движением, подсчитать их. При этом сами нанообъекты не видны — наблюдается рассеянное на них лазерное излучение. В методе ультрамикроскопии для освещения образца используется лазер, направленный под углом 90 градусов к оптической оси наблюдения. Наблюдение за образцом жидкости при этом происходит при помощи оптического микроскопа. Таким образом, при отсутствии частиц в жидкости поле зрения микроскопа будет темным — весь свет лазера пройдет мимо объектива микроскопа. Если в исследуемой жидкости есть частицы, то на них лазерное излучение будет рассеиваться (Рэлеевское рассеяние), и в поле зрения будут видны светящиеся точки — рассеяние от каждой частицы. Таким образом, данный метод позволяет наблюдать в реальном времени за такими наноразмерными объектами в жидкости, как наночастицы различной природы (коллоидное золото и серебро, магнитные наночастицы, золи различных металлов), внеклеточные везикулы, наноалмазы, квантовые точки и др.

Метод ультрамикроскопии позволяет в экспресс-режиме напрямую измерить численную концентрацию нанообъектов в жидких средах, что сложно реализовать другими экспериментальными методами.

Исследования выполнены на измерителе численной концентрации наночастиц NP Counter (ООО «НП ВИЖН», Россия), в основе которого лежит принцип ультрамикроскопии [1].

Проведенные исследования серии образцов наночастиц латекса, коллоидного золота, коллоидного серебра позволили определить границы применимости используемого прибора. Нижняя граница (радиус) детектируемых латексных и SiO_2 частиц — 45 нм, для коллоидного золота — 6 нм. Сделана оценка точности измерений численной концентра-

ции наночастиц данными прибором.

На серии образцов внеклеточных везикул проведены измерения численной концентрации. Полученные результаты хорошо совпадают с результатами, полученными на зарубежном оборудовании.

В работе представлены результаты исследований водных дисперсий магнитных наночастиц (коммерческих и синтезированных), используемых для выделения ДНК/РНК. Для исследованных образцов определена численная концентрация наночастиц в исходном образце и после ультразвукового (УЗ) диспергирования. Показано, что УЗ-диспергирование приводит к повышению численной концентрации наночастиц вследствие разрушения кластеров. Проведено исследование поведения магнитных наночастиц в постоянном магнитном поле.

В перспективе метод ультрамикроскопии может быть применим для исследований в области синтеза различных наночастиц, контроля стабильности коллоидных систем, при разработке наноразмерных средств направленной доставки лекарств, исследований внеклеточных везикул и других наноразмерных биологических объектов.

Литература

1. Описание метода ультрамикроскопии: [сайт]. URL: <http://npcounter.ru/> (дата обращения: 01.07.2024).

АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ КОМПОЗИТНЫЕ ВОЛОКНА ПОЛИКАПРОЛАКТОНА, НАГРУЖЕННЫЕ НАНОЧАСТИЦАМИ ZnO С ИММОБИЛИЗОВАННЫМ ХЛОРГЕКСИДИНОМ, ДЛЯ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКИХ РАН

Макарец Ю.А.¹, Пермьякова Е.С.¹, Котьякова К.Ю.¹, Каршиева С.Ш.¹, Игнатов С.Г.², Штанский Д.В.¹

¹ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС», Москва

²ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Оболенск

Повреждения кожного покрова — серьезная проблема здравоохранения, охватывающая миллионы людей во всем мире. Различные нарушения метаболизма (сахарный диабет, ВИЧ, аутоиммунные заболевания, ожирение, болезни сердца/печени/почек) влияют на нормальный процесс заживления, приводя к хроническим незаживающим ранам. Вследствие неправильного ухода за раной существует риск заражения различными патогенами, которые приводят к тяжелым осложнениям и замедленному заживлению. Именно поэтому разработка новых антибактериальных повязок является актуальной задачей.

В данном исследовании был синтезирован волокнистый полимерный материал, полученный методом электроформования, нагруженный наночастицами (НЧ) оксида цинка (ZnO) в различных концентрациях (1%, 3%, 5%), с последующей иммобилизацией хлоргексидина (ХГ) на поверхности. Наночастицы ZnO были получены путем обработки ацетата цинка гидроксидом лития в смеси этиленгликоль-вода с последующим термическим разложением. Структуру и химический состав полученных материалов изучали методами сканирующей электронной микроскопии, ИК-Фурье спектроскопии, рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии, что позволило подтвердить успешное введение наночастиц ZnO в структуру полимерных волокон.

Согласно полученным результатам, размер синтезированных сферических НЧ ZnO варьировал в диапазоне от 10 до 12 нм, а диаметр волокон находится в диапазоне от 300 нм до 1 мкм. Анализ ЭДС подтверждает, что основными компонентами волокон являются углерод, кислород и цинк. Также показано, что с увеличением введенного масс. % ZnO атомная концентрация возрастает до 1,1%, 2,7%, 3,9% соответственно. Успешное введение НЧ

ZnO и дальнейшее присоединение ХГ доказано методом ИК-Фурье спектроскопии. С увеличением концентрации НЧ ZnO КУС водой незначительно снижается, но поверхность остается также гидрофобной. Дальнейшая модификация ПКЛ карбоксильными группами и ХГ приводит к увеличению смачиваемости материала.

Результаты биологических тестов подтверждают перспективность, высокую бактерицидную и пролиферативную активность разработанных повязок. В ходе исследования был разработан модифицированный НЧ ZnO и ХГ волокнистый материал ПКЛ с большим потенциалом для заживления ран. Такая платформа обладает повышенной бактерицидной активностью.

Данная работа показывает перспективность использования композита в различных биомедицинских приложениях, в том числе в качестве заживляющей повязки.

Благодарность. Данная работа была поддержана Российским научным фондом (грант №24-79-10121).

ФОТОПЕРЕКЛЮЧАЕМЫЕ БИОАКТИВНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И ИХ ЛЮМИНЕСЦИРУЮЩИЕ НАНОГИБРИДЫ ДЛЯ ФОТОФАРМАКОЛОГИИ

Маньшина А.А.¹, Егорова А.В.², Пилип А.Г.², Бикбаева Г.И.¹, Доленко Т.А.³, Панькин Д.В.¹, Колесников И.Е.¹.

¹ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

² ФГБУН «Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр» РАН, Санкт-Петербург

³ ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Физический факультет, Москва

Разработка способов контролируемого управления биоактивностью лекарственных средств является ключевым фактором в становлении принципов прецизионной медицины, которая базируется на адаптации лекарственных препаратов и времени их терапевтического воздействия с учетом особенностей пациента. Фотофармакология — перспективный современный подход, способный предложить эффективные решения для концепции прецизионной медицины. Базовые принципы фотофармакологии, в основе которых лежит управление биологической активностью соединений за счет оптического воздействия, позволяют подбирать длительность и величину терапевтического воздействия лекарственного средства индивидуально с учетом особенностей каждого пациента. В этом случае оптическое излучение является внешним управляющим фактором, контролируемым образом изменяющим величину биологической активности и реализующим различные сценарии фотофармакологии.

В докладе будет представлен новый класс фотофармакологических соединений, обладающих одновременно и фоточувствительностью, и биологической активностью, что выгодно отличает их от классических представителей, полученных на основе комбинаций «фотопереклключатель+фармакофор». Разработанные нами соединения (представители тиазолтриазолов, аминомалонатов и винилфосфонатов) изменяют величину биоактивности (в нашем случае способность ингибировать бутирилхолинэстеразу) в результате конформационных изменений под воздействием оптического излучения [1–3]. Полученные соединения характеризуются высокой разницей величины биоактивности (до 80%) в облученном и необлученном состо-

янии, что является ключевым требованием для решения задач фотофармакологии.

Кроме того, нам удалось впервые синтезировать мультифункциональные гибридные наноструктуры, представляющие собой фотопереклключаемое биоактивное соединение, конъюгированное с наноразмерным носителем (углеродные квантовые точки, оксидные частицы с РЗИ), обеспечивающим дополнительные функциональные свойства, в частности, люминесценцию. Полученные гибриды продемонстрировали свои фотопереклключаемые биоактивные свойства и возможность визуализации их локализации не только на модельном объекте — куриной грудке, но и на биологических тест системах — дафниях и парameциях (инфузориях) [4, 5].

Литература

1. Kolesnikov I., Khokhlova A., Pankin D. et al. *New J. Chem.*, 2021, 45, 15195–15199.
2. Pankin D., Khokhlova A., Kolesnikov I. et al. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2021, 246, 118979.
3. Bikbaeva G., Egorova A., Sonin N. et al. *ChemPhotoChem*, DOI:10.1002/cptc.202300131.
4. Bikbaeva G., Pilip A., Egorova A. et al. *Nanomaterials*, 2023, 13, 2409.
5. Bikbaeva G., Pilip A., Egorova A. et al. *Nanoscale Advances*, 2024, DOI: 10.1039/D4NA00389F.

Источники финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, проект № 22-13-00082.

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ УГЛЕРОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИАЗОТИСТЫХ ГЕТЕРОЦИКЛОВ

Миколайчук О.В.^{1,2}, Протас А.В.^{1,2}, Попова Е.А.^{1,2}, Молчанов О.Е.², Шаройко В.В.^{1,2}, Семенов К.Н.^{1,2}
¹ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

²ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Одним из способов повышения специфичности и биосовместимости цитостатиков является получение конъюгатов лекарственных препаратов с углеродными наночастицами. Могут быть использованы различные наночастицы, такие как фуллерены, нанодIAMANTы, графен и его формы, углеродные нанотрубки, а также полимерные структуры, липосомальные формы и т.д.

Данная работа посвящена синтезу, идентификации и оценке биологической активности нового нековалентного конъюгата на основе оксида графена и [5-{{[4,6-ди(азирин-1-ил)-1,3,5-триазин-2-ил]амино}-2,2-диметил-1,3-диоксан-5-ил}метил[5-фенил-2H-тетразол-2-ил]ацетата.

Показано, что синтезированный наноконъюгат гемосовместим во всем изученном диапазоне концентраций (10–100 мМ) и проявляет антирадикальную активность. Кроме того, конъюгат проявляет цитотоксичность в отношении клеточных линий A549 и HeLa со значениями IC_{50} 4,0 и 73,7 мМ, соответственно.

Источники финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации (государственное задание по теме «Создание и оценка противоопухолевой активности конъюгатов неанелированных 1,3,5-триазинил-тетразолов с молекулами адресной доставки к мишеням клеток опухоли микроокружения»).

МУЛЬТИТАРГЕТНЫЕ АНТИПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ПЛАТИНЫ И РУТЕНИЯ С СУБСТАНЦИЯМИ ЛОНИДАМИН И БЕКСАРОТЕН

Назаров А.А.

ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Химический факультет, Москва

Платиновые комплексы являются высокоэффективными химиотерапевтическими лекарственными средствами в терапии злокачественных новообразований, однако их использование ограничивают недостаточная селективность, приобретённая или первичная резистентность и большое количество побочных эффектов. Координационные и металлоорганические соединения рутения рассматриваются как возможная альтернатива классических платиновых лекарственных средств, но обладающие меньшими побочными эффектами и действующими на платина-резистентные опухоли [1, 2].

Нами разрабатываются синтетические подходы к конструированию соединения Pt(IV), Ru(III) и Ru(II) которые были использованы как платформы для введения фрагментов фармакологических субстанций. В качестве селективных биологически активных молекул были выбраны: Лонидамин (ингибитор аэробного гликолиза) и Бексаротен (агонист ретиноидных X-рецепторов).

Лигандное окружение непосредственно влияет на противоопухолевую активность и специфичность комплексов и металлоорганических соединений. Новые соединения проявляют высокую антипролиферативную активность в экспериментах *in vitro* и противоопухолевую активность в экспериментах *in vivo* и подавляют активность рак-специфичных ферментов. В ряду комплексов Pt(IV), Ru(III) и Ru(II) выявлены соединения-лидеры.

Литература

1. Antonets A.A., Voroshilkina K.M., Shutkov I.A. et al. Mendelev Communications, 2024, 34, 74.
2. Shutkov I.A., Okulova Y.N., Mazur D.M. et al. Pharmaceutics, 2023, 15, 1366

Источники финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, проект 22-63-00016.

СОЗДАНИЕ ТЕРАНОСТИКОВ НА ОСНОВЕ ДНК-СВЯЗЫВАЮЩИХ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ КРАСИТЕЛЕЙ

Папонов Б.В.¹, Здерева П.С.², Соколова А.Н.¹

¹ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

²Средняя общеобразовательная школа № 280 им. М.Ю. Лермонтова, Санкт-Петербург

Соли азолаозиния, содержащие узловой кватернизованный атом азота и один или два 4-диметиламиностирильных заместителя в азиниевом фрагменте молекулы, были получены в результате 3-стадийных синтезов, исходя из соответствующих аминокислот путём их последовательных конденсаций с ацетилацетоном и соответствующими ароматическими альдегидами.

Синтезированные соединения обладают выраженными тераностическими свойствами. Они одновременно являются люминесцентными клеточными красителями и обладают высокой цитотоксической активностью по отношению к широкому ряду линий онкотрансформированных клеток. В водных растворах полученные вещества обладают высокоинтенсивными полосами поглощения в области 500–540 нм для моностирилзамещённых и 600–640 нм для бисстирилзамещённых молекул. Максимумы полос флуоресценции проявляются в области 620–650 нм для моностирилзамещённых и 720–740 нм для бисстирилзамещённых молекул. Значения стоксова сдвига лежат в диапазоне 3750–4000 см⁻¹. Все синтезированные соединения обладают способностью образовывать устойчивые комплексы с макромолекулами ДНК. Эти комплексы обладают более глубокой окраской и более интенсивными полосами поглощения по сравнению с исходными растворами азолаозиниевых солей.

Предположительно, наши соединения обладают редким типом связывания с ДНК — встраиванием в большую борозду макромолекулы. Такой тип связывания более характерен для ДНК-белковых взаимодействий. Из низкомолекулярных соединений такой тип связывания хорошо изучен только для красителя Метилового Зелёного. Соли азолаозиния, изучаемые нами, могут быть успешно использованы в качестве флуоресцентных клеточных красителей. При

этом в клетках визуализируются такие ДНК- и РНК-содержащие органеллы, как митохондрии и ядрышки, а ДНК-белковые комплексы хроматина не окрашиваются, что является общим свойством для люминесцентных цианиновых красителей, содержащих кватернизованный атом азота в гетероциклическом ядре и диметиламиностирильный радикал. По результатам МТТ, все синтезированные соединения обладают выраженной цитотоксической активностью по отношению к ряду онкотрансформированных клеточных линий. Цитотоксичность может изменяться в зависимости от типа клеточной линии и наличия тех или иных заместителей в исследуемом соединении, но в целом превосходит соответствующие значения IC₅₀ для доксорубина и цисплатина, выбранных в качестве препаратов сравнения.

Источники финансирования. Работа была выполнена при поддержке госзадания «Создание препарата на основе наноформинновационных синтетических противоопухолевых антибиотиков, включающих гетероциклические системы с кватернизованным атомом азота и стирильными фрагментами в виде конъюгатов с векторами адресной доставки к микроокружению опухоли». Регистрационный номер ЕГИСУ: 1023022200055-4-3.2.21; 3.1.3.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПОКРЫТИЙ ДЛЯ БИОРЕЗОРБИРУЕМЫХ МАГНИЕВЫХ СПЛАВОВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Плегунова С.В., Абакумов М.А., Комиссаров А.А.

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС», Москва

В связи с увеличением частоты возникновения переломов потребность в материалах для ортопедических имплантатов значительно возрастает. Металлические сплавы на основе магния в настоящее время представляют собой новое поколение биорезорбируемых металлических материалов с отличными свойствами остеоинтеграции. Магниевого сплавы являются кандидатами для использования в качестве медицинских биорезорбируемых имплантатов, так как они обладают модулем Юнга и плотностью, близкими к таковым кортикальной кости. Модуль упругости и плотность сплавов составляют 41–45 ГПа и 1,74–2,0 г/см³, а эти показатели костной ткани — 3–30 ГПа и 1,807–2,0 г/см³. Процесс регенерации костной ткани занимает минимум 12 нед, и большинство ортопедических имплантатов на основе магния могут деградировать в течение этого периода. Именно поэтому возникает необходимость повышения коррозионной стойкости сплавов на основе магния. Возможным методом повышения коррозионной стойкости сплава без изменения механических свойств материала является нанесение защитных покрытий. Дополнительно к предотвращению коррозии покрытия также могут служить для доставки лекарств на поверхность биомедицинских имплантатов на основе магния. Синтетические алифатические полиэфиры, такие как полимолочная кислота (PLA), полимолочно-гликолевая кислота (PLGA), поликапролактон (PCL), полиэтиленгликоль (PEG) представляют собой перспективные покрытия на подложки из магниевого сплава для контроля начальной скорости резорбции. В данной работе проводилась предварительная обработка горячей щелочью для создания гидроксильных групп на поверхности магниевого сплава. В работе в качестве силанового связующего агента использовался «APTES» (3-аминопропилтриэтоксисилан).

Силановое покрытие наносилось в растворе толуола в течение 24 ч при 70°C. Для получения полимерного покрытия методом погружения использовались полимеры (PCL и PLA), растворенные в дихлорметане, с получением 1 масс.% полимера в растворе.

В работе было установлено, что покрытия снижают интенсивность выделения газообразного водорода в процессе коррозии в растворе Хенкса в течение 8 суток. Силановое покрытие, содержащее APTES, имело самый низкий уровень выделения газообразного водорода, скорость коррозии составила 0,2 мм в год. Таким образом, полимерные покрытия с предварительно нанесенным на поверхность магниевого сплава системы Mg-Ga-Zn силаном можно считать перспективными кандидатами для повышения коррозионной стойкости магниевого сплава и рекомендовать для дальнейших испытаний.

Источники финансирования. Коррозионные испытания проведены в ходе реализации стратегического проекта рамках Программы стратегического академического лидерства «Приоритет 2030» в НИТУ «МИСИС».

ГИБРИДНЫЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ПЛАЗМОННЫЕ НАНОСТРУКТУРЫ ТИПА ЯДРО-ОБОЛОЧКА ДЛЯ ЗАДАЧ ФОТОМЕДИЦИНЫ

Поволоцкий А.В., Соловьева Е.В., Лукьянов Д.А., Конев А.С.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Институт химии, Санкт-Петербург

В настоящее время методы фотомедицины активно развиваются как за счет развития лазерной техники, так и в результате разработки новых фотоактивных материалов, в том числе гибридных наночастиц. Наноструктурированные системы обладают рядом преимуществ, обеспечивающих реализацию уникальных функциональных свойств: возможность создавать универсальные платформы для решения различных задач фотомедицины как по отдельности, так и комплексно; синергетический эффект позволяет существенно улучшать параметры фотоактивных материалов; управление свойствами наночастиц за счет изменения состава.

Настоящая работа направлена на разработку универсальной платформы на основе гибридных молекулярно-плазмонных наночастиц. В качестве плазмонных структур используются наночастицы серебра, золота, меди, а также их сплавов, что позволяет изменять максимум плазмонного поглощения в диапазоне от 400 до 650 нм. Возбуждение плазмонных наночастиц позволяет реализовать несколько процессов: локальный нагрев для осуществления гипертермии клеток, усиление сигналов комбинационного рассеяния света (обнаружено усиление до 8 порядков) и флуоресценции (обнаружено усиление в 16 раз) молекул.

Молекулярные системы в составе гибридных наночастиц используются для фотосенсибилизированной генерации синглетных форм кислорода и реализации флуоресцентных меток. В данной работе использовались порфирины и их производные, а также порфириновые диады. Уникальные свойства порфириновых производных позволяют менять вероятность путей релаксации и, как следствие, использовать их либо для задач фотодинамической терапии, либо для задач биовизуализации.

Особенностью взаимодействия плазмонных наночастиц и молекул флуорофоров является

тушение флуоресценции при их непосредственном контакте. Поэтому важной задачей в гибридных структурах является контроль расстояния между поверхностью металлических наночастиц и флуорофорами. Это расстояние задается толщиной оболочки металлического ядра. Для формирования оболочки в работе используются полимерные материалы и диоксид кремния.

Источники финансирования. Исследования проведены с использованием оборудования ресурсного центра Оптические и лазерные методы исследования вещества Научного парка СПбГУ. Работа поддержана Санкт-Петербургским университетом в рамках финансирования научной лаборатории под руководством молодого ученого (ID: 94031307) и грантом РНФ № 23-22-00202.

ТЕТРАЗОЛЫ И 1,3,5-ТРИАЗИНЫ ДЛЯ БИОМЕДИЦИНЫ

Попова Е.А.^{1,2}, Протас А.В.^{1,2}, Миколайчук О.В.^{1,2}, Шаройко В.В.^{1,2,3}, Семенов К.Н.^{1,2,3}, Островский В.А.⁴, Молчанов О.Е.², Майстренко Д.Н.²

¹ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

²ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова» Минздрава России, Санкт-Петербург

³ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

⁴ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)», Санкт-Петербург

Полиазотистые гетероциклы тетразолы и 1,3,5-триазины являются важными фармакофорными фрагментами, которые активно используются в медицинской химии при разработке лекарственных средств различного терапевтического действия. В ряду перспективных направлений применения тетразолов находятся антигипертензивные средства (сартаны), антибактериальные и антигистаминные препараты. Биоизостеризм, метаболическая стабильность, малая токсичность и способность участвовать в образовании водородных связей обуславливают исключительную роль тетразольного цикла в структурах активных фармацевтических субстанций лекарственных средств.

Симметричный 1,3,5-триазиновый цикл является удобным скаффолдом, варьируя заместители во 2-, 4- и 6-ом положении которого, возможно получать биологически активные соединения, например, с высокой противоопухолевой активностью (алтретамин, третамин, азациитидин, энаседениб, гедатолисиб, бимиралисиб). Цитотоксическая активность данных соединений может быть обусловлена действием на различные биологические мишени опухолевых клеток (ДНК, киназы и др.).

Источники финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства здравоохранения РФ (государственное задание по теме «Создание и оценка противоопухолевой активности конъюгатов неанелированных 1,3,5-триазилил-тетразолов с молекулами адресной доставки к мишеням клеток опухоли микроокружения»).

ПРИМЕНЕНИЕ УГЛЕРОДНЫХ НАНОСТРУКТУР В БИОМЕДИЦИНЕ (НА ПРИМЕРЕ ПРОВЕДЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ)

Семёнов К.Н.¹⁻³, Кукалия О.Н.¹, Мурин И.В.², Молчанов О.Е.³, Майстренко Д.Н.³, Шаройко В.В.¹⁻³

¹ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

³ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Анализ литературы показывает, что в настоящее время проходят испытания наночастицы различной природы, однако наноструктурам углерода отводится особое место. Это обусловлено их уникальным строением, физико-химическими и биологическими свойствами [1, 2].

В докладе систематизированы имеющиеся данные по возможностям практического применения углеродных наноструктур. Большое внимание 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 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 углеродных материалов.

Следует отметить, что перечисленные направления практического использования наночастиц относятся к области наномедицины. Наномедицина — это использование для специфической диагностики или терапевтических целей таких материалов, для которых по крайней мере одно из измерений, влияющее на их функции, лежит в интервале 1–100 нм [1].

Литература

1. Semenov K.N., Ageev S.V., Kukaliia O.N. et al. Application of carbon nanostructures in biomedicine: realities, difficulties, prospects // *Nanotoxicology*. 2024, V. 18 (2), P. 181–213.

2. Sharoyko 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. V. 323. P. 114990.

Источники финансирования. 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).

БИОМЕХАНИЧЕСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ ГИБРИДНОЙ ПОЛИМЕРНОЙ СТРУКТУРЫ, ВОСПРОИЗВОДЯЩЕЙ СВОЙСТВА НАТИВНЫХ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ

Трухачева Д.Ю.¹, Каршиева С.Ш.^{1,2}, Сарыглар Р.Ю.^{1,3}, Сенатов Ф.С.¹

¹ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС», Москва

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

³ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва

Около 40% всех смертей приходится на долю сердечно-сосудистых заболеваний. Рынок имплантатов кровеносных сосудов сейчас достаточно обширен, но большинство представленных на рынке протезов имеет ряд недостатков. Существующие имплантаты созданы в основном из политетрафторэтилена (ПТФЭ), который обладает механическими свойствами, сильно отличающимися от свойств нативных тканей. Кроме того, в области протезов малых диаметров из ПТФЭ очень хорошо адгезируются гладкомышечные клетки, которые хаотично нарастают и провоцирует изменение диаметра, а именно его сужение. Последним недостатком существующих протезов, который обозначают сосудистые хирурги, является нарост соединительной ткани в местах крепления имплантата, который приводит к прекращению передачи пульсации по всей длине имплантируемого материала.

Для решения данных проблем предложена модель создания тканеинженерной конструкции из термопластичного полиуретана (ТПУ) в качестве матрицы с последующим заселением клетками матрицы. Механические свойства выбранного материала ближе к нативным тканям, чем у ПТФЭ, он является также биосовместимым и инертным. Методом центробежного литья из раствора создан цилиндрический образец диаметром 2 см с системой открытых пор. Пористость образцу придавалась для комфортного культивирования клеток при помощи порообразователя (NaCl). Образец культивировался в течение месяца в биореакторе с клетками в питательной среде. Проверку адгезивности клеток проводили через 15 и 30 дней при помощи гистологических срезов и микроскопических исследований. Для идентификации фикси-

рованных клеток была проведена окраска гистологических срезов гематоксилином и эозином.

На микроскопических срезах образцов видно, что клетки благополучно адгезируются как на внешней, так и на внутренней стенке образца. Также видно, что клетки начали постепенно проникать в глубь стенок образца.

Данное исследование закладывает начало для создания нового вида протезов, которые будут представлять тканеинженерную конструкцию, наиболее близкий аналог нативных тканей.

Источники финансирования: Приоритет 2030.

ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НЕТКАНЫХ ВОЛОКНИСТЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИЛАКТИДА С ДОБАВЛЕНИЕМ ПОЛИКАПРОЛАКТОНА В ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

Хан О.И.¹, Карпова С.Г.², Хан И.И.^{1,3}, Покровский В.С.^{1,3}, Ольхов А.А.^{2,4}

¹ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва

²ФГБУН «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля» РАН, Москва

³ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

⁴ФГБОУ ВО «Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова», Москва

Нетканые волокнистые материалы (НВМ) на основе полилактида (ПЛА) и поликапролактона (ПКЛ) имеют огромный потенциал в биомедицинском и фармацевтическом использовании: импланты, тканевые каркасы, системы адресной доставки и контролируемого высвобождения лекарственных препаратов. ПЛА — биodeградируемый, биосовместимый материал с высокой механической прочностью, единственным недостатком которого является термическая неустойчивость, устранить её можно добавлением ПКЛ. ПКЛ — также биodeградируемый, биосовместимый материал, но, в отличие от ПЛА, более термоустойчивый и высокоадгезивный. Оба агента проявляют малую токсичность к клеткам. Актуальной задачей становится смешение двух полимеров и изучение свойств композитов.

Цель исследования: изучение цитотоксической активности композитов на основе ПЛА и ПКЛ разного количественного состава.

Для получения материалов готовили формовочные растворы ПКЛ и ПЛА в хлороформе, ПКЛ в композите с ПЛА содержалось от 10 до 90%. НВМ получали методом электроформования с помощью однокапиллярной установки. Цитотоксичность оценивали МТТ-тестом на культурах клеток человека: рака толстой кишки SW-620, глиобластомы U87MG и рака молочной железы MCF7 (получены из биобанка НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина). При добавлении ПКЛ (10%) в ПЛА отмечали повышение термоустойчивости, как и прогнозировали. Цитотоксичность полученных материалов тоже менялась: чистые материалы были мало токсичными, при значениях выживаемости клеток: 68,3% (MCF7), 108,1% (SW620), 76,4% (U87MG) для ПЛА и 79,9% (MCF7), 86,4% (SW620), 86,8% (U87 MG) для ПКЛ. Добавление ПКЛ к ПЛА понижало

выживаемость клеток SW620 до уровня выживаемости при использовании чистого ПКЛ, выживаемости составляли от 81% до 88% ($p=0,29$ для композита 20%ПЛА+80%ПКЛ в сравнении с чистым ПКЛ). В культуре клеток U87MG смешение обоих полимеров приводило к усилению цитотоксических свойств, материал состава 70%ПЛА+30%ПКЛ был наиболее цитотоксичным, а выживаемость клеток составила 50,6% (без достижения статистической значимости, $p=0,75$ и $0,37$ по сравнению с ПЛА и ПКЛ, соответственно). Повышение цитотоксичности ПЛА отмечали и в культуре клеток MCF7 при добавлении ПКЛ, при этом эффект зависел от концентрации: материал состава 10%ПЛА+90%ПКЛ вызывал гибель 43% клеток ($p<0,05$ по сравнению с ПЛА и ПКЛ).

Полученные результаты показывают повышение цитотоксических свойств ПЛА при смешении с ПКЛ, что дает возможность рассмотреть их противоопухолевое применение.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НАНОЧАСТИЦ ФЕРРИТА КОБАЛЬТА НА РЕАЛИЗАЦИЮ ЭФФЕКТА ПАМЯТИ ФОРМЫ В КОМПОЗИЦИОННОМ МАТЕРИАЛЕ НА ОСНОВЕ ПОЛИЛАКТИДА В КОНТЕКСТЕ СОЗДАНИЯ АДАПТИВНЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

Черемных А.И., Никитин А.А., Ковалева П.А., Львов В.А., Сенатов Ф.С.

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС», Москва

Технология 4D-печати объединяет метод 3D-печати и материалы, способные со временем изменять свою форму. Такая технология перспективна для биомедицинских приложений, так как позволит создавать медицинские устройства, адаптированные к индивидуальным потребностям пациента, и контролировать их структурные изменения. В качестве материалов для 4D-печати применяются полимеры с эффектом памяти формы (ЭПФ), которые могут восстанавливать свою первоначальную форму под воздействием различных стимулов, таких как тепло, магнитное поле, изменение pH или влажность. В контексте использования таких материалов в человеческом организме наиболее эффективным способом является индукционный нагрев термопластичного полимерного композита с магнитными частицами, который не наносит повреждений тканям человека и воздействует только на магнитные частицы в материале.

Данная работа посвящена разработке перспективных материалов с памятью формы на основе полилактида (ПЛА) и наночастиц феррита кобальта (CoFe_2O_4 , НЧ ФК). Методом экструзии получены композиционные материалы (КМ) на основе ПЛА с различным содержанием НЧ ФК (1, 5, 10% масс.). Степень кристалличности образцов чистого ПЛА и ПЛА/ФК (1 и 5% масс.) не превышала 8,1%. Однако для композиционного материала с 10% масс. НЧ ФК значение степени кристалличности составило 27,0%. Отмечено, что степень кристалличности полимерной матрицы возрастает с увеличением доли наполнителя в КМ. НЧ ФК выступали в качестве центров кристаллизации и образования дополнительной жесткой неподвижной фазы, определяющей параметры ЭПФ. Температура начала восстанавливаемой деформации уменьшалась по мере увеличения массовой

доли НЧ ФК в матрице ПЛА и снижения температуры стеклования. Величина реактивных напряжений при реализации ЭПФ возрастала с увеличением массовой доли НЧ и достигала 3,6 МПа при максимальной концентрации наполнителя. Активация ЭПФ в КМ была достигнута путем воздействия высокочастотного переменного магнитного поля (ВЧПМП). Композиты ПЛА/ФК продемонстрировали высокую скорость нагрева и коэффициент восстановления формы >84%. Исследованные *in vitro* образцы КМ не оказывают значимого цитотоксического эффекта и не влияют на пролиферативную активность мезенхимальных стволовых клеток мыши, а вытяжки из образцов не способствуют гемолизу, за исключением КМ, содержащего 10% масс. НЧ ФК.

Данный материал является перспективным для создания адаптивных медицинских устройств, таких как фиксаторы мягких тканей и самопозиционирующиеся костные имплантаты.

Источники финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (№ 21-73-20205).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОРТОГОНАЛЬНЫХ КЛИК-РЕАКЦИЙ ДЛЯ СОЗДАНИЯ МАТЕРИАЛОВ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Шаройко В.В.¹⁻³, Мурин И.В.², Молчанов О.Е.³, Майстренко Д.Н.³, Семёнов К.Н.¹⁻³

¹ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

³ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Термин «биоортогональные клик-реакции» обозначает быстрые химические реакции, которые могут протекать внутри живых систем, не мешая естественным биохимическим процессам. Биоортогональные клик-реакции протекают между двумя молекулярными компонентами, характеризуются универсальностью, высокой селективностью, не требуют использования катализатора, протекают количественно в физиологических условиях без образования побочных продуктов и с высокой скоростью. При этом используемые реагенты характеризуются химической и биологической инертностью по отношению к компонентам клетки и высокой биосовместимостью. Экспериментальные подходы клик-химии привели к изменению парадигмы в науках о жизни, показав, что биоортогональные клик-реакции могут происходить на поверхности живых клеток, в цитоплазме клеток или даже внутри целого организма.

В докладе систематизированы имеющиеся данные по возможностям применения биоортогональной клик-химии в создании биоматериалов медицинского назначения, которые находят применение в тканевой инженерии, разработке средств диагностики, терапии и тераностики широкого спектра заболеваний.

С помощью подходов клик-химии *in vitro* можно селективно маркировать клеточные биомолекулы-мишени (белки, липиды, нуклеиновые кислоты), изучать взаимодействие лекарственных средств в живых клетках. Клик-химия *in vivo* позволяет проводить селективную молекулярную визуализацию и контролировать доставку лекарств, манипулирование молекулярно-клеточными процессами в опухолевых клетках и микроокружении опухоли. Клик-реакции *ex vivo*

перспективны для разработки молекулярных инструментов для изучения развития и дифференцировки клеток и тканей, выяснения механизмов патогенеза заболеваний и терапевтического мониторинга.

Таким образом, в последние годы результаты проведенных исследований демонстрируют, что биоортогональная клик-химия стала ценным инструментом в молекулярной и клеточной биологии, медицинской химии, биомедицинском материаловедении и других науках.

Источники финансирования. 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).

СИНТЕЗ, БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ КОНЬЮГАТОВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ НА ОСНОВЕ ТИАЗОЛОПИРИМИДИНОВ

Шемчук О.С.^{1,2}, Папонов Б.В.¹, Шаройко В.В.^{1,2}, Семёнов К.Н.^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

²ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова» Минздрава России, Санкт-Петербург

На сегодняшний день лекарственная противоопухолевая терапия представлена тремя направлениями: химиотерапия, таргетная терапия и иммунотерапия. Химиотерапия является неспецифическим лечением, в котором используются химические вещества, ингибирующие пролиферацию клеток за счёт воздействия на клеточные ДНК, РНК, рецепторы, метаболизм и компоненты цитоскелета. Известно, что фармакологическая активность хиназолина и родственных ему серосодержащих соединений включает противораковую, противомикробную, противосудорожную и антигиперлипидемическую активность. В последнее время исследования направлены на молекулярный дизайн и синтез новых гибридных аналогов с высокой противоопухолевой активностью путем объединения двух или более фармакофоров. Соли тиазолопиримидиниевых систем обладают свойствами ДНК-интеркаляторов и ингибиторов топоизомеразы-1, что обуславливает разработку оригинальных подходов к синтезу молекул для создания новых цитостатических препаратов.

В настоящее время в медицине активно развивается метод направленного транспорта лекарственных средств. Перспективность использования наноматериалов обусловлена их уникальными физико-химическими и биологическими свойствами. Число публикаций по получению и изучению конъюгатов на основе наноструктур и цитостатических препаратов неуклонно растёт. К настоящему времени разработаны подходы к функционализации фуллеренов, наноалмазов, графена, углеродных нанотрубок, альбумина и липосом.

Таким образом, создание новых полифункциональных систем адресной доставки ле-

карств является актуальной задачей экспериментальной токсикологии и медицинской химии и отвечает приоритету России в науке и технологиях: переход к персонализированной, предиктивной и профилактической, высокотехнологичной медицине, в том числе за счёт рационального применения лекарств (прежде всего антибактериальных) и использования генетических данных и технологий. Целью работы является создание новых перспективных материалов для адресной доставки лекарств на основе липосомальных форм соединений класса тиазолопиримидинов, обладающих противоопухолевой активностью и низкой системной токсичностью.

В работе представлен комплекс данных по изучению биосовместимости новых соединений, относящихся к классу тиазолопиримидинов, а также конъюгатов на их основе; изучение биологической активности и токсичности на моделях *in vitro*, включая цито- и генотоксичность, пролиферацию, миграцию, эндоцитоз, анализ клеточного цикла, стабильность.

Источники финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства Здравоохранения Российской Федерации (государственное задание по теме «Создание препарата на основе наноформ инновационных синтетических противоопухолевых антибиотиков, включающих гетероциклические системы с кватернизованным атомом азота и стирильными фрагментами в виде конъюгатов с векторами адресной доставки к микроокружению опухоли» Регистрационный номер ЕГИСУ: 1023022200055-4-3.2.21;3.1.3.

ПРОТОЧНАЯ ЦИТОМЕТРИЯ С ВИЗУАЛИЗАЦИЕЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ ВЛИЯНИЯ МИКРОПЛАСТИКА НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ МОНОЯДЕРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ

Шитикова А.М.^{1,2}, Бельских Э.С.¹, Атрощенко М.М.², Звягина В.И.¹, Матвеева И.В.¹

¹ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Рязань

²ФГБНУ «ВНИИ коневодства», Рязанская обл., пос. Дивово

Судьба частиц микропластика в организме человека и последствия их действия все еще остаются спорными и малоизученными. Эффекты частиц МП могут быть обусловлены их физическими свойствами (размером, формой, длиной), химическими свойствами (наличием добавок и типом полимера), концентрацией или слоем микробной биопленки. Мы впервые предлагаем использовать технологию Cytex[®] Amnis[®] Flowsight для оценки биологических эффектов МП на моноядерные лейкоциты (МЯЛ) периферической крови человека, которые наиболее доступны в рутинной клинической практике.

Цель нашего исследования — изучение влияния частиц полистирольного микропластика диаметром 1,7–2,2 мкм на жизнеспособность МЯЛ периферической крови при помощи проточной цитофлуориметрии с визуализацией.

В пилотное исследование включили 6 здоровых добровольцев. Взятие крови осуществляли с использованием пробирок Vacutainer[®] CPT[™] — BD. После выделения мононуклеарных лейкоцитов полученную суспензию ресуспендировали в 1 мл среды RPMI-1640, содержащей L-глутамин и 10% эмбриональную бычью сыворотку. Затем измеряли концентрацию мононуклеарных лейкоцитов, доводили её до 500 тысяч клеток в 1 мл. Полученную суспензию делили на контрольный (без добавления микропластика) и опытный образцы (с добавлением микропластика Polystyrene Fluorescent Particles 1,7–2,2 мкм, Light Yellow, High Intensity (Spherotech, USA)) в конечной концентрации 25 мкг/мл, которые инкубировали в термостате при 37°C. Взятие биоматериала на анализ жизнеспособности происходило через 1, 2 и 4 ч инкубации. Использовали CD-45 PE (Cloud-Clone Corp.) за 15 и 7-AAD (Biolegend)

за 5 мин до конца инкубации. Цитометрические исследования проводились на проточном цитометре с визуализацией Cytex[®] Amnis[®] Flowsight (Cytex Biosciences, USA) на средней скорости потока с использованием программного обеспечения INSPIRE[®]. Анализировали 10 000 событий при помощи программного обеспечения INSPIRE[™].

Исследуемый микропластик в концентрации 25 мкг/мл приводил к снижению жизнеспособности МЯЛ крови человека после 2 ч *in vitro* инкубации. При этом на 4-м часу инкубации наблюдается наибольшее падение жизнеспособности МЯЛ при контакте с двумя и более частицами МП, что указывает на зависимость показателя жизнеспособности от числа проконтактировавших с клеткой частиц МП.

Таким образом, контакт МЯЛ более чем с одной частицей связан с большим снижением жизнеспособности, что можно исследовать методом проточной цитометрии с визуализацией.

РАЗРАБОТКА КОМПОЗИЦИОННОГО МАТЕРИАЛА С ОСТЕОИНДУКТИВНЫМИ СВОЙСТВАМИ ДЛЯ СТОМАТОЛОГИИ

Юшков А.В.

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС», Москва

Существует ряд местных и системных факторов, которые приводят к прогрессирующей утрате альвеолярной кости. Для успешной установки винтовых имплантатов требуется предварительное наращивание альвеолярной костной ткани, чтобы обеспечить большую доступную площадь поверхности для остеоинтеграции. Таким образом, исследования по разработке материалов, способствующих регенерации альвеолярной кости с предсказуемыми результатами, приобретают все большую значимость. В настоящее время трансплантация ауто-, алло- и ксеногенных тканей является наиболее часто используемой процедурой в восстановительной хирургии костной ткани. Однако применение таких трансплантатов в клинической практике связано со следующими проблемами: количество донорских тканей ограничено, они обладают неконтролируемой скоростью деградации, низкой прочностью, иммуногенностью и потенциальным риском инфицирования реципиента. Следовательно, существует острая потребность в разработке более эффективных вариантов лечения, которые будут нивелировать недостатки использования донорской ткани для регенерации кости. Актуальность использования в медицине композиционных синтетических материалов связана с возможностью устранения проблем, характерных для традиционных трансплантатов, применяемых в клинической практике, таких как ограниченное количество аллогенных донорских тканей, неконтролируемая скорость деградации, низкая прочность, иммуногенность и потенциальный риск передачи инфекций.

В ходе выполнения работы были разработаны и исследованы образцы композиционных скаффолдов для наращивания костной ткани в стоматологии, полученные методом литья из раствора с выщелачиванием частиц, на основе полилактида-ко-гликолида с включением кальций-фосфатных минеральных компонентов.

Полученные результаты позволяют сделать вывод об отсутствии у экспериментальных образцов цитотоксических и иммуногенных свойств. Доказана способность кальций-фосфатных материалов эффективно индуцировать остеогенную дифференцировку мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток пульпы зуба человека. Показана большая выраженность остеоиндукции у экспериментальных материалов по сравнению с коммерчески доступной ксеногенной костной крошкой. Исследован различный вклад в остеоиндукцию изменения ионного состава среды, вызванного кальций-фосфатным компонентом композита, и контактного взаимодействия клеток с поверхностью материала.

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ АГЕНТЫ НА ОСНОВЕ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ И ТРИТЕРПЕНОИДОВ

Алибаева Э.И.¹, Галимшина З.Р.¹, Габдуллина К.Ф.², Парфенова Л.В.¹

¹ ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр РАН, Институт нефтехимии и катализа, Уфа

² ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», Уфа

Опухолевые заболевания являются одной из главных причин смертности в мире. Традиционные химиотерапевтические препараты из-за отсутствия селективности в отношении раковых клеток обладают высокой токсичностью и побочными эффектами. Для минимизации побочных эффектов в последние десятилетия интенсивно разрабатываются нетоксичные инновационные препараты, действующие целенаправленно на злокачественные клетки, не оказывая вредного воздействия на весь организм, благодаря чему биодоступность и направленность действия лекарственных средств увеличивается на порядки. Таким образом, создание перспективных противоопухолевых средств, действующих целенаправленно на совокупность мишеней опухолевых клеток, является важной и актуальной задачей.

Одним из широко используемых соединений для доставки противоопухолевых препаратов служит природный полисахарид — гиалуроновая кислота (ГК), благодаря ее биосовместимости, биоразлагаемости и неиммуногенности. Кроме того, она является специфическим лигандом к мембранному CD44-рецептору, который сверхэкспрессируется во многих раковых клетках.

В связи с этим с целью создания перспективных средств противоопухолевого действия нами синтезированы новые производные бетулиновой и бетулоновой кислот, модифицированные по положению C-28 малеимидными линкерами (BMPS, EMCS, SMCC), которые содержат диаминовые мостики с различной длиной алкановой цепи [1,2-диаминоэтан, 1,4-диаминобутан, 1,8-диаминооктан]. Затем взаимодействием малеимидных производных тритерпеноидов с тиол-модифицированной гиалуроновой кислотой по реакции Михаэля получены амфифильные молекулы, самособирающиеся

в частицы, размеры которых были определены с помощью сканирующей электронной микроскопии и спектроскопии кросс-корреляции фотонов.

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках государственного задания Института нефтехимии и катализа УФИЦ РАН № FMRS-2022-0081.

АПТАМЕРЫ К EGFR: ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С РЕКОМБИНАНТНЫМ БЕЛКОМ И КЛЕТКОЙ

Антипова О.М.^{1,2}, Дзариева Ф.М.^{2,3}, Савченко Е.А.², Пронин И.Н.², Павлова Г.В.^{2,3}, Копылов А.М.^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Москва

²ФГАУ «НИМЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Москва

³ФГУН «Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии» РАН, Москва

Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) — основной опухолевый маркер глиобластом, злокачественных опухолей головного мозга. К EGFR опубликованы аптамеры, олигонуклеотиды, высокоаффинно связывающие мишень, «химические антитела». Однако каждая работа по отбору аптамеров использует свой набор методов исследования, что затрудняет сравнение аптамеров. Целью настоящей работы было прямое сравнение аффинности анти-EGFR аптамеров на уровнях связывания рекомбинантного белка и клеток.

Анти-EGFR аптамеры: 2'-F-замещенные по пиримидин-нуклеотидам (2'-FY-) PHK — ME07, CL4, и ДНК — U2, U31, авторские Gol1 и GR20. Методом интерферометрии биослоев показана аффинность аптамеров к рекомбинантному внеклеточному домену EGFR, для Gol1 и GR20 константа диссоциации K_d комплекса аптамер-белок ниже исходных U2, U31. Проточной цитометрией показано взаимодействие анти-EGFR аптамеров с высокоэкспрессирующими EGFR линейными клетками аденокарциномы A431, клетками глиобластомы U87.

Впервые проведено прямое сравнение пула опубликованных анти-EGFR аптамеров, что позволило выявить закономерности изменения аффинности к рекомбинантному рецептору и к высокоэкспрессирующим EGFR клеткам в зависимости от химической природы, длины и возможности образования вторичной структуры анти-EGFR аптамеров.

Источники финансирования: Работа выполнена при финансовой поддержке: гранта №75-15-2024-561 от 24.04.2024.

МОДИФИЦИРОВАННЫЕ НУКЛЕОЗИДЫ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Арнаутова А.О.^{1,2}, Берзина М.Я.¹, Елецкая Б.З.¹, Симонова М.А.¹, Стельмах К.Д.³, Миронов А.Ф.¹, Константинова И.Д.¹

¹ФГБУН ГНЦ РФ «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

²ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН, Москва

³ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева», Москва

Модифицированные нуклеозиды — важнейший класс антиметаболитов, активно используемых в медицине в качестве противоопухолевых препаратов (кладрибин, неларабин, флударабин, гемцитабин, клофарабин). Аналоги природных нуклеозидов нарушают фундаментальные процессы жизнедеятельности клетки, такие как синтез ДНК и РНК, ингибируют ключевые ферменты и индуцируют апоптоз опухолевых клеток. Разработка новых аналогов нуклеозидов с улучшенным фармакологическим профилем и расширенным терапевтическим применением остается активным направлением исследований в области лекарственной химии и онкологии. Понимание механизмов действия, взаимосвязи структуры и активности, а также путей резистентности, связанных с этими антиметаболитами, имеет решающее значение для оптимизации их клинического применения и разработки противораковых препаратов нового поколения на основе модифицированных нуклеозидов. Известно, что субстратами рекомбинантной пуриннуклеозидфосфорилазы *E. coli* является широкий спектр природных и неприродных углеводных остатков: арабинофураноза, 2-дезоксид-2-фтор-арабиноза, 2-и 3-дезоксидрибоза, что позволяет проводить реакции гликозилирования различных гетероциклических азотсодержащих оснований.

При помощи комбинированного химико-ферментативного подхода нами были получены несколько серий аналогов аденозина и гуанозина, модифицированных как по углеводному остатку, так и по гетероциклическому основанию.

Была изучена противоопухолевая активность полученных соединений *in vitro* на линиях опухолевых клеток человека: рака молочной

железы MCF-7, рака яичников SCOV3, лимфемической моноцитарной лимфомы U937, карциномы толстой кишки LS174T, немелкоклеточного рака легкого A549, лимфомы Беркитта Raji, острого Т-клеточного лейкоза Jurkat. В качестве препаратов сравнения использовали коммерческие препараты с доказанным противоопухолевым действием. Результаты МТТ-тестов показали, что среди изученных соединений наиболее цитотоксичным оказался фторированный аналог 3'-дезоксиаденозина, проявивший неизбирательную токсичность в отношении клеточных линий MCF-7, U937, LS174T, A549, Raji, Jurkat.

3,5-ЗАМЕЩЕННЫЕ ИЗОКСАЗОЛЫ, ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ И БИОИЗОСТЕРЫ КАК ПРОТОТИПЫ АНТИАГРЕГАЦИОННЫХ СРЕДСТВ

Демина О.В.¹, Беликов Н.Е.¹, Лукин А.Ю.², Варфоломеев С.Д.¹, Ходонов А.А.¹

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

²ФГБОУ ВО «МИРЭА — Российский технологический университет», Москва

Важным научным направлением в области биоорганической и медицинской химии является изучение сигнальных путей в клетках с последующим выбором вариантов формирования клеточного ответа при направленном воздействии. Регуляция системы гемостаза человека для предотвращения или лечения ее дисфункций — актуальная задача. Мишенями для антиагрегантов служат участвующие в передаче сигнала извне в тромбоцит рецепторы и ферменты: рецепторы простаноидов мембраны тромбоцита, рецепторы тромбина, фибриногена и аденозиндифосфата.

Нами были синтезированы библиотеки 3,5-замещенных 3-пиридилизоксазолов и их 4,5-дигидропроизводных с антиагрегационной активностью веществ в диапазоне 1×10^{-6} – 1×10^{-3} М, выявлены линейные и пространственные структурные ограничения, установлен механизм действия (потенциальные антагонисты рецептора тромбоксана A_2) [1–3].

Цель исследования: сравнение антиагрегационной активности серий позиционных изомеров и биоизостеров 3,5-замещенных изоксазолов с активностью основной серии для дальнейшего дизайна антиагрегационных средств.

Для этого нами были получены серии биоизостеров и позиционных изомеров для наиболее активной серии 3,5-замещенных изоксазолов. Вещества тестировали на лазерном агрегометре «Биола» (НПО «Биола», Россия) с индукторами агрегации — арахидоновой кислотой и U46619. Для всех веществ впервые определены кинетические параметры процесса агрегации — максимальная скорость и максимальная степень агрегации, получены значения IC_{50} и рассчитаны константы ингибирования. Все соединения полностью подавляли агрегацию, вызванную арахидоновой кислотой. Соединения основной серии и их позиционные изомеры подавляли агрегацию тромбоцитов,

вызванную U46619, полностью, а биоизостеры — частично. Наиболее активным скэффолдом был 3-(3-пиридил)изоксазол. Все скэффолды можно использовать для дизайна антитромбоцитарных средств.

Можно утверждать, что биоизостеры обладают другим механизмом действия, а позиционные изомеры действуют по тому же механизму, что и основная серия веществ [4]. Экспериментально показано, что IC_{50} для мужчин до 40 лет в 2–4 раза ниже, чем IC_{50} для женщин той же возрастной категории.

Литература

1. Demina O.V. et al., Rus. Chem. Bull., 2018, 67(5), 866–877.
2. Демина О.В. и др. / Патент РФ № 2565754 (20.10.2015).
3. Демина О.В. и др. / Патент РФ № 2726127 (09.07.2020).
4. Беликов Н.Е. и др. // Труды XXI ежегодной молодежной конференции ИБХФ РАН-вузы «Биохимическая физика». 15–16.11.2021 г. М.: РУДН. 2022. С. 22–29. ISBN 978-5-209.

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках Государственного задания ИБХФ РАН 2023–2024 годов (тема № 122041300210-2).

РАЗРАБОТКА И ИССЛЕДОВАНИЕ СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСОВ 9-ФЕНИЛ-СИММ-ОКТАГИДРОСЕЛЕНОКСАНТЕНА И 3-(2-ФЕНИЛЭТИЛ)-2-ТИОКСО-1,3-ТИАЗОЛИДИН-4-ОНА С В-ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ

Еримбетов К.Т.^{1,2}, Антипова Ю.Е.³

¹ФГБОУ ВО «Калужский государственный университет им. К.Э. Циолковского», Калуга

²ФГБОУ ВО «МИРЭА — Российский технологический университет», Москва

³ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России, Архангельск

Супрамолекулярные комплексы 9-фенил-симм-октагидроселеноксанта (селенопиран (СП)) и 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она (производное роданина (ПР)) с В-циклодекстрином (СКСП и ПР с В-ЦД) создавались на основе фармакологически активных соединений со спектром действия, направленных на стимулирование и нормализацию иммунной системы, обмена веществ, пролиферативных процессов, что повышает их ценность при лечении различных заболеваний, в том числе новообразований. При этом актуально для этих соединений улучшение биофармацевтических свойств (растворимость и биологическая доступность) в связи с их неудовлетворительными физико-химическими характеристикам, в частности, практически нерастворимостью в воде, что может обусловить снижение их общего фармакологического и физиологического действия.

В связи с этим одним из решений изменения физико-химических свойств является разработка на основе СП и ПР клатратных комплексов с В-ЦД в виде супрамолекулярных комплексов. Изучение образования данных СКСП и ПР с В-ЦД имеет большое практическое значение для получения новых перспективных препаратов с высокой эффективностью фармакологического действия и улучшенными биофармацевтическими свойствами.

СКСП и ПР с В-ЦД с массовыми соотношениями 1:10 и 1:5, соответственно были получены в виде мелкодисперсных подвижных порошков белого и белого с желтым оттенком цветов со средним размером частиц 24,3 и 40,5 нм с улучшенными биофармацевтическими свойствами. Раствори-

мость в воде СКСП и ПР с В-ЦД составила 0,443 г/л и 0,03 мг/мл, соответственно. Исследование относительной биологической доступности на собаках показало, что СП и ПР в составе супрамолекулярных комплексов с В-ЦД относительно исходных соединений составила 187,3% и 607,6%, соответственно. Заключение, что разработанные СКСП и ПР с В-ЦД обладают улучшенными биофармацевтическими свойствами и могут быть предложены в качестве потенциальных лекарственных средств для терапии заболеваний, в том числе злокачественных новообразований.

СИНТЕЗ И ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ N-АЦИЛГИДРАЗОНОВ ИЗ ДИАЦЕТАТА БЕТУЛИНА

Ишметова Д.В.¹, Нуриева Э.Р.², Вахитов В.А.¹, Ишмуратов Г.Ю.³

¹ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр РАН, Институт биохимии и генетики, Уфа

²ФГБОУ ВО «Уфимский государственный нефтяной технический университет», Уфа

³ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр РАН, Уфимский институт химии, Уфа

Тритерпеноиды представляют собой большую и разнообразную группу органических соединений, интерес к которым, прежде всего, обусловлен ростом использования их как субстратов для терапевтических препаратов различного назначения. Диацетат бетулина — тритерпеноид лупанового ряда, широко распространенный в различных растениях, особенно в березовой коре, обладает широким спектром фармакологической активности.

Синтезированы 8 новых N-ацилгидразонов из диацетата бетулина его низкотемпературным озонолитическим превращением в 3β,3,28-диацетоксикси-20-оксо-29-норлупан и последующей конденсацией последнего с гидразидами ряда алифатических и ароматических кислот. У ацилгидразонов, полученных на основе гидразидов с известной биологической активностью, исследовали цитотоксическую активность по способности ингибировать рост условно-нормальных клеток эмбриональной почки человека Hek293 и опухолевых клеток гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2, рака толстой кишки человека HTC-116, лейкемии THP-1, карциномы молочной железы MCF-7, аденокарциномы A549, острого T-клеточного лейкоза Jurkat и нейробластомы человека SH-SY5Y в опытах *in vitro*.

Результаты исследований показали, что производные, полученные конденсацией кетона диацетата бетулина и гидразидов изоникотиновой, никотиновой и салициловой кислот проявляют умеренную цитотоксическую активность против условно-нормальных (Hek293) и опухолевых клеточных линий HTC-116, THP-1, Jurkat. Остальные ацилгидразоны не подавляли жизнеспособность данных клеточных линий.

Источники финансирования: Работа выполнена при финансовой поддержке программы РАН «Направленный синтез низкомолекулярных

биорегуляторов на основе селективных превращений липидов, терпеноидов и стероидов» (№ 1021062311392-9-1.4.1).

ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ КОМПЛЕКСНОГО СОЕДИНЕНИЯ КОБАЛЬТА(III), КОНЬЮГИРОВАННОГО С ТАРГЕТНЫМ ПЕПТИДОМ

Камалов М.И., Немтарев А.В., Ишкаева Р.А., Даиоб К., Салахиева Д.В., Абдуллин Т.И.
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Научно-образовательный центр фармацевтики, Институт фундаментальной медицины и биологии, Химический институт им А.М Бутлерова, Казань

Комплексные соединения переходных металлов обладают разнообразными физико-химическими, биологическими и фармакологическими свойствами, которые представляют существенный интерес для разработки терапевтических и диагностических средств [1]. Таргетирование подобных комплексов путем конъюгации с биоспецифичными пептидами потенциально может усилить их эффективность и расширить области применения в биологии и медицине.

Нами были синтезированы и охарактеризованы комплексы Co(III) с диэтилентриамином (комплекс 1) и его конъюгатом с потенциальным опухоль-специфическим пептидом RGD (комплекс 2).

Методом цитофлуориметрии исследована АТФ-гидролизующая активность комплексов на клеточных линиях PC-3 и OVCAR-4. Жизнеспособность клеток оценивали с помощью резазуринового метода в микропланшетном формате. Влияние соединений на цитоплазматические уровни АФК и восстановленного глутатиона анализировали с помощью флуоресцентных индикаторов. Методом электрофореза в агарозном геле была исследована способность расщепления комплексами нуклеиновых кислот (НК) при совместной инкубации.

Действие обоих комплексов на клетки приводило к умеренному снижению содержания АТФ в диапазоне до 20%. Комплекс 1 ингибировал жизнеспособность клеток, а пептидный компонент комплекса 2 значительно усиливал эту способность. Кроме того, установлено, что обработка клеток обоими комплексами приводила к значительной индукции апоптоза и некроза в клетках OVCAR-4 пропорционально цитотоксическому эффекту. Было исследовано влияние комплексов Co(III) на окислительный статус клеток OVCAR-4.

Обработка клеток комплексами приводила к быстрому и значительному повышению уровня клеточных АФК. При этом, для комплекса 2 эффект был почти в 4 раза выше, что подтверждает усиливающую роль пептидного компонента в клеточной доставке. Комплексы 1 и 2 полностью связывали и замедляли ДНК и РНК только при приблизительно 100-кратном избытке комплексов. Сами по себе комплексы не расщепляли НК, однако было обнаружено, что в присутствии как глутатиона, так и пероксида водорода комплексы могут индуцировать значительные повреждения НК, что проявляется в понижении количества суперскрученной плазмиды и появлении ее фрагментов.

Полученные результаты служат важной основой для разработки биоактивных комплексов кобальта, конъюгированных с биоспецифическими олигопептидами.

Литература

1. Karges J, Stokes RW, Cohen SM. Metal complexes for therapeutic applications. Trends Chem. 2021;3:523–34.

Источники финансирования. Исследование выполнено за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности (проект FZSM-2022-0020).

НИТРОЗИЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ЖЕЛЕЗА С ЛИГАНДАМИ РЯДА БЕНЗОЛДИМЕТАНТИОЛА — ДОНОРЫ ОКСИДА АЗОТА (NO): СИНТЕЗ, СТРОЕНИЕ, СВОЙСТВА

Конюхова А.С.¹, Санина Н.А.^{1,2}

¹ФГБУН Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии РАН, Черноголовка

²ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Москва

Нитрозильные комплексы железа (НКЖ) с серосодержащими лигандами — перспективный класс доноров оксида азота (NO) для применения в медицинской практике [1]. В этой связи НКЖ являются перспективными соединениями для создания на их основе лекарств для терапии социально-значимых заболеваний [2].

В настоящей работе впервые синтезированы биядерные НКЖ с ароматическими дитиоловыми лигандами: 1,2-бензолдиметантиолом (1), 1,3-бензолдиметантиолом (2) и 1,4-бензолдиметантиолом (3) реакцией нитрозирования соли железа в присутствии соответствующего лиганда с выходами ~70%. Изучены строения и свойства в твердой фазе (методами элементного анализа, ЭПР-, ИК-, ЯГР-спектроскопии и квантово-химических расчетов) и в растворах (методом амперометрии в аэробных и анаэробных условиях), включая биологическую активность.

По данным амперометрического анализа с помощью сенсорного электрода amINO-700 системы “inNO Nitric Oxide Measuring System” (Innovative Instruments, Inc., Tampa, FL, USA) установлено, что синтезированные НКЖ в 1% водных растворах ДМСО при pH=7,0 генерируют NO без дополнительной активации: выделение NO при разложении комплексов наблюдается спустя 20–25 с после растворения. НКЖ 2 является более эффективным NO-донорным агентом, чем остальные представители этого ряда. Установлено, что НКЖ 1–3 в диапазоне концентраций от 0,1 до 0,001 мМ оказывают ингибирующее действие на активность ФДЭ цГМФ. При этом НКЖ 2 является лидером в данном ряду: комплекс тормозит активность фермента в концентрации 0,1 мМ на 38,8%. Для сравнения: НКЖ 3 (31,0%) и НКЖ 1 (18,0%).

Таким образом, показано, что в зависимости

от положения метандитиоловых заместителей в бензольном кольце, НКЖ в разной степени донируют NO и ингибируют активность ФДЭ цГМФ. Установлено, также, что НКЖ 2 является слаботоксичным агентом (для неопухолевых клеток IC50=380,59±10,57 для линии FetMSC и IC50=305,32±7,56 для линии Vero через 72 ч действия), несмотря на его высокую NO-донирующую активность, и поэтому может быть использован как эффективный вазодилататор — нетоксичный кардиопротектор нового поколения.

Литература

1. Huang Z, et al. Nitric Oxide Donor-Based Cancer Therapy: Advances and Prospects // J Med Chem. 2017. Vol. 60., № 8. P. 7617–7635.
2. Алдошин С.М., Санина Н.А. «Фундаментальные науки — медицине: Биофизические медицинские технологии», Т. 1. под ред. А.И. Григорьева и Ю.А. Владимирова. М.: МАКС Пресс, 2015. С. 72–102.

Источники финансирования. Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ, государственное задание № 124020500019-2.

ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ТРИФЕНИЛФОСФИНИЕВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ МАСЛИНОВОЙ И КОРОСОЛОВОЙ КИСЛОТ *IN VITRO*

Кузьмина У.Ш.¹, Спивак А.Ю.², Недопёкина Д.А.², Вахитова Ю.В.¹

¹ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр РАН, Институт биохимии и генетики, Уфа

²ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр РАН, Институт нефтехимии и катализа, Уфа

Биологические и фитохимические исследования последних лет выявили перспективную противоопухолевую активность пентациклических тритерпенов, что было подтверждено в экспериментах *in vitro* и с использованием различных животных моделей. Среди природных тритерпеновых кислот особый интерес представляют оксигенированные пента-тритерпеноиды — маслиновая и коросоловая кислоты. Учитывая трудности, связанные с низким биологическим действием и биодоступностью природных соединений, значительное внимание уделяется их структурным модификациям. Хорошие результаты в этой области получены для конъюгатов тритерпеноидов с делокализованным липофильным катионом трифенилфосфония (ТФФ⁺), который является митохондриотропным катионным соединением. Помимо этого, показано, что митохондриотропное катионное соединение F16 ([E]-4(1H-индол-3-илвинил)-N-метилпиридиний йодид) служит эффективным вектором доставки веществ в митохондрии. В данной работе проведено исследование цитотоксической активности *in vitro* конъюгатов маслиновой (MAS) и коросоловой (COR) кислот с ТФФ⁺ (COR-ТФФ, MAS-ТФФ) и F16 (COR-F16, MAS-F16) в отношении шести линий опухолевых клеток (MCF-7, HTC116, A549, HepG2, Jurkat и THP-1) и клеток неопухолевого происхождения HEK293.

Согласно полученным данным, конъюгаты кислот обладают высокой цитотоксической активностью, превышающей данный показатель исходных соединений в 50–100 раз, как установлено для клеток линий MCF-7, Jurkat and THP-1. Данные клеточные линии оказались наиболее чувствительными к действию исследуемых веществ. Последующий анализ клеточного цикла линий HEK293, MCF-7, Jurkat и THP-1 на фоне действия производных кислот показал, что вещества вызывают перераспределение клеток по

фазам клеточного цикла с увеличением доли клеток в subG1 и G1 фазах. Следует отметить, что катионные производные кислот заметно превосходили своих предшественников COR и MAS. Эффекты конъюгатов кислот с ТФФ⁺ и F16 были схожими.

Таким образом, конъюгация COR и MAS с катионами ТФФ⁺ и F16 позволила значительно увеличить цитотоксичность их производных в отношении раковых клеток. Принимая во внимание митохондриотропность катионов, наблюдаемые свойства конъюгатов кислот, возможно, обусловлены способностью этих соединений индуцировать митохондриальные нарушения и влиянием на клеточный цикл и апоптоз.

Источники финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 23-23-00098. Исследования проводились с использованием оборудования ИБГ УФИЦ РАН и ЦКП «Агидель» УФИЦ РАН.

ПРИРОДНЫЕ ПОЛИФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ДЛЯ БЛОКИРОВАНИЯ РОСТА БЕТА-АМИЛОИДА

Морозкина С.Н.^{1,2,3}, Снетков П.С.², Успенская М.В.⁴

¹ФГБУ «Санкт-Петербургский Научно-исследовательский институт Фтизиопульмонологии» Минздрава России, Санкт-Петербург

²ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет ИТМО», Санкт-Петербург

³ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова», Нальчик

⁴ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

Отложение неправильно свернутого и нерастворимого белка в отделах сердца приводит к развитию амилоидоза, и, как следствие, кардиомиопатий и смерти из-за прогрессирующей диастолической дисфункции в нерасширенном желудочке.

Одним из белков, участвующих в образовании амилоида, является транстиретин (TTR), который, связываясь с бета-амилоидом, вызывает отложения в жизненно важных органах. Однако доказана и его защитная роль, когда происходило предотвращение накопления бета-амилоида и даже его разрушение. Это указывает на то, что молекулы, блокирующие бета-амилоид, могут быть полезны для лечения амилоидоза сердца.

Из-за сложности множества молекулярных путей, участвующих в развитии и прогрессировании заболевания, для клинического применения при лечении амилоидоза сердца одобрены только тафамидис и дифлунизал. Тафамидис связывается с тетрамерной формой TTR и предотвращает его диссоциацию, необходимую для амилоидогенеза, и одобрен Европейским агентством по лекарственным средствам в 2011 г. для лечения семейного амилоидоза. Таким же механизмом действия обладает дифлунизал, однако, будучи нестероидным противовоспалительным препаратом, он имеет множество серьезных побочных эффектов.

Еще один способ блокирования развития амилоидоза — разрушение существующих амилоидных фибрилл. Антибиотик широкого спектра действия доксициклин и природная гидрофильная желчная кислота тауро-урсодезоксихолевая кислота (TUDCA, Урсодоксиколтаурин) разрушают амилоидные фибриллы, но механизмы их действия до сих пор не ясны.

Не менее 40% лекарственных препаратов, внедрённых в клиническую практику, представлены природными соединениями, так как они обладают широким спектром биологической активности с минимальными побочными эффектами, но, как правило, имеют низкую растворимость, что затрудняет их клиническое применение. Особое внимание привлекают полифенолы — они широко доступны, защищают организм от накопления и подавляют активность патогенных микроорганизмов, в сочетании с антиоксидантами блокируют повреждение клеток под действием окислительного стресса, ингибируют воспалительные цитокины IL-1, TNF-α и IL-6, и влияют на Ca²⁺АТФазу. Знание молекулярных механизмов, участвующих в развитии заболеваний, открывает путь к рациональному поиску лекарств.

Мы рассмотрим природные соединения, снижающие уровни бета-амилоида в экспериментах *in vitro* и *in vivo*, обсудим механизмы блокирования амилоидоза, а также перспективы их использования в клинической практике.

Источники финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 21-74-20093).

ПОИСК НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОГО АКТИВАТОРА КАТАБОЛИЗМА ПОЛИАМИНОВ КАК ПОТЕНЦИ-АЛЬНОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО АГЕНТА

Неборак Е.В.¹, Калдыбаева А.Б.^{2,3}, Бей Л.¹, Малмакова А.Ю.², Ю К.Ю.², Никитина Н.А.⁴, Плосконос М.В.⁵, Сяткин С.П.¹, Смирнова И.П.¹, Агостинелли Э.^{6,7}, Жданов Д.Д.⁸

¹ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва

²Институт химических наук им. А.Б. Бектурова, Алматы, Казахстан

³Казахский национальный университет им. Аль-Фараби, Алматы, Казахстан

⁴ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» Минздрава России, Москва

⁵ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Астрахань

⁶Кафедра сенсорных органов, факультет медицины и стоматологии, Римский Университет Сапиенца, Университетская больница Полиคลินิกo Умберто I, I-00161 Рим, Италия

⁷Международный фонд полиаминов, ETS-ONLUS, I-00159 Рим, Италия

⁸ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва

Биогенные полиамины (ПА) являются поликатионами, эссенциальными для клеточной пролиферации. Обмен ПА в опухолевых клетках отличается от обмена в нормальных клетках, что проявляется повышением в них уровней ПА либо за счет усиленного синтеза и/или поглощения ПА из окружающей среды, либо за счет сниженной скорости их окисления. В связи с этим обмен ПА интенсивно изучается как мишень для возможной фармакологической коррекции при онкологических заболеваниях. Окислительное дезаминирование ПА сопровождается образованием цитотоксических продуктов, таких как перекись водорода и акролеин, способных индуцировать апоптоз, что делает поиск низкомолекулярных активаторов этого процесса перспективным с точки зрения противоопухолевой терапии.

Целью данного исследования был поиск низкомолекулярных соединений среди разных химических групп, способных активировать катаболизм ПА и оказывать цитотоксическое действие на опухолевые клетки.

Материалы и методы. Изучалось действие азотсодержащих веществ из числа производных анилина, азафлуорена, азакраун-эфиров, бициклононана, бактериопурпурина, диоксaborининопиридина, дифенилпиперидина. На бесклеточном уровне проводилось исследование прямого действия веществ на интенсивность дезаминирования ПА *o*-диа-

низидиновым методом. Цитотоксичность изучалась спектрофотометрически в МТТ-тесте, тип клеточной гибели определялся с помощью проточной цитометрии. Для наиболее активного и селективного вещества 4е из группы бициклононана был проведен дополнительный МТТ-тест в комбинации с естественными ПА.

Результаты. В бесклеточной тест-системе было установлено, что наиболее мощными активаторами окислительного дезаминирования ПА были производные анилина, азафлуорена и диазабициклононана. В МТТ-тесте наибольшая цитотоксичность в совокупности с селективностью в отношении опухолевых клеток была продемонстрирована тремя производными диазабициклононана с преимущественно апоптотическим типом гибели клеток. Комбинация вещества 4е из числа диазабициклононанов в максимальной нетоксичной концентрации с естественными ПА спермидином и спермином оказала выраженное цитотоксическое действие по отношению к опухолевым, но не к нормальным клеткам. Установленный цитотоксический эффект комбинации низкомолекулярного активатора окислительного дезаминирования ПА и самих ПА является уникальным и не был показан ранее в мировой литературе. Для уточнения механизма действия вещества 4е рекомендуются дальнейшие углубленные исследования.

МИКРОФЛЮИДНЫЙ СИНТЕЗ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ

Никифоров А.И.^{1,2}, Шультейстер Г.А.²

¹ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет «ЛЭТИ» им. В.И. Ульянова (Ленина)», Санкт-Петербург

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Наночастицы (НЧ) могут выступать в качестве носителей для адресной доставки лекарств. В последние два десятилетия в качестве перспективной технологии для производства наноматериалов с точно контролируемыми свойствами в большом масштабе рассматривается непрерывный (поточный) синтез с использованием вместо объемных реакторов (ОР) микрореакторов на основе микрофлюидных чипов (МФЧ).

МФЧ на основе ПДМС изготавливался при помощи методов мягкой литографии. Для этого сначала смешивалась база ПДМС с отвердителем в массовом соотношении 10:1 и заливалась в мастер-форму, изготовленную из кремния методом фотолитографии, с макромасштабным рисунком. Для удаления пузырьков воздуха использовалось устройство дегазации на основе вакуумного наноса и эксикатора. Дегазированный ПДМС помещали в печь для отверждения на 4 ч при 60°C. Герметизацию реплики из ПДМС со стеклянной пластиной проводили в плазме воздействием токов высокой частоты.

Для микрофлюидного синтеза магнитных наночастиц (МНЧ) за основу бралась химическая реакция осаждения магнетита из сульфатов железа (II) и (III) гидроксидом аммония. Экспериментально установлено, что при достижении значения pH=8–9 происходит образование кристаллитов размером 15–20 нм. Установка, использованная для микрофлюидного синтеза, работала на принципе вытеснения реагентов из пробирок. Изучение морфологии образцов методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) для МНЧ, полученных при помощи МФЧ и в ОР, позволило сделать вывод о приблизительно одинаковых результатах. Образцы состоят из сферических НЧ с размером кристаллитов 15–20 нм и более мелких игольчатых кристаллов, которые, согласно данным рентгенофа-

зового анализа (РФА), состоят из магнетита (маггемита) и гетита, соответственно.

Анализ распределения частиц по размерам показал, что микрофлюидный способ получения МНЧ обеспечивает одномодальное распределение, по сравнению с двумодальным при классическом объемном синтезе. Кроме того, было установлено, что при микрофлюидном синтезе образуются отдельные МНЧ, состоящие из нескольких кристаллитов. При синтезе же в объемном реакторе, как правило, формируются агрегаты. По данным РФА, состав идентичен в обоих случаях, а дифрактограмма для микрофлюидных МНЧ характеризуется более высоким уровнем фоновых сигнала, что может быть обусловлено большей долей аморфной фазы в составе частиц.

Из этого можно сделать вывод, что получаемые микрофлюидным способом МНЧ более однородны по размеру и химическому составу.

ПРИМЕНЕНИЕ МНОГОКОМПОНЕНТНОЙ РЕАКЦИИ КАСТАНЬОЛИ–КУШМАНА ДЛЯ ПОИСКА НОВЫХ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ИНГИБИТОРОВ КАРБОАНГИДРАЗЫ ЧЕЛОВЕКА

Парамонова П.С.¹, Семенов К.Н.², Шаройко В.В.^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

²ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Многокомпонентные реакции (МКР) с участием иминов являются мощным синтетическим инструментом в современном органическом синтезе. Наряду с такими достоинствами МКР, как атом-экономичность, простота исполнения и высокое разнообразие получаемых молекул, введение в подобные реакции иминов открывает доступ к различным N-содержащим соединениям. Последние, в свою очередь, крайне востребованы при поиске новых и эффективных лекарственных агентов. В рамках данного исследования нами было решено применить инструментарий МКР с участием иминов в области создания ингибиторов цинкового металлофермента — карбоангидразы человека (КАЧ). Данный фермент представлен в организме человека пятнадцатью родственными по строению изоформами и катализирует обратимую конверсию углекислого газа согласно реакции: $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$. Кроме этого, повышенная экспрессия некоторых изоформ КАЧ может служить в качестве эффективного биомаркера ряда социально значимых заболеваний, среди которых глаукома, онкология, ожирение и др. По этой причине значительные усилия прилагаются к созданию низкомолекулярных агентов, способных точечно ингибировать нежелательно высокую активность КАЧ. На сегодняшний день, наиболее обширным классом ингибиторов являются соединения с первичной сульфонамидной группой ($-\text{SO}_2\text{NH}_2$), которая способна эффективно координироваться по иону Zn^{2+} в каталитической полости фермента.

Цель исследования заключалась в изучении возможности применения многокомпонентной реакции Кастаньоли–Кушмана (взаимодействие циклических ангидридов дикарбоновых кислот с имидами) в синтезе библиотек сульфонамидсодержащих соеди-

нений и оценки их биологической активности на терапевтически значимых изоформах фермента КАЧ.

В работе использовались органические растворители (ацетонитрил, метанол, диметилформамид, диметилсульфоксид), ацетат аммония, гидроксид натрия, дейтерированные растворители (DMSO-d_6 , CDCl_3). Для очистки полученных соединений использовалась препаративная обращено-фазовая хроматография на приборе Shimadzu. Идентификация соединений проводилась с использованием ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии. С помощью реакции Кастаньоли–Кушмана была синтезирована библиотека из 26 сульфонамидсодержащих δ -лактамов. Тестирование биологической активности проводилось методом остановленной струи на ряде терапевтически значимых изоформ фермента КАЧ (человеческие изоформы I, II, IX; бактериальная ECoSAB).

Ряд соединений, содержащих спироциклические фрагменты, показал высокую активность и селективность в отношении II изоформы КАЧ, ингибирование которой применяется в терапии глаукомы. Для синтеза ингибиторов КАЧ была успешно применена реакция Кастаньоли–Кушмана. Все синтезированные соединения были протестированы в отношении КАЧ, причем некоторые из них показали значительную селективность в отношении изоформ II и IX, являющихся валидированными противоопухолевыми мишенями, а также бактериальной ECoSAB.

Источники финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ № 21-73-20264: «Комплексный подход к разработке адъювантных агентов на основе ингибиторов IX изоформы карбоангидразы человека для комбинированной терапии онкологических заболеваний».

НОВОЕ ПРОИЗВОДНОЕ ХЛОРИНА ДЛЯ БИНАРНОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ЛЕЧЕНИЯ

Петрова А.С.^{1,2}, Ольшевская В.А.³, Зайцев А.В.³, Татарский В.В.⁴, Кузьмин В.А.⁵, Норио Мийоши⁶, Калинина Е.В.¹, Штиль А.А.⁷

¹ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва

²ФГБУ ГНЦ Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва

³ФГБУН «Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова» РАН, Москва

⁴ФГБУН «Институт биологии гена» РАН, Москва

⁵ФГБУН «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля» РАН, Москва

⁶Университет префектуры Фукуи, Япония

⁷ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Фотодинамическая терапия (ФДТ) является многообещающим подходом к лечению локализованного рака, основанным на введении фотосенсибилизатора с последующим действием лазерного излучения. В настоящее время различные химические классы фотосенсибилизаторов используются в клинике или проходят клинические испытания. Среди них тетрапиррольные макроциклы, которые подходят для различных химических модификаций, направленных на создание новых агентов для бинарного противоопухолевого лечения. В частности, конъюгация макроцикла хлорина е6 с полиэдрами бора — модификация, предназначенная для сенсibilизации опухоли при фотодинамической и бор-нейтронозахватной терапии (БНЗТ). Дальнейшее изучение потенциала модифицированных тетрапиррольных соединений в качестве фоторадиосенсибилизаторов позволило синтезировать производное хлорина, несущее четыре борных кластера (всего 44 атома ¹⁰B) и 16 атомов фтора на периферии макроцикла (ФБХ, фторированный тетракарборанилхлорин). ФБХ хорошо растворим в воде и обладает незначительной темновой цитотоксичностью.

Заместители фтор и бор не изменяют фоточувствительность ФБХ *in vitro*. Внутриклеточное накопление ФБХ достигает максимума к 36 ч. Освещение монохроматическим светом клеточных линий человека и грызунов, нагруженных низкими микромолярными концентрациями ФБХ, вызывает быстрый (в течение нескольких минут) фотонекроз, определяемый проникновением йодида про-

пидия в клетки. Этот эффект механистически связан с образованием супероксид анион-радикалов, зарегистрированных с помощью внутриклеточного флуоресцентного зонда.

Эксперименты *in vivo* показали, что ФБХ (вводимый внутривенно или внутривенно в дозе до 5 мг/кг) не вызывает значительной токсичности. Освещение подкожных трансплантатов меланомы В16 (сингенные мыши С57BL/6) или ксенотрансплантатов крысиной глиомы С6 у иммунодефицитных мышей после внутривенного введения ФБХ (5 мг/кг) приводит к уменьшению опухолевых очагов, замедлению роста опухоли и излечению животных. Экспериментальная БНЗТ вызывает замедление роста опухолей, происходящих из С6, по сравнению с ложно-облученными животными.

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что фоторадионекроз становится важным механизмом элиминации опухолевых клеток, если другие пути гибели не функционируют.

ИНГИБИТОРЫ АЛЬФА-АМИЛАЗ ИЗ МОРСКОЙ АНЕМОНЫ *HETERACTIS MAGNIFICA* КАК ЭФФЕКТИВНЫЕ ПЕРОРАЛЬНЫЕ АНТИДИАБЕТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ

Попкова Д.В.¹, Меньшов А.С.¹, Синцова О.В.¹, Бороздина Н.А.^{2,3}, Дьяченко И.А.^{2,3}, Гладких И.Н.¹, Лейченко Е.В.¹

¹ФГБУН «Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова» ДВО РАН, Владивосток

²Филиал ФГБУН «Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Пущино

³Пущинский филиал ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)», Пущино

На сегодняшний день сахарный диабет занимает лидирующие позиции в рейтингах самых опасных и быстро распространяющихся заболеваний человека и часто ассоциируется с высоким уровнем смертности в связи со значительным риском развития осложнений со стороны различных систем органов. Наряду с этим, использование в терапии данного метаболического расстройства современных лекарственных препаратов связано с возникновением целого ряда побочных эффектов, что в совокупности делает сахарный диабет трудно поддающимся лечению заболеванием, занимающим одно из первых мест среди причин инвалидизации. В связи с этим актуален поиск новых источников биологически активных молекул, способных влиять на задействованные в метаболизме углеводов мишени.

Выделенные из морской анемоны *Heteractis magnifica* пептидные ингибиторы α -амилазы млекопитающих, магнификамиды, продемонстрировали высокую биологическую активность в *in vitro* и *in vivo* экспериментах: Ki магнификамида-2 по отношению к панкреатическим амилазам человека и свиньи находятся в пределах 20–70 пмоль, а эффективная доза в *in vivo* моделях сахарного диабета 1-го и 2-го типа составляет 0,005 мг/кг, что в совокупности с компактной пространственной структурой, устойчивостью к воздействию протеолитических ферментов, широкому диапазону значений pH и высоких температур делает эти пептиды перспективными кандидатами для создания на их основе эффективных пероральных антидиабетических препаратов.

С целью определения отвечающих за селективность и эффективность ингибиторов

структурных детерминант с применением методов молекулярного моделирования и сайт-направленного мутагенеза было предсказано 6 мутантных аналогов магнификамидов и получены соответствующие мутантные плазмиды.

В результате подбора оптимальных условий экспрессии и выделения мутантные пептиды были наработаны в количестве 3,3–5 мг с 1 л клеточной культуры. Константы ингибирования мутантными аналогами свиной панкреатической α -амилазы определяли с использованием хромогенного субстрата CNP-G3 по уравнению Моррисона для конкурентных ингибиторов. Ki мутантных пептидов в сравнении с нативным и рекомбинантным магнификамидом-2 оказались на порядок выше, что свидетельствует о значительном вкладе гидрофобных контактов между реактивным сайтом ингибитора и а.о. вокруг активного центра α -амилазы в эффективность ингибирования фермента.

Источники финансирования: Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского Научного Фонда (проект № 21-74-20147).

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ДИЗАЙН И СИНТЕЗ КОНЬЮГАТОВ НА ОСНОВЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ И ПРОИЗВОДНЫХ 1,3,5-ТРИАЗИНА ДЛЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ

Протас А.В.¹, Миколайчук О.В.¹, Попова Е.А.¹, Майстренко Д.Н.², Молчанов О.Е.², Шаройко В.В.¹, Семёнов К.Н.¹

¹ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

²ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова» Минздрава России, Санкт-Петербург

В настоящее время в медицинской химии противоопухолевых средств активно развивается направление, связанное с разработкой конъюгатов на основе антител, связанных с активными молекулами цитостатиков. Популярность таких конъюгатов в последние годы значительно возросла в связи с их непревзойденной эффективностью и специфичностью действия в сравнении с традиционными химиопрепаратами, используемыми в онкологии. Низкомолекулярные цитостатики (цисплатин, карбоплатин, цитарабин и др.) исторически были традиционными и наиболее часто используемыми химиотерапевтическими агентами. Ввиду токсичности применяемой терапии применение моноклональных антител и конъюгатов с цитостатиками в качестве терапевтических средств стало для медицины стратегическим этапом в смене концепции лечения — от неспецифической к специфической (таргетной) терапии. Постоянное развитие новых технологий для получения в том числе мультиспецифических полифункциональных антител, улучшение их фармакокинетических характеристик, совершенствование способов доставки способствует повышению селективности и эффективности действия препаратов на их основе для терапии онкологических заболеваний.

Цель работы — разработка и синтез химиопрепарата из группы конъюгатов цитостатиков и моноклональных антител к поверхностным маркерам Т-регуляторных и супрессорных клеток миелоидного происхождения.

В **результате** данной работы проведен синтез серии производных 1,3,5-триазины, содержащих в качестве заместителей тетразолильные, 4-метилпиперидиновые, морфолиновые

и азиридиновые гетероциклические фрагменты. Физико-химическими методами (ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия высокого разрешения, рентгеноструктурный анализ и др.) доказано строение и индивидуальность полученных соединений. На основании проведенных исследований противоопухолевой активности *in vitro* на опухолевых клеточных линиях и острой токсичности *in vivo* были выявлены соединения-лидеры, проявившие самый высокий цитотоксический эффект в отношении опухолевых клеток и наименьшую токсичность в отношении здоровых клеток человека. Осуществлена конъюгация соединений-лидеров с полученными биспецифическими моноклональными антителами; проведено исследование физико-химических и биологических свойств полученных конъюгатов.

Источники финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства Здравоохранения Российской Федерации (государственное задание по теме «Создание и оценка противоопухолевой активности конъюгатов неанелированных 1,3,5-триазинил-тетразолов с молекулами адресной доставки к мишеням клеток опухоли микроокружения»).

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ИННОВАЦИОННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ОКСАЗОПТ НА ОСНОВЕ ИНГИБИТОРА КАРБОАНГИДРАЗЫ II

Романычева А.А.^{1,2}, Вольхин Н.Н.^{1,2}, Гасилина О.А.^{1,3}, Шетнев А.А.^{1,2}, Корсаков М.К.^{1,3}

¹ФГБОУ ВО «Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского», Центр трансфера фармацевтических технологий им. М.В. Дорогова, Ярославль

²ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ярославль

³ФГБОУ ВО «Российский государственный университет им. А.Н. Косыгина (Технологии. Дизайн. Искусство)», Москва

Карбоангидразы человека (КАЧ) — ферменты, участвующие во многих важнейших физиологических и патологических процессах. Их ингибирование обладает широким спектром фармакологического применения в таких областях, как антиглаукомные, антибактериальные, противоопухолевые средства.

Цель работы: синтез и оценка антибактериальных, антимоноксидазных, противовоспалительных свойств 4-[2-метил-1,3-оксазол-5-ил]-бензолсульфонамида — ингибитора карбоангидразы человека II (КАЧ II) с проектным названием Оксазопт — лекарственного кандидата для лечения глаукомы.

Разработан новый способ получения препарата-кандидата 4-[2-метил-1,3-оксазол-5-ил]бензолсульфонамида с проектным названием Оксазопт с использованием реакции диазотирования. Показана его высокая активность в тестах *in vitro* в качестве ингибитора КАЧ II.

В настоящее время наш коллектив проводит разработку и доклинические исследования лекарственного препарата в форме глазных капель. Изучены значимые для разработки лекарственного средства свойства — острая токсичность, влияние на биохимические параметры, антидепрессивное действие. Для Оксазопта методом серийных разведений и перекрестного титрования установлен сочетанный потенцированный эффект антимикробного действия карбапенемов (меропенем) и аминогликозидов (гентамицин) в отношении антибиотикорезистентных энтерококков. Зафиксирован антимоноксидазный эффект в концентрации 2 мкмоль/мл в условиях *in vitro* спектрофо-

тометрическим методом с бензиламином в качестве субстрата. Предположительно (по данным международных исследований для препарата сравнения Дорзоламида) препарат *in vitro* может подавлять сигнальную ось PKC δ (протеинкиназа С Дельта)-TIRAP (toll-interleukin 1 receptor domain containing adaptor protein)-p38 MAPK (митоген-активируемая протеинкиназа) и ослабляет воспалительную реакцию.

Проведено исследование специфической противовоспалительной активности *in vivo* в сравнении с препаратом Диклофенак на модели отека лапы, вызванного 2-Furoyl-LIGRLO-NH₂, у крыс. Показано, что в дозах 30 мг/кг Оксазопт, как и Диклофенак в дозе 25 мг/кг, практически полностью предотвращают развитие отека лапы.

Источники финансирования. Исследование было поддержано Министерством здравоохранения Российской Федерации (государственное задание 1022051100011-8-3.1.5;3.2.17).

НОВЫЙ АКТИВАТОР СИГНАЛЬНОГО ПУТИ STING: СИНТЕЗ, ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

Садовская Я.О.¹, Каримова А.О.¹, Солопова О.Н.¹, Гусев Д.В.¹, Мишина А.В.^{1,2}, Московцев А.А.^{1,2}

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей, Москва

²ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», Москва

Сигнальный путь «cGAS-STING» (Stimulator of interferon genes; стимулятор интерфероновых генов) вовлечен в развитие широкого спектра заболеваний, включая аутоиммунные заболевания и рак [1]. Активация этого пути запускает выработку интерферонов I типа, которые обладают выраженным противоопухолевым действием.

Цель работы: поиск соединений, превосходящих известные активаторы STING по противоопухолевому действию и способности индуцировать интерферон-бета, для разработки новых иммунобиологических противоопухолевых препаратов.

В результате проведенной работы получен новый перспективный агонист STING — изопропиловый эфир 5,6-диметокси-γ-оксобензо[b]тиофен-2-бутановая кислота (SAD-2). Проведена оценка его биологической активности в сравнении с известным агонистом STING - MSA-2 в экспериментах *in vitro* и *in vivo* [2]. Показано, что SAD-2 сильнее подавляет пролиферацию опухолевых клеточных линий *in vitro* при сокультивировании с иммунными клетками человека в сравнении с MSA-2, а также эффективнее индуцирует экспрессию гена интерферона-бета на клеточной линии THP-1 [3]. Проведена оценка переносимости и противоопухолевой активности нового соединения SAD-2 в сравнении с известным агонистом MSA-2 на мышинной модели C57Bl/6J. Показано, что при удовлетворительной переносимости, параметр торможения роста опухоли для SAD-2 выше по сравнению с MSA-2, однако продолжительность жизни оказалась выше у мышей, получавших MSA-2, что может быть связано с большей токсичностью SAD-2 и требует дальнейшего изучения систем доставки SAD-2 в опухоль. В настоящее время разрабатывается система направленной доставки активаторов STING к опухолевым узлам.

Литература

1. Schmitz, C.R.R., cGAS-STING pathway as a potential trigger of immunosenescence and inflammaging // *Frontiers in immunology*. 2023. № 14.
2. Pan B.S. An orally available non-nucleotide STING agonist with antitumor activity // *Science*. 2020. Т. 369. №. 6506. С. eaba6098.
3. Патент № 2811736 РФ, МПК C07D 333/64 [2006.01], A61K 31/381 [2006.01], A61P 35/00 [2006.01]. Новое химическое соединение, стимулирующее продукцию интерферона-бета человека путем активации сигнального пути STING, и способ его получения: № 2023129160: заявл. 10.11.2023; опубл. 16.01.2024 / Солопова О.Н., Гусев Д.В. 10 с.

Источники финансирования. Исследование является частью НИОКТР «Разработка нового класса противоопухолевых препаратов, основанных на таргетной стимуляции сигнального пути STING в злокачественных новообразованиях».

СИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ РУТЕНИЯ ДЛЯ ТЕРАНОСТИКИ РАКА

Шумило М.В.^{1,2}, Королев Д.В.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург

²ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет «ЛЭТИ» им. В.И. Ульянова (Ленина)», Санкт-Петербург

Исследования и разработка безопасных противоопухолевых препаратов являются центральными направлениями в лечении рака. Наночастицы рутения стали большим прорывом в этой области, поскольку обладают многими преимуществами. Главные из преимуществ — повышенная безопасность и избирательное убивающее действие на опухолевые клетки, так как рутений может транспортироваться в организме через трансферрин в крови, таким образом, обеспечивая более быстрое всасывание и метаболизм, более высокую биодоступность и меньшую системную токсичность. Наночастицы рутения обладают богатыми фотофизическими и фотохимическими свойствами, что позволяет проводить фотодинамическую терапию и фототермическую терапию рака.

Наночастицы рутения получали в несколько этапов. Рутенат калия получали следующим методом: 1) В ступке растирали смесь металлического Ru и KNO_3 ; 2) В тигле плавил KOH ; 3) К расплавленному KOH добавляли растертую смесь Ru и KNO_3 ; 4) Тигель с содержимым нагревали, постоянно помешивая в течение 1–2 ч в трубчатой печи при температуре, достаточной для того, чтобы поддерживать жидкое состояние смеси ($\approx 450\text{--}500^\circ\text{C}$); 5) Рутенат калия охлаждали до комнатной температуры; 6) Сплав рутената калия растворяли при охлаждении в минимальном количестве воды; 7) Фильтровали раствор через стеклянный фильтр под вакуумом. Синтез четырехоксида рутения и гидроксотрихлорида рутения объединили в один этап. При помощи капельной воронки вносили раствор KMnO_4 в разбавленной серной кислоте (1:2) в колбу с растворенным рутенатом калия, расположенную на водяной бане температурой 50°C . Образующийся газообразный RuO_4 поступал через холодильник, охлаждаемый проточной водопроводной водой, в две последовательно соединенные приемные колбы, расположен-

ные на ледяной бане. Приемные колбы были заполнены $\text{H}_2\text{O}:\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}:\text{HCl}$ в соотношении 1:1:1. При реагировании газообразного RuO_4 с хлороводородом в среде этилового спирта получался гидроксотрихлорид рутения с выходом 95%. Вся система протягивалась вакуумом, создаваемым перистальтическим насосом.

Наночастицы рутения были получены таким методом: 1) Ru(OH)Cl_3 смешали с гидразином гидратом в отношении 1:6 соответственно. 2) Дожидались кипения и кипятили 15 мин. В результате были получены наночастицы рутения, которые сформировали поликристалл диаметром 500 нм.

РАЗРАБОТКА ПРОТИВОМИКРОБНЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИДОКСИНА

Штырлин Н.В., Сапожников С.В., Иксанова А.Г., Агафонова М.Н., Никитина Е.В., Каюмов А.Р., Хазиев Р.М., Казакова Р.Р., Булатова Е.С., Пугачев М.В., Балакин К.В., Штырлин Ю.Г.

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань

В настоящей работе представлены результаты проводимых более двух десятилетий в научно-образовательном центре фармацевтики Казанского федерального университета исследований по разработке лекарственных средств на основе производных пиридоксина (витамина В₆), в частности противомикробных.

В 3–9 стадий синтезировано более 300 производных пиридоксина, замещенных по различным положениям природного скаффолда. По результатам скрининга *in vitro* и *in vivo* выявлены перспективные кандидаты в антибактериальное, противогрибковое, антисептическое и противотуберкулезное средство. Для трех из них (KFU-03, KFU-04, KFU-05) успешно завершены доклинические исследования в рамках ФЦП «Фарма-2020». KFU-03 является структурной модификацией фторхинолонового антибиотика ципрофлоксацина для системного применения с высокой антибактериальной активностью в отношении наиболее распространенных и опасных бактериальных патогенов, включая MRSA *S. aureus*. KFU-03 характеризуется высокой безопасностью по параметру как летальной дозы (ЛД₅₀>5000 мг/кг), так и максимально переносимой дозы (МПД>5000 мг/кг). Уникальной особенностью KFU-03 является способность преимущественно накапливаться в легочной ткани экспериментальных животных, что позволяет снизить дозу, увеличить эффективность, снизить побочные эффекты, при лечении наиболее распространенных респираторных бактериальных инфекций, особенно в педиатрии.

Четвертичное бис-аммониевое соединение KFU-04 представляет собой противогрибковое средство для наружного применения с широким спектром активности в отношении наиболее распространенных и опасных грибковых и бактериальных патогенов, включая штаммы, способные к образованию

биопленок и обладающие лекарственной устойчивостью.

Еще одно четвертичное аммониевое соединение KFU-05, представляющее собой антисептическое средство для наружного применения, обладает сопоставимой или превосходящей коммерческие антисептики бензалкония хлорид, хлоргексидин и мирамистин антибактериальной, противогрибковой, противопаразитарной, противовирусной активностью, а также активностью в отношении микробных биопленок. Важнейшей особенностью KFU-05 является отсутствие выработки резистентности патогенов при длительном пассивировании.

Изоникотиноилгидразон Ra-7 на основе 6-замещенного пиридоксина обладает высокой активностью *in vitro* и *in vivo* в отношении как музейных, так и клинических штаммов микобактерий с множественной лекарственной устойчивостью, а также большей по сравнению с изониазидом безопасностью *in vivo*.

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы» (Проект 14.575.21.0037 от 27.06.2014), ФЦП «ФАРМА-2020» (Проекты №14.N08.12.0033 от 11.06.2015, № 14.N08.11.0115 от 30.09.2016, №14.N08.11.0197 от 27.11.2017), средств субсидий, выделенных Казанскому федеральному университету для выполнения проектной части государственного задания в сфере научной деятельности №0671- 2020-0053 и №FZSM-2023-0010, а также гранта РНФ №18-73-00169.

ИЗУЧЕНИЕ RAPP-A ЗАВИСИМОГО ПРОТЕОЛИЗА IGFBP-4 ПРИ МОНОКРОТАЛИН-ИНДУЦИРОВАННОЙ ГИПЕРТРОФИИ МИОКАРДА У ВЗРОСЛЫХ КРЫС

Адашева Д.А., Артемьева М.М., Медведева Н.А., Катруха А.Г., Серебряная Д.В.

ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Биологический факультет, Москва

Заболевания сердечно-сосудистой системы (ССЗ) представляют собой основную причину смертности населения в мире. Сердечная недостаточность (СН), сопровождающаяся гипертрофией миокарда, является одним из самых распространенных ССЗ. Развитие СН сопровождают прогностические маркеры, в том числе фрагменты белка IGFBP-4 (insulin-like growth factor binding protein-4) — NT-IGFBP-4 и CT-IGFBP-4, образующиеся в результате его специфического протеолиза под действием RAPP-A (pregnancy associated plasma protein A). RAPP-A — единственная протеаза, специфично расщепляющая IGFBP-4 в физиологических условиях. Механизмы увеличения уровня протеолиза IGFBP-4 при СН изучены недостаточно, а их исследование представляет собой актуальную научную и биомедицинскую задачу.

Ранее нами было показано, что при *in vitro* индуцированной гипертрофии кардиомиоцитов повышается уровень протеолитических фрагментов IGFBP-4. Полученные данные свидетельствуют о потенциальной роли IGF-системы в развитии патологической гипертрофии миокарда. Однако выбранная ранее *in vitro* модель имеет ряд ограничений, поэтому необходим поиск *in vivo* подходов к моделированию гипертрофии миокарда, отражающих реальные процессы, происходящие в миокарде при развитии данной патологии.

В настоящей работе для *in vivo* моделирования гипертрофии использовали модель на взрослых крысах линии Wistar легочной гипертензии, индуцированной монокроталином (МКТ), который способствует развитию легочной гипертензии и гипертрофии миокарда. Из контрольных и гипертрофированных сердец были получены первичные культуры кардиомиоцитов. Содержание кардиомиоцитов, определенное методом иммуноцитохимического окрашивания с использованием

антител, специфичных к сердечной изоформе тропонина I, в полученных культурах составило 99%.

Было показано, что площадь гипертрофированных кардиомиоцитов увеличивается в 1,5 раза по сравнению с контрольными клетками. Концентрация натрийуретического пептида В, маркера СН и гипертрофии, в кондиционированной среде гипертрофированных кардиомиоцитов была повышена в 3 раза по сравнению с кардиомиоцитами, полученными из контрольных животных, что говорит о развитии гипертрофических изменений в кардиомиоцитах. Концентрация CT-IGFBP-4 в кондиционированной среде кардиомиоцитов при гипертрофии увеличилась в 1,5 раза по сравнению с контролем. Таким образом, было показано, что RAPP-A-специфичная деградация IGFBP-4 в кардиомиоцитах возрастает при *in vivo* индуцированной гипертрофии миокарда.

Источники финансирования. Работа поддержана грантом РНФ 24-25-00051, «Исследование регуляции биодоступности IGF как адаптивного механизма при гипертрофических изменениях миокарда».

ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ КОЭНЗИМА Q10 В КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ФИБРИЛЛЯЦИЕЙ ПРЕДСЕРДИЙ ПО ДАННЫМ ПИЛОТНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Балашова Н.В.^{1,2}, Гулиа Л.Д.¹, Бения Р.М.¹

¹ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский институт им. М.Ф. Владимирского» (МОНИКИ), Москва

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва

Цель. Оценить частоту встречаемости дефицита коэнзима Q10 в крови у пациентов с фибрилляцией предсердий (ФП) хронической сердечной недостаточностью (ХСН) различной степени тяжести в предоперационном периоде.

Материалы и методы. Проанализированы лабораторные показатели, характеризующие содержание коэнзима Q10 в крови в период подготовки к операции у пациентов с постоянной формой фибрилляции предсердий (ФП). В анализ включены 16 пациентов, госпитализированных в отделение хирургического лечения сложных нарушений ритма сердца и электрокардиостимуляции ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского. Для оценки содержания общего коэнзима Q10 (убихинон) в плазме крови (с гепарином) использовали метод ВЭЖХ-УФ. Выполнили оценку функции миокарда с помощью эхокардиографии.

Результаты. У 16 пациентов (4 женщин и 12 мужчин, возраст $66,1 \pm 7,4$ лет) фоновые и сопутствующие заболевания: гипертоническая болезнь — 11 человек, ишемическая болезнь сердца — 6 человек, инфаркт миокарда — 12 человек, сахарный диабет 2-го типа — 8 человек. Из них степень тяжести ХСН недостаточность кровообращения (НК) 2а диагностирована у 12 пациентов, НК 2б у 5 пациентов, НК 3 у 1 пациента; функциональный класс ХСН по NYHA (Нью-Йоркская кардиологическая ассоциация) II у 8 пациентов, III у 8 пациентов. Фракция выброса левого желудочка по данным эхокардиографии $32,2 \pm 10,7\%$. Содержание коэнзима Q10 общий (убихинон) в плазме крови составило $737,9 \pm 285,4$ мкг/л (нормативы 400–1900). Из 16 пациентов Аторвастатин принимали 4 человека (суточная доза препарата 20 мг у 3 пациентов и 40 мг у 1 пациента), при этом ни одного из принимавших не было выявлено

снижение уровня коэнзима Q10 (общего) в плазме крови. Лишь у 1 пациента (возраст 80 лет с ФП, ХСН 2Б, III ФК (NYHA), сахарным диабетом 2-го типа, фракция выброса левого желудочка по данным эхокардиографии 57%) был выявлен сниженный уровень коэнзима Q10 (общий), составивший 335 мкг/л. Именно этот пациент не принимал ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы 9 (аторвастатин). Снижение уровня коэнзима Q10 общего в данной группе обследованных пациентов составило 6,25%.

Выводы. Полученные данные пилотного исследования свидетельствуют об отсутствии влияния приема ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы (Аторвастатин) на содержание коэнзима Q10 общего (убихинон) в плазме крови. Планируется продолжение исследования.

Источники финансирования: работа выполнена в рамках НИР.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ ДЕФИЦИТ NO КАК ФАКТОР СНИЖЕНИЯ КАРНИТИНА В МИТОХОНДРИЯХ СЕРДЦА КРЫС

Бельских Э.С., Звягина В.И., Марсянова Ю.А., Урясьев О.М., Судакова Е.А., Белоглазова С.А.
ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Рязань

Предполагается, что L-карнитин, удаляя токсичные метаболиты, возможно, предотвращает развитие митохондриальной дисфункции. Ряд исследований, посвященных моделированию легочной гипертензии, продемонстрировали ассоциацию между концентрацией L-карнитина и генерацией оксида азота (NO) эндотелиоцитами. Эта взаимосвязь остается мало изученной в различных тканях.

Целью работы стало исследование взаимосвязи карнитина и метаболитов NO митохондрий сердца в условиях экспериментального дефицита продукции NO.

Работа была проведена на крысах-самцах массой 220–240 г линии Wistar. Группа 1 (n=8) служила контролем для модели ГГЦ, туда включались животные, получавшие суспензионную основу (Твин-80, крахмал, вода). Группа 2 — экспериментальная ГГЦ (n=8), которой 21 день вводили метионин на суспензионной основе в количестве 3 г/сут внутрижелудочно; 3-й группе, которая служила контролем для групп 4 и 5, вводился 0,9 раствор NaCl в течение 7 дней ежедневно внутрибрюшинно 1 раз в день; животным 4-й (n=8) и 5-й (n=8) групп вводили раствор L-NAME («Sigma-Aldrich») в течение 7 дней ежедневно внутрибрюшинно 1 раз в день в дозах 25 мг/кг и 200 мг/кг соответственно. Митохондрии ткани сердца выделяли методом дифференциального центрифугирования. Содержание гомоцистеина в митохондриях сердца измеряли с помощью набора Axis® Homocysteine EIA, спектрофотометрически определяли содержание суммарных метаболитов оксида азота (NOx) с использованием реактива Грисса. По реакции L-карнитина с ацетил-КоА, протекающей с образованием ацетилкарнитина и свободного КоASH, реагирующего с 5,5-дитиобис-2-нитробензоатом и образующего окрашенный 5-тио-2-нитробензоат, исследовали содержание карнитина

и его фракций. Все результаты пересчитывали на содержание белка, которое определяли по методу Лоури (НПЦ «Эко-сервис»). Для статистического анализа полученных результатов использовали «GraphPad Prism 9.5.1». В группах 2, 4 и 5 было зафиксировано снижение уровня NOx в митохондриальной фракции по сравнению с соответствующими контролями. Были установлены положительные корреляции между содержанием общего карнитина (средней силы) и свободным карнитином (сильные) и NOx в модели L-NAME. Для модели ГГЦ были установлены сильные корреляции между NOx и всеми фракциями карнитина, при этом уровень гомоцистеина и общего карнитина характеризовались сильной отрицательной связью.

Таким образом, была выявлена ассоциация L-карнитина и генерации NO для митохондрий сердца в моделях экспериментального дефицита генерации NO.

Источники финансирования: грант Президента РФ № МК-4805.2022.3

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ КАРДИОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО АГОНИСТА РЕЦЕПТОРОВ ГАЛАНИНА

Веселова О.М., Студнева И.М., Серебрякова Л.И., Тимошин А.А., Доброхотов И.В., Ланкин В.З., Азымуко А.А., Сидорова М.В., Писаренко О.И.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии им. академика Е.И. Чазова» Минздрава России, Москва

Введение. При поиске потенциальных кардиопротекторов важное значение придается механизмам клеточного выживания, реализуемым через связанные с G-белком рецепторы (GPCR). В исследованиях на крысах было показано, что нейропептид галанин и его синтетические аналоги, связывающиеся с тремя подтипами GPCR GalR1-3, способны уменьшать повреждение сердца при моделировании острого инфаркта миокарда (ОИМ) и оказывать защитное действие на фоне кардиомиопатии (КМП).

Цель исследования. Изучить защитное действие фармакологического агониста рецепторов галанина [8Ala14, His15] — галанина (2–15) (G) у крыс на фоне ишемического и реперфузионного повреждения при рестриктивной кардиомиопатии (КМП), на стрептозотоциновой (СТЗ) модели диабета первого типа и при хроническом введении доксорубина (Докс). Оценить кардиопротективный эффект пептида G при совместном введении с антагонистом рецепторов GalR2 M-871.

Материалы и методы исследования. Моделировали ОИМ у крыс *in vivo* путем 40-минутной окклюзии передней нисходящей коронарной артерии, с последующей 60-минутной реперфузией. КМП у крыс моделировали путем хронического в/б введения Докс в течение 8 нед или однократного внутривенного введения СТЗ.

Результаты. Исследование зоны риска (ЗР) левого желудочка при моделировании ОИМ выявило, что при введении пептида G наблюдается снижение содержания активных форм кислорода и продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), а также увеличение содержания АТФ и общего креатина (ΣКр) по сравнению с контролем. В результате в группе с введением G отношение ИМ/ЗР было почти вдвое меньше, чем в контроле и составило 26

и 43%, соответственно. Совместное введение M-871 и G приводило к увеличению размера ИМ и активности КК-МВ до контрольных значений, что указывало на выраженное воздействие G на GalR2 рецептор. При моделировании КМП совместное введение Докс и пептида G сопровождалось улучшением морфологического состояния миокарда, усилением антиоксидантной защиты в сердце, что приводило к снижению содержания продуктов ПОЛ в миокарде и плазме крови. Под действием G отмечено более высокое содержание в сердечной ткани ΣАН, ФКр и ΣКр и снижение накопления лактата. На экспериментальной модели диабета первого типа было показано, что применение пептида G увеличивало содержание ΣКр, АТФ, ΣАН в сердце, снижало уровень глюкозы в крови и уменьшало активность КК-МВ и ЛДГ в плазме.

Выводы. Введение G способствует адаптации сердца к ишемическому и реперфузионному повреждению и рестриктивной КМП.

Источники финансирования: исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (гранты № 18-015-00008 и № 18-015-00009).

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ МЕТФОРМИНА НА УРОВЕНЬ ЦЕРАМИДОВ В ЭПИКАРДИАЛЬНЫХ И ПЕРИВАСКУЛЯРНЫХ АДИПОЦИТАХ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

Дылева Ю.А., Белик Е.В., Учасова Е.Г., Груздева О.В.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово

Введение. Известно о способности метформина влиять на эндокринную функцию жировой ткани (ЖТ) человека. Ранее установлено, что метформин модулирует функцию адипоцитов ЖТ сердца, регулируя уровень адипоцитокинов. В то же время данные о влиянии метформина на уровень церамидов отсутствуют.

Цель исследования. Оценить влияние метформина в различных концентрациях (1 и 10 ммоль/л) на уровень церамидов в адипоцитах подкожной, эпикардиальной и периваскулярной ЖТ пациентов с ишемической болезнью сердца.

Материалы и методы. В исследование включено 30 пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС). Во время операции коронарного шунтирования были получены образцы ЖТ подкожной (ПЖТ), эпикардиальной (ЭЖТ, правые отделы сердца) и периваскулярной (ПВЖТ, область правой коронарной артерии) локализации. Изолированные адипоциты из полученных образцов ЖТ культивировали в течение суток с добавлением метформина в концентрации 1 и 10 ммоль/л и без добавления метформина. Церамидный состав ЖТ сердца пациентов исследован методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. Статистический анализ выполнен с помощью программы Statistica 9.0.

Результаты. Содержание Cer d18:1/16:0 было выше в ЭЖТ по сравнению с ПЖТ и ПВЖТ; Cer d18:1/18:0 — выше по сравнению с ПЖТ; Cer d18:1/22:0 и Cer d18:1/24:1 в ЭЖТ и ПВЖТ — выше по сравнению с ПЖТ. Содержание «протективного» Cer d18:1/24:0 было низким в ЭЖТ и ПВЖТ. Метформин в концентрации 1 ммоль/л более эффективно снижал уровень церамидов в адипоцитах. Так, обнаружено снижение содержания Cer d18:1/16:0 ($p=0,021$), Cer

d18:1/18:0 ($p=0,016$) и Cer d18:1/24:1 ($p=0,020$) в ЭЖТ и Cer d18:1/22:0 ($p=0,033$) в ПВЖТ, а также повышение уровня Cer d18:1/23:0 в ЭЖТ ($p=0,011$), Cer d18:1/24:0 в ЭЖТ ($p=0,024$) и ПВЖТ ($p=0,030$). Метформин в концентрации 10 ммоль/л снижал только уровень Cer d18:1/18:0 в ЭЖТ ($p=0,039$) и Cer d18:1/22:0 в ПВЖТ ($p=0,023$). На уровень церамидов в адипоцитах ПЖТ метформин не оказывал значимого влияния.

Заключение. Метформин влияет на секреторную активность адипоцитов ЭЖТ и ПВЖТ, модулируя уровень церамидов в этих жировых депо, что дает основу для перспективной стратегии поддержания баланса церамидов в эпикардиальной и периваскулярной локализации.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-15-20007 «Церамидный профиль локальных жировых депо сердца: клинко-патогенетическое значение и терапевтический потенциал» <https://rscf.ru/project/22-15-20007/> и средств Министерства науки и высшего образования Кузбасса.

ДИСБАЛАНС УРОВНЕЙ МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ-9 И ТКАНЕВОГО ИНГИБИТОРА МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ-4 СПОСОБСТВУЕТ ДИЛАТАЦИИ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА СЕРДЦА У БОЛЬНЫХ ПОСТИНФАРКТНЫМ КАРДИОСКЛЕРОЗОМ

Егорова Е.Н., Мазур Е.С.

ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России, Тверь

230 больным постинфарктным кардиосклерозом (ПИКС) с явлениями хронической сердечной недостаточности (ХСН) и 40 здоровым добровольцам было проведено эхокардиографическое исследование и были измерены уровни матриксной металлопротеиназы-9 (ММР-9) и тканевого ингибитора металлопротеиназ-4 (ТИМР-4). Концентрации фермента и ингибитора в сыворотке крови измеряли методом иммуноферментного анализа с помощью тест-систем «Quantikine® Human MMP-9» (R&D Systems, США).

В группе ПИКС I стадии ХСН содержание ММР-9 в среднем был на 7,66 нг/мл (на 48%) выше, а уровень ТИМР-4 — на 0,71 нг/мл (на 31%) ниже по сравнению с группой здоровых лиц. В результате ММР-9/ТИМР-4 у этой группы больных ПИКС оказалась в среднем в два раза выше, чем в группе сравнения. Уровень ММР-9 у больных ПИКС IIA стадии ХСН был на 2,77 нг/мл (на 12%) выше, чем на I стадии, а на IIB стадии — на 6,46 нг/мл (на 24%) выше, чем на IIA стадии ХСН. Концентрация ТИМР-4 на IIA стадии ХСН была на 0,21 нг/мл (на 14%) ниже, чем на I стадии, а на IIB стадии — на 0,34 нг/мл (на 25%) ниже, чем на IIA стадии ХСН. Индекс ММР-9/ТИМР-4 у больных ПИКС на ХСН IIA стадии был на 7,05 единиц (на 45%) больше, чем на I стадии, а на IIB стадии — на 17,6 единиц (на 79%) больше, чем на IIA стадии ХСН.

Проведенный однофакторный дисперсионный анализ выявил достоверное влияние стадии ХСН на концентрацию ММР-9 ($F=43,4$) и ТИМР-4 ($F=21,6$; оба $p<0,01$) в крови больных ПИКС.

Лечение, направленное на устранение застойных явлений у больных ПИКС, привело в среднем к снижению уровней ММР-9 на 12% и повышению ТИМР-4 на 9%. При этом значение индекса ММР-9/ТИМР-4 уменьшилась более чем в 2 раза.

Согласно результатам корреляционного анализа, влияние состояния межклеточного матрикса на ремоделирование левого желудочка у больных ПИКС сопоставимо с влиянием размеров постинфарктного рубца. Так, конечный диастолический объем левого желудочка (КДОЛЖ) у больных ПИКС одинаково сильно коррелировал с размером постинфарктного рубца ($r_{xy}=0,63$; $p<0,001$) и индексом ММР-9/ТИМР-4 ($r_{xy}=0,65$; $p<0,001$), характеризующим состояние внеклеточного матрикса непораженных отделов миокарда.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют, что при ХСН дисбаланс в системе матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов (ММР-9 и ТИМР-4) способствует развитию дилатации левого желудочка сердца. Влияние дисбаланса ММР 9/ТИМР 4 на ремоделирование сердца при ПИКС сопоставимо с влиянием размера постинфарктного рубца.

Источники финансирования: ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России.

РАЗРАБОТКА И ХАРАКТЕРИСТИКА *IN VIVO* МОДЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕХАНИЗМОВ, ОПОСРЕДУЮЩИХ РАЗВИТИЕ РЕНОВАСКУЛЯРНОЙ ГИПЕРТРОФИИ МИОКАРДА У ВЗРОСЛЫХ КРЫС

Макеева А.В., Артемьева М.М., Адашева Д.А., Шеин В.Е., Серебряная Д.В.

ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Биологический факультет, Москва

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются основной причиной смертности населения в мире. Большинство ССЗ сопровождается гипертрофическими изменениями в миокарде, поэтому исследование механизмов их развития представляет собой актуальную научную задачу. Моделирование гипертрофии на клеточных культурах кардиомиоцитов *in vitro* не всегда отражает реальную физиологическую картину при данном патологическом состоянии.

В связи с этим целью настоящей работы являлась разработка, характеристика и усовершенствование модели реноваскулярной гипертензии — одной из модельных систем развития гипертрофии *in vivo*.

На первом этапе нами были проведены хирургические операции на крысах линии Wistar массой около 300 г для моделирования реноваскулярной гипертензии, способствующей развитию сердечной гипертрофии. У группы крыс «одна почка одна клипса» (1П1К) осуществляли окклюзию правой почечной артерии совместно с удалением левой почки. Для группы крыс «одна почка» (1П) производили удаление левой почки. У «ложнооперированных крыс» (ЛО) проводили вскрытие брюшной полости и наложение хирургического шва без каких-либо манипуляций с почками. После операции в течение шести недель у крыс проводили измерение массы тела и артериального давления. Развитие гипертрофии миокарда определяли, измеряя концентрацию специфического маркера — натрийуретического пептида В типа (BNP) в крови. Суточную экскрецию почек оценивали по клиренсу креатинина.

На втором этапе были получены и охарактеризованы иммуноцитохимически первичные культуры желудочковых кардиомиоцитов, после чего была определена концентрация BNP в кондиционированной среде. Было по-

казано, что показатели артериального давления и суточной экскреции у крыс группы 1П1К к шестой неделе после операции возрастали относительно 1П и ЛО групп. Достоверных отличий по массе между исследуемыми группами крыс не выявили. Концентрация BNP в сыворотке крови и в кондиционированной среде первичной культуры взрослых желудочковых кардиомиоцитов крыс у группы 1П1К также была выше, чем в контрольных группах.

Проведенные нами исследования позволяют предположить, что у крыс 1П1К развивается гипертрофия миокарда, а кардиомиоциты, выделенные из их сердец, сохраняют гипертрофированный фенотип в культуре.

Источники финансирования. Данное исследование выполнено при поддержке гранта Российского Научного Фонда № 24-25-00051 «Исследование регуляции биодоступности IGF как адаптивного механизма при гипертрофических изменениях миокарда».

НИКОТИНАМИД РИБОЗИД — ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ АГЕНТ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ КАРДИОТОКСИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ДОКСОРУБИЦИНА

Снежкова Ю.В., Подъячева Е.Ю., Мухаметдинова Д.В., Семенова Н.Ю., Зелинская И.А., Торопова Я.Г.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Никотинамид рибозид (НР) — пиридин-нуклеозид, одна из форм витамина В3. Попадая в клетку, НР быстро фосфорилируется под действием никотинамид-рибозидкиназы с образованием НАД⁺, минуя фермент, ограничивающий скорость, никотинамидфосфорибозилтрансферазу. Сегодня НР рассматривают в качестве протективного фармакологического агента в отношении широкого спектра заболеваний, включая сердечно-сосудистые, нейродегенеративные, заболевания почек, печени. Однако его потенциал для снижения кардиотоксических эффектов антрациклинов, применяемых в составе схем химиотерапевтического лечения, не изучен.

Цель работы: патогенетически обосновать возможность внутривенного (в/в) применения НР для снижения кардиотоксического эффекта доксорубина (ДОКС).

Исследование проводилось на самцах крыс Wistar массой 344±48 г. В/в многократное введение 450 мг/кг НР (n=15) осуществлялось в превентивном режиме (3-кратное введение НР с интервалом в два дня, затем 6-кратное внутрибрюшинное (в/б) введение 1,67 мг/кг ДОКС с интервалом в два дня с 3-кратным чередованием через раз введением НР). Контрольной группе (n=10) и группе сравнения с использованием животных, получавших ДОКС (n=10), осуществляли в/б введение 1 мл 0,9% р-р NaCl и 1,67 мг/кг ДОКС 6 раз через два дня, соответственно. До, после окончания введения фармакологических агентов, через 1 и 2 мес регистрировали эхокардиограмму (фракцию укорочения/ФУ). По окончании исследования в условиях ингаляционного наркоза производили изъятие брыжейки для оценки функциональной активности брыжеечных артерий, а также осуществляли изъятие сердца, его фиксацию в 10% нейтральном забуференном формалине и после окрашивали срезы

гематоксилином и эозином, по Маллори. Для оценки различий между разными группами использовали непараметрический критерий Краскела–Уоллиса.

Ко 2-му месяцу эксперимента наблюдалось значимое снижение ФУ у животных, получавших ДОКС (32%). Введение НР обеспечивало сохранение ФУ на уровне исходных значений. Применение НР способствовало значимому снижению процента фиброза в миокарде по сравнению с животными, получавшими только ДОКС [2,26[1,77;2,34]; 5,82[4,19;8,17], p<0,01]. Введение НР обеспечивало сохранение сократительной и релаксационной функций брыжеечных артерий. E_{max} (фенилэфрин/ФЭ) составил 100,9±13,3; E_{max} (ацетилхолин/АХ)=82,9±7,9 и E_{max} (ФЭ)=67,3±25,5; E_{max} (АХ)=18,3±24,2 (p<0,01). Таким образом, в/в введение НР обеспечивает протективное влияние на патогенез ДОКС-индуцированного повреждения миокарда.

Источники финансирования. Государственное задание Министерства здравоохранения Российской Федерации «Создание новых препаратов для лечения и профилактики доксорубин-индуцированной кардиомиопатии», № 123021000147-5.

МЕХАНИЗМЫ НАТРИЙУРЕТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ УРОГУАНИЛИНА У САМЦОВ КРЫС

Шейн В.Е., Снигирева Е.Д., Адашева Д.А., Серебряная Д.В., Смирнова О.В.

ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Биологический факультет, Москва

Точная регуляция гемодинамических параметров опосредуется благодаря действию широкого спектра биологически активных веществ. Урогуанилин (УГН) является кишечным пептидом и секретируется эпителиоцитами кишечника в просвет кишечника и в кровоток в ответ на прием пищи. Основная функция УГН — снижать поглощение воды и электролитов (в первую очередь ионов Na^+) в кишечнике и препятствовать тем самым резкому повышению давления в сосудистом русле. УГН, местный и системный, ослабляют обратное всасывание ионов и воды в канальцах нефронов, также приводя к снижению системного артериального давления. Сходной функцией обладают натрийуретические пептиды сердца, предсердный (ANP) и мозговой (BNP), которые выделяются в кровоток в ответ на растяжение камер сердца и приводят к уменьшению обратного всасывания ионов Na^+ в канальцах нефронов.

Мы предположили, что УГН может выполнять свою натрийуретическую функцию не только напрямую, но и косвенно, стимулируя секрецию натрийуретических пептидов кардиомиоцитами сердца. Таким образом, целью нашей работы было исследование влияния УГН на секрецию одного из натрийуретических пептидов сердца, BNP.

В настоящей работе мы изучали влияние УГН на клетки первичной культуры кардиомиоцитов желудочков сердца самцов взрослых крыс. Культуру клеток охарактеризовали иммуноцитохимически по наличию специфической для кардиомиоцитов сердечной изоформы тропонина I и характерной для кардиомиоцитов исчерченности сократительного аппарата. Кардиомиоциты инкубировали с различными концентрациями УГН (10 нМ, 100 нМ, 1 мкМ) в течение 2 ч, после чего измеряли концентрацию BNP в культуральной среде методом флуороиммунного

анализа и нормировали концентрацию на уровень тотального белка, измеренного методом Брэдфорда.

Инкубация кардиомиоцитов с УГН приводила к дозозависимому увеличению концентрации BNP в культуральной среде. Результаты нашей работы могут свидетельствовать о том, что УГН способен влиять на функции кардиомиоцитов и может быть сигнальной молекулой при передаче сигнала по оси кишечник-сердце. Кроме того, в нашей работе показано, что классический рецептор УГН, гуанилатциклаза C, отсутствует в сердце, что говорит о том, что описанные выше эффекты УГН опосредуются через неизвестный на настоящий момент времени рецептор.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА СОХРАННОСТЬ РНК ВИРУСА SARS-CoV-2 МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

Антипов В.А., Медведева А.С., Карташов В.В.

ФГБОУ ВО «Самарский Государственный Медицинский Университет» Минздрава России, Самара

Введение. COVID-19 более 5 лет остаётся актуальной проблемой для системы здравоохранения. Определение влияния ультрафиолетового излучения на сохранность РНК вируса SARS-CoV-2 позволяет оценить эффективность обработки ПЦР-боксов в условиях клиничко-диагностической лаборатории с целью обеспечения безопасности медицинского персонала.

Цель. Изучить влияние ультрафиолетового излучения на сохранность нуклеиновых кислот вируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Материалы и методы. Работа выполнена на кафедре Фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой Самарского государственного медицинского университета. Для исследования использовались 50 ранее подтверждённых положительных респираторных мазков SARS-CoV-2. Образцы подвергали воздействию ультрафиолетового излучения с экспозицией 17 ч при длине волны 253,7 нм. Затем было проведено повторное исследование образцов методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с качественной и количественной интерпретацией порогового цикла амплификации (Ct). Статистический анализ осуществлялся с использованием программы StatTech v. 3.0.9.

Результаты. При воздействии ультрафиолетового излучения на биологический материал количество положительных образцов снизилось на 20%. Медиана порогового цикла Ct контрольного образца составила 30,6 единицы, а после воздействия — 31,5. Наблюдалось статистически значимое повышение порогового цикла Ct на 0,9 единиц.

Выводы. При анализе полученных результатов было обнаружено, что ультрафиолетовое излучение оказывает негативный эффект на

сохранность РНК SARS-CoV-2, выраженный в снижении доли положительных результатов и повышении порогового цикла амплификации, свидетельствующий о понижении концентрации нуклеиновых кислот в исследуемом образце. Несмотря на статистически значимые изменения, обработка ультрафиолетовым излучением не может обеспечить полную деконтаминацию образцов. Однозначно утверждать об отсутствии влияния ультрафиолетового излучения на сохранность РНК SARS-CoV-2 для обеспечения безопасности сотрудников клиничко-диагностических лабораторий в указанном ранее режиме не представляется возможным.

МЕТОДЫ ГИБРИДНОЙ АМПЛИФИКАЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ, СОЧЕТАЮЩИЕ ТЕРМОЦИКЛИЧЕСКУЮ И ИЗОТЕРМИЧЕСКУЮ АМПЛИФИКАЦИЮ И ИХ ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Игнатов К.Б.

ФГБУН «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова» РАН, Москва

Методы амплификации нуклеиновых кислот (НК) широко используются для детекции различных ДНК- и РНК-содержащих патогенов. Пандемия COVID-19, вызванная вирусом SARS-CoV2, ярко показала значимость этих технологий для быстрого выявления возбудителя. «Золотым стандартом» амплификации НК является полимеразная цепная реакция (ПЦР), старейший и наиболее популярный метод. ПЦР протекает в режиме термоциклирования, и для ее проведения требуется термостабильная ДНК-полимераза. К основным достоинствам метода следует отнести: высокую чувствительность (позволяет детектировать единичные молекулы НК), специфичность реакции и распространенность оборудования для проведения ПЦР. Методы изотермической амплификации НК стали завоевывать популярность с начала 2000-х годов, с момента появления технологии петлевой амплификации НК (loop-mediated isothermal amplification, LAMP). Для проведения изотермической амплификации необходимо использовать ДНК-полимеразу с цепь-вытесняющей активностью. Основным достоинством LAMP и других изотермических методов является высокая скорость амплификации из-за отсутствия термоциклирования и, как следствие, короткое время проведения анализа. Однако чувствительность изотермических реакций в ряде случаев оказывается существенно ниже, чем ПЦР.

С созданием ДНК-полимераз, обладающих одновременно высокой термостабильностью и высокой цепь-вытесняющей активностью [1], стало возможно соединить процессы термоциклической и изотермической амплификации в одной реакции. Такое сочетание позволило достичь высокой чувствительности анализа свойственной ПЦР и одновременно, существенно сократить время его проведения, что характерно для изотерми-

ческих реакций. Среди подобных гибридных методов амплификации НК следует отметить полимеразную цепную вытесняющую реакцию (polymerase chain displacement reaction, PCDR) [2] и гибридную PCR-LAMP [3]. В докладе рассмотрены механизмы этих реакций, их особенности, а также практическое использование для выявления вируса SARS-CoV2.

Литература

1. Ignatov et al., 2014, BioTechniques 57, 81–87. 10.2144/000114198
2. Harris et al., 2013, BioTechniques 54, 93–97. 10.2144/000113951
3. Varlamov et al., 2020, Front Bioeng Biotechnol 8:604793. 10.3389/fbioe.2020.604793

НАНОАНТИТЕЛА ДЛЯ ОБРАТИМОГО ИНГИБИРОВАНИЯ ТЕРМОСТАБИЛЬНОЙ ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ

Маркелов М.Л.¹, Шипулин Г.А.², Чумаков С.П.³

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда им. акад. Н.Ф. Измерова», Москва

²ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровья» ФМБА России, Москва

³ФГБУН ГНЦ РФ «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

Для проведения амплификации нуклеиновых кислот с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) используют рекомбинантные аналоги термостабильных ДНК зависимых ДНК полимераз из экстермофилов, естественной средой обитания которых являются горячие источники вулканического происхождения.

Как и для многих других видов ферментов, для термостабильных ДНК полимераз характерно наличие зависимости удельной активности от температуры. При использовании т.н. Taq ДНК полимеразы (из *Thermus aquaticus*) элонгацию осуществляют при температуре от 60°C до 75°C. Однако данная полимеразы имеет незначительный уровень активности и при комнатной температуре. Как следствие, во время сборки реакционной смеси, олигонуклеотидные праймеры могут формировать т.н. праймер-димеры, которые в присутствии полимеразы и соответствующих «кофакторов» удлиняются с образованием дополнительной неспецифической ДНК матрицы.

Для решения проблемы неспецифической амплификации предложено и реализовано несколько приёмов. Один из наиболее распространённых способов т.н. «горячего старта» предполагает использование моноклональных антител, имеющих аффинность по отношению к активному центру Taq ДНК полимеразы. При температурах реакционной смеси вплоть до 50°C-60°C антитела блокируют активность Taq ДНК полимеразы. После стадии плавления ДНК при 95°C антитела необратимо денатурируют, иммунный комплекс фермента с антителами разрушается и в дальнейшем ПЦР проходит без образования неспецифических продуктов амплификации.

Молекулярная масса моноклональных антител (класса IgG), состоящих из пары лёгких и пары тяжёлых цепей, составляет около 150-160 кДа. При этом для эффективного ингибирования полимеразы требуется молярный избыток ан-

тител по отношению к полимеразе в пропорции 1:5 – 1:10. Помимо этого, стоимость производства моноклональных антител на основе гибридных технологий довольно велика: в себестоимости иммунного комплекса полимеразы – антитела, доля антитела может составлять 3/4.

Интересной альтернативой моноклональным антителам являются фрагменты однодоменных антител – наноантител, получаемые из иммуноглобулинов животных семейства верблюдовых, которые обладают особым классом антител, не имеющих легких цепей. Вариативные домены тяжёлых цепей таких антител – VHH-домены – обладают более протяженными участками связывания антигена и имеют дополнительную дисульфидную связь, что позволяет им распознавать антигены с высокой специфичностью и связываться с ними с высокой аффинностью. Размер нанантител (~15 кДа) составляет 1/10 от размера моноклональных антител. Кроме того, для них характерна высокая стабильность в различных средах. Такие особенности структуры упрощают процесс селекции наноантител и удешевляют их производство в бактериальных (*E. coli*) системах экспрессии.

С помощью фагового дисплея нами были получены несколько вариантов специфических рекомбинантных наноантител (VHH-доменов) к Taq ДНК полимеразе, в том числе варианты, которые обратимо инактивируют данный фермент и эффективны при проведении ПЦР в режиме «горячего старта». Для увеличения растворимости рекомбинантных наноантител и увеличения их термостабильности в структуры были внесены мутации по положению цистеинов. При оценке эффективности обратимого ингибирования Taq ДНК полимеразы лизатами бактериальных продуцентов наноантител на стадии селекции (отбора) клонов применяли оригинальную методику с использованием олигонуклеотидов с включенным в структуру флуорофорами.

ВИРУС ГРИППА А: ПОИСК ГЕНОВ-БИОМАРКЕРОВ ОТДАЛЕННЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ В ТКАНИ ЛЕГКИХ

Савин И.А., Сенькова А.В., Гончарова Е.П., Зенкова М.А., Марков А.В.

ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск

Вирус гриппа А вызывает сезонную респираторную вирусную инфекцию, эпидемии которой ежегодно приводят к значительным нагрузкам на систему здравоохранения. Вирус гриппа может поражать практически все внутренние органы, но основная мишень — легкие, где главным поражающим фактором является воспаление с последующей чрезмерной регенерацией альвеолоцитов, а самое тяжелое клиническое проявление инфекции — гриппозная пневмония. Недавняя пандемия, вызванная коронавирусом SARS-CoV-2 (COVID-19), показала: 1) эта и прошлые пандемии, вызванные вирусом гриппа, обладают определенным сходством и 2) существуют «белые пятна» в понимании механизмов, приводящих к тяжелым осложнениям и отдаленным последствиям данных инфекционных заболеваний.

Целью данной работы была идентификация дифференциально экспрессированных генов (ДЭГ), которые могут быть регуляторами пролиферативного ответа ткани легких на инфекцию вирусом гриппа.

Проведен биоинформатический анализ двух наборов транскриптомных данных, полученных на мышинных моделях гриппозной инфекции на разные сроки после начала инфекции и пациентов, инфицированных вирусом гриппа А и SARS-CoV-2, с последующей валидацией полученных данных на *in vivo* модели гриппозной пневмонии мышей, индуцированной вирусом гриппа А. Выявлен ряд ДЭГ, обладавших схожим профилем экспрессии на протяжении развития гриппозной инфекции как на ранних (1–3 дня), так и на поздних (7, 10 и 12 дней) сроках после индукции. Функциональный анализ показал, что данные ДЭГ в основном вовлечены в процессы регуляции клеточного цикла и пролиферации.

На материале, полученном на *in vivo* модели гриппозной пневмонии, были валидированы результаты биоинформатического анализа: профиль экспрессии идентифицированных ДЭГ в ткани легких мышей совпадает

с профилем экспрессии в наборах транскриптомных данных. Подробный анализ идентифицированных ДЭГ выявил связь не только с вирусом гриппа А, но и с течением инфекции COVID-19, а именно с тенденцией к повышению уровней экспрессии некоторых ДЭГ при тяжелом течении заболевания. Более того, анализ уровней экспрессии данных ДЭГ у пациентов с аденокарциномой легких выявил положительную корреляцию с снижением их общей продолжительности жизни.

Таким образом, показана потенциальная роль идентифицированных генов в качестве биомаркеров тяжелого течения гриппозной инфекции, а также предикторов отдаленных последствий, таких как опухолевые заболевания легких, связанных с патологической пролиферацией альвеолоцитов.

Источники финансирования: грант РНФ №19-74-30011

ИНАКТИВАЦИЯ MMLV-РЕВЕРТАЗЫ АПТАМЕРОМ: СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ И ВНЕДРЕНИЕ В КОММЕРЧЕСКИЕ НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ РНКОВЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ

Спудулите В.Г.¹, Шипулин Г.А.¹, Кунах Е.А.¹, Маркелов М.Л.²

¹ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровья» ФМБА России, Москва

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда им. акад. Н.Ф. Измерова», Москва

Полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) — важный метод для анализа РНК, обладающий высокой чувствительностью и специфичностью. Однако одним из недостатков данного метода является образование неспецифических продуктов амплификации при температурах ниже температуры отжига праймеров. Такие продукты конкурируют с синтезом специфичных продуктов амплификации, что может снижать точность и эффективность анализа. Решение этой проблемы предоставляет технология горячего старта, при которой ферменты активируются при более высоких температурах, что позволяет избежать образования неспецифических продуктов. Инактивация ферментов может быть достигнута путем связывания их с антителами, аптамерами или химическими веществами.

В данной работе для повышения производительности ОТ-ПЦР при выявлении SARS-CoV-2 была использована ревертаза, инактивированная аптамером. Аптамеры — синтетические одно- или двуцепочечные молекулы, специфически связывающиеся с высокой аффинностью и специфичностью к определенным белкам, ферментам или другим молекулам.

Анализ полученных результатов показал, что аптамеры эффективно ингибируют ревертазу. Связываясь с ферментом, аптамеры предотвращают его активность, что подтверждается отсутствием неспецифической амплификации при инкубации реакционной смеси в течение длительного времени при комнатной температуре.

Использование аптамер-модифицированной ревертазы позволило добиться более высокой эффективности амплификации в исследовании биологического материала для выявления РНКовых возбудителей забо-

леваний, что, несомненно, открывает новые пути для оптимизации молекулярных методов и их внедрения в научные и клинические исследования.

НОВЫЕ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Шипулин Г.А.

ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровья» ФМБА России, Москва

В 2018 году ВОЗ ввела термин «Болезнь X», обозначающий концепцию возникновения эпидемии или даже пандемии, вызванной теоретически неизвестным науке патогеном. Вероятно, что патоген, который сможет претендовать на роль возбудителя «Болезни X», будет вирусом, совершившим множественный межвидовой переход. В целях оперативной идентификации неизвестного патогена и последующего создания лекарственных иммунопрофилактических препаратов необходимо создание принципиально новых технологий диагностики инфекционных болезней, в первую очередь, инфекций неясной этиологии.

В связи с этим в ФГБУ «ЦСП» ФМБА России впервые разработана инновационная молекулярная технология для обнаружения широкого спектра вирусных нуклеиновых кислот для контроля циркуляции неизвестных инфекционных агентов (Свидетельство Роспатента №2021660832). Разработанный алгоритм для каждой отдельной нозологии заболевания позволяет автоматизировать задачу подбора панели широкого спектра, дизайн которой будет учитывать все известные патогены, вызывающие инфекционные заболевания данной нозологии, включая редкие случаи без ограничений на размер выборки таксономических групп. Развитие технологий секвенирования в реальном времени дает возможность анализа генетических данных. На сегодняшний день мировым монополистом на рынке нанопорового секвенирования является британская компания Oxford Nanopore Technologies. Из-за наложенных недружественными странами санкций эта технология стала практически недоступной для отечественной науки и медицины. В связи с этим отечественными специалистами создан первый нанопоровый секвенатор «Нанопорус», налаживается серийный выпуск прибора, разработан отечественный софт для анализа данных, планируется разработка проточных ячеек.

Специалистами ФГБУ «ЦСП» ФМБА России проведены лабораторные испытания отечественного прибора в целях идентификации патогенов в клиническом материале в ходе сравнительного анализа с платформами для секвенирования MinION (ONT) и MiSeq (Illumina). Для всех трех

платформ было получено полное совпадение результатов секвенирования.

Разработка методов молекулярной диагностики в ФМБА России находится в стадии активного развития. В настоящее время создан опытный образец портативного устройства класса «Электронный нос» для проведения неинвазивной экспресс-диагностики социально опасных заболеваний, передающихся воздушно-капельным путем, в том числе COVID-19. Прибор способен с высокой чувствительностью (100%) и специфичностью (90%) за короткое время (менее 1 минуты) определять заражение COVID-19, в т.ч. в бессимптомных случаях в потоковом режиме. В связи со снижением заболеваемости COVID-19 проводятся работы, направленные на изучение возможности применения данного прибора для экспресс-диагностики туберкулеза.

Для быстрой диагностики в месте приема пациентов разработана автоматическая система «АвтоГен» для проведения ускоренного анализа РНК- и ДНК-мишеней в образцах биоматериала из дыхательных путей пациентов. Система позволяет проводить point-of-care диагностику пациентов, в том числе детекцию РНК вируса SARS-CoV-2. В 2024 году выпущена третья серия картриджей для проведения экстракции, амплификации с последующей детекцией целевых участков. Разрабатывается линейка совместимых тест-систем для определения внутрибольничных инфекций.

Кроме того, в ФГБУ «ЦСП» ФМБА России разрабатывается универсальная платформа для мультиплексного экспресс-выявления инфекционных агентов с возможностью детекции 200-300 мишеней в течение 20 минут, которая позволит в ближайшем будущем проводить расшифровку любых самых сложных инфекционных синдромов, не прибегая к секвенированию.

Таким образом, в целях подготовки нашей страны к следующей пандемии ФГБУ «ЦСП» ФМБА России разработан ряд уникальных платформ для быстрой идентификации редких или неизвестных патогенов, которые помогут противостоять возможным биологическим угрозам и обеспечить биологическую безопасность населения РФ.

ИЗМЕНЕНИЕ БЕЛКОВ-ПАРТНЁРОВ СПЛАЙСИНГОВОГО ФАКТОРА SYNCRIP ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЦИСПЛАТИНА В КЛЕТКАХ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЯИЧНИКА

Арзумян Л.К., Иванова О.М., Шнайдер П.В., Лукина М.М., Арапиди Г.П., Шендер В.О.
ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. Ю.М. Лопухина»
ФМБА, Москва

Химиорезистентность является одной из главных проблем в лечении рака яичников, так как может привести к ограничению эффективности химиотерапевтических препаратов и возникновению рецидивов.

Ранее нашей группой было показано, что погибающие под действием терапии опухолевые клетки могут секретировать во внеклеточное пространство сплайсосомные белки, что приводит к возникновению более агрессивного и устойчивого к химиотерапии фенотипа у реципиентных опухолевых клеток. Для исследования возможной роли сплайсосомных белков, секретируемых погибающими опухолевыми клетками, в формировании химиорезистентности был выбран белок SYNCRIP на основе проведенного ранее биоинформатического анализа [1].

Нами было показано, что сверхэкспрессия SYNCRIP повышает пролиферацию опухолевых клеток SKOV3 и их устойчивость к цисплатину. Сверхэкспрессия SYNCRIP индуцирует в клетках SKOV3 более длительное пребывание в G1-фазе клеточного цикла под действием цисплатина.

Чтобы выяснить, как изменяются белки партнеры SYNCRIP под действием цисплатина, было проведено два типа иммунопреципитации этого белка из опухолевых клеток со сверхэкспрессией SYNCRIP с последующим масс-спектрометрическим анализом.

Нами было идентифицировано 203 белка-партнёра SYNCRIP, которые связываются с ним при обычных условиях и 49 белков-партнёров SYNCRIP, которые связываются с ним под действием цисплатина. Мы выяснили, что под действием цисплатина SYNCRIP усиливает связь с белками ДНК-репарации (MSH2, PAWR) и регуляции клеточного цикла (RFC5). При этом теряется связь с хеликазой DHX9, которая отвечает за активацию иммунного ответа на чужеродную РНК в цитоплазме

и способствует разрешению R-петель в ядре. Мы предположили, что SYNCRIP может предотвращать образование R-петель на хроматине в комплексе TDRD3/Top3b в тандеме с DHX9, что снижает репликативный стресс в клетках.

Полученные данные демонстрируют, что повышенная представленность сплайсосомного белка SYNCRIP помогает клеткам лучше справляться с терапевтическим стрессом.

Литература

1. Shender V.O. et al. Therapy-induced secretion of spliceosomal components mediates pro-survival crosstalk between ovarian cancer cells // Nature Communications. 2024. Т. 15. №. 1. С. 5237.

Источники финансирования. Работа поддержана Грантом 075-15-2019-1669 Министерства науки и высшего образования РФ.

ОСОБЕННОСТИ ПАРАМЕТРОВ ЛИПИДНОГО СПЕКТРА КРОВИ И КОРОТКОЦЕПОЧЕЧНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ПРИ ОПУХОЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Безвугляк О.О., Обухова Л.М., Щелчкова Н.А., Яшин К.С., Медяник И.А., Гришин А.С., Баданина Д.М., Селиверстов А.Н.

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

Цель исследования — сравнительный анализ основных параметров липидного спектра крови при опухолях головного мозга и атеросклерозе и оценка взаимосвязи этих показателей с индексом пролиферативной активности клеток Ki-67.

Исследовали кровь при атеросклерозе (50 пациентов) и опухолях головного мозга (50). Контроль — кровь от 50 здоровых людей. В опухоли проводили иммуногистохимическое исследование маркера пролиферации клеток Ki-67 (клон антител Thermo Scientific, США). Содержание холестерина определяли с использованием набора реактивов «Холестерин-UTS», Россия. Концентрацию нейтральных липидов определяли набором реактивов «Триглицериды-UTS», Россия. Уровень ЛПНП и ЛПВП — с помощью набора HDLC3 HDLC4 (Германия). Концентрацию короткоцепочечных жирных кислот определяли методом жидкостной хроматомасс-спектрометрии (спектрометр Shimadzu LCMS-8050, Япония).

В плазме крови при опухолях головного мозга выявлен значимо более высокий уровень холестерина (на 63,43%) и ЛПНП (на 58,70%), чем при атеросклерозе. При сравнении рутинных параметров липидома крови не было выявлено показателя, значимо отличающегося как от контроля, так и от данных пациентов с атеросклерозом, поэтому был проведен расчет соотношений данных параметров. Значимые отличия и от группы с атеросклерозом, и от практически здоровых людей были обнаружены для соотношения нейтральных липидов к холестеролу. Есть статистически значимые различия между содержанием ацетата, бутирата, малеината, пирувата и глиоксилата между группами здоровых и пациентов с менингиомами и здоровых и с глиомами. Показаны

значимые отличия между концентрацией бутирата и валериановой кислоты между здоровыми и при глиомах. Концентрация бутирата в крови отличается и от контроля в группах и с менингиомами, и с глиомами. Достоверная корреляция с уровнем Ki-67 выявлена для соотношения холестерол/ЛПВП ($Rho=0,536$) и нейтральные липиды/холестерол ($Rho=-0,524$). Нет значимых коэффициентов корреляций уровня маркера клеточной пролиферации Ki-67 с уровнями короткоцепочечных жирных кислот в крови, кроме бутирата ($Rho=-0,526$). Взаимосвязь с наличием менингиомы ($Rho=-0,516$) и глиальных опухолей ($Rho=0,667$) выявлена тоже только для бутирата.

Соотношение нейтральных липидов к холестеролу значимо меняется при опухолях головного мозга и отличается от изменений при атеросклерозе, что может быть использовано для дооперационной диагностики опухолей головного мозга. Дополнительным критерием может служить сниженный уровень бутирата, особенно значимый при начальных степенях анаплазии.

ХОЛО-ЛАКТОФЕРРИН ЧЕЛОВЕКА В КОМПЛЕКСЕ С ОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТОЙ ЭФФЕКТИВНО ПОДАВЛЯЕТ РОСТ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ОПУХОЛИ

Васильев В.Б.^{1,2}, Елизарова А.Ю.¹, Соколов А.В.^{1,2}, Костевич В.А.¹, Горбунов Н.П.^{1,3}, Кудрявцев И.В.¹

¹ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

³ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора, Санкт-Петербург

Ранее в опытах с гепатомой 22а, инокулированной мышам линии СЗНА, мы обнаружили выраженную противоопухолевую активность комплекса, сформированного апо-лактоферрином (апо-ЛФ) человека и олеиновой кислотой (в молярном соотношении 1:8). Наоборот, апо-ЛФ без олеиновой кислоты (ОК) усиливал рост клеток гепатомы *in vivo* и *in vitro*.

Затем оценивалась противоопухолевая активность ЛФ, насыщенного железом (холо-ЛФ), и комплексов, сформированных апо-ЛФ либо холо-ЛФ с ОК.

Мышам линии Balb/c с развившейся миеломой Sp2/0 ежедневно, в течение 10 дней, инъецировали внутрибрюшинно по 10 мг холо-ЛФ человека в комплексе с ОК (молярное соотношение 1:8). Через 15 дней после начала лечения рост опухоли существенно замедлился. Средняя масса опухоли снизилась на 93% в сравнении с контрольной группой ($p < 0,01$). Внутрибрюшинные инъекции комплекса, состоявшего из апо-ЛФ и ОК не подавляли рост солидной миеломы Sp2/0, в отличие от гепатомы 22а (Elizarova et al., 2021). Противоопухолевое действие холо-ЛФ без ОК было существенно слабее в сравнении с комплексом холо-ЛФ/ОК.

Литература

Elizarova A., Sokolov A., Kostevich V. et al. (2021) Interaction of lactoferrin with unsaturated fatty acids: *in vitro* and *in vivo* study of human lactoferrin/oleic acid complex cytotoxicity. Materials, 14, 1602. <https://doi.org/10.3390/ma14071602>

Источники финансирования: Государственное задание.

ПОЛУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ФЕНОТИПА КЛЕТОК ТНР-1 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Вишнякова П.А.^{1,2}, Киселева В.¹, Ганцова Е.², Карягина В.¹, Артюхов А.², Дашинимаев Э.², Хан И.², Покровский В.², Арутюнян И.², Ельчанинов А.³, Фатхудинов Т.²

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», НИИ молекулярной и клеточной медицины, Москва

³ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына, Москва

Макрофаги — клетки врожденной иммунной системы, ответственные за фагоцитоз и презентацию антигена. Согласно современным представлениям о бинарной поляризации, различают про- (M1) и противовоспалительные макрофаги (M2). Считается, что макрофаги M2, ингибируя Т-клеточный противоопухолевый иммунный ответ и участвуя в опухолевом ангиогенезе, могут приводить к прогрессированию опухоли. С другой стороны, макрофаги M1 оказывают противоопухолевое воздействие за счет участия в антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности.

Целью данной работы была разработка нового метода клеточной противоопухолевой терапии на основе M1 макрофагов.

После анализа транскриптомных данных M1 поляризации макрофагов *in vitro* были выбраны для нокаута семь генов (BIN1, Ido1, Asic1, Sosc3, Socs1, Irf4, Irf5). Для формирования стабильного провоспалительного фенотипа была проведена генетическая модификация клеток ТНР-1 на основе системы CRISPR/Cas с использованием лентивирусной трансдукции. После трансдукции инфицированные клетки ТНР-1 сортировали и тестировали их противоопухолевую активность *in vivo* и *in vitro* с использованием различных методов.

Использование инфицированных нокаутных клеток в мышинной модели рака молочной железы показало снижение роста опухоли по сравнению с контролем. Иммуногистохимический анализ показал значимое снижение количества Ki67+ клеток в опухолях животных с инъекцией клеток с нокаутом. При анализе поверхностных маркеров макрофагов методом проточной цитометрии в группе,

обработанной нокаутными клетками, мы выявили значительное увеличение маркера CD45, моноцитарного маркера CD11b, макрофагального маркера CD68 и провоспалительного макрофагального маркера CD86.

Полученные результаты свидетельствуют об успешной генетической модификации ТНР-1 для получения провоспалительного фенотипа, а также позволяют предположить потенциальную применимость и эффективность клеточной терапии на основе M1 макрофагов при опухолевых заболеваниях.

Источники финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (грант № 22-15-00241).

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ КОГЕЗИНА В ОГРАНИЧЕНИИ ПОДВИЖНОСТИ ЛОКУСОВ ХРОМАТИНА В НОРМЕ И В УСЛОВИЯХ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ДВУНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ ДНК

Вьюшков В.С.¹, Ломов Н.А.¹, Рубцов М.А.^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Биологический факультет, Москва

²ФГОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Центр промышленных технологий и предпринимательства, Москва

Когезин считается ключевым белком, обеспечивающим компактизацию хроматина и сегрегацию генома на пространственно обособленные топологически ассоциированные домены, образуя контакты между удаленными друг от друга геномными локусами. Такая модель предполагает, что когезин должен ограничивать пространственную динамику локусов хроматина, что может быть особенно важно при возникновении двунитевых разрывов ДНК. В этом случае компактизация хроматина должна уменьшать вероятность образования хромосомных перестроек между разными локусами.

Чтобы изучить роль когезина в ограничении пространственной динамики хроматина в нормальном и поврежденном состоянии, мы создали на базе клеточной линии HCT116 культуру, в которой с помощью технологии CRISPR-Sirius визуализировали в живых клетках геномный локус, содержащий сайт связывания когезина.

Для деплеции когезина (субъединицы RAD21) в этих клетках мы использовали систему ауксин-индуцируемого дегрона. Для этого к кодирующей последовательности гена *RAD21* в геноме была добавлена аминокислотная последовательность — дегрон, и в клетках экспрессировалась убиквитинлигаза OsTIR1, которая при добавлении ауксина направляла RAD21 на деградацию, приводя к более чем 90% деплеции этого белка в течение четырех часов. Для индукции двунитевых разрывов ДНК мы использовали этопозид, являющийся ингибитором ДНК-топоизомераз типа II. В качестве меры подвижности визуализированного локуса в модели аномальной диффузии мы использовали коэффициент диффузии и показатель аномальной экспоненты (α), вычисленные путем MSD-анализа треков ин-

дивидуальных сигналов, полученных путем таймлапс конфокальной микроскопии.

При деплеции RAD21 наблюдалось увеличение подвижности визуализированного геномного локуса: увеличивалось значение α , то есть понижалась степень ограниченности диффузии. Это согласуется с предположением, что когезин выступает в качестве фактора, ограничивающего подвижность хроматина. При глобальной индукции двунитевых разрывов этопозидом не наблюдалось значительного увеличения подвижности визуализированного локуса. Однако если двунитевые разрывы индуцировать на фоне деплеции RAD21, то подвижность визуализированного локуса возрастала.

Полученные данные свидетельствуют о том, что когезин является фактором, ограничивающим подвижность хроматина как в норме, так и в условиях индукции двунитевых разрывов. Такие данные позволяют предположить, что выявленная ограничивающая роль когезина может уменьшать вероятность образования хромосомных транслокаций.

Источники финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ 22-24-00251

ВЛИЯНИЕ BAY-11-7082 НА АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОНРЕДУКТАЗЫ, ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ И ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ КЛЕТОК DN-5 ОПУХОЛИ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА

Гаврилюк Л.А.¹, Принс М.², Матис М.Дж.³

¹ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Медицинский институт, Кафедра биохимии им. акад. Т.Т. Берёзова, Москва

²Онкологический центр Фейста-Вайлера, ЛГУ, Кафедра фармакологии, токсикологии и нейробиологии, ЛА, США

³Онкологический центр Фейста-Вайлера, ЛГУ, Кафедра анатомии и клеточной биологии, ЛА, США

Введение. Ядерный фактор NF-κB играет ключевую роль в регуляции более 150 генов, индуцируемых окислительным стрессом, активируя элемент антиоксидантного ответа (ARE). BAY-11-7082 (BAY-11) селективно и необратимо ингибирует NF-κB, блокируя вызванное TNF-α фосфорилирование IκB-α, не влияя на конститутивное фосфорилирование IκB-α. Также имеются сведения, что BAY-11 активирует апоптоз клеток. Глутатион, ГР и Г6ФДГ отвечают за контроль внутриклеточного редокс-состояния. Основной биологической ролью ГР является восстановление окисленного глутатиона (GSSG) в его восстановленную форму (GSH) с использованием НАДФН, образующегося в пентозофосфатном пути апотомического окисления глюкозы ключевым ферментом Г6ФДГ. ЛДГ является ферментом дихотомического анаэробного гликолиза, характерного для всех опухолей.

Цель. Изучение влияния BAY-11 на активность ГР, Г6ФДГ, ЛДГ и содержание GSH в клетках DN-5 опухоли кожи человека в ксенотрансплантатах мышей SCID/bd.

Материал и методы. Восемьдесят мышам SCID/bd весом 21,55±1,48 г вводили подкожно 2×10⁶ клеток DN-5 опухоли кожи человека. Мыши были рандомизированы на 3 группы, которые получали 0,1 мл кукурузного масла (KM) через желудочный зонд в дозе 5 мл/кг ежедневно. Мыши 1-й группы получали только KM (контроль). Мышам 2-й и 3-й групп дополнительно вводили 0,1 мл BAY-11 в дозах 0,625 мг/мл и 1,25 мг/мл, соответственно. Через 10 недель опухоли взвешивали и гомогенизировали в 0,05 М КФБ (pH 7,4), содержащем 0,25 М сахарозы, и центрифугировали при 10 000 об/мин 20 мин при 4°C. Определе-

ние активности ГР, Г6ФДГ, ЛДГ, содержание GSH и белка проводили с использованием СФ-методов. Результаты удельной активности ферментов и содержание GSH обрабатывали с использованием метода Стьюдента и корреляционного анализа Спирмена.

Результаты. BAY-11 ингибировал активность всех ферментов. Активность ГР в ксенотрансплантатах 2-й группы соответствовала 48,0 МЕ/г белка (72,4%) и 3-й группы — 44,3 МЕ/г (66,8%) по сравнению с контрольной группой. Активность Г6ФДГ во 2-й и 3-й группах была 38,3 МЕ/г (53,6%) и 20,7 МЕ/г (29,0%). Активность ЛДГ в обеих опытных группах была 30,3 МЕ/г (30,5%) и 31,3 МЕ/г (31,5%). Корреляционный анализ не выявил в опухолях взаимосвязь между ГР и Г6ФДГ (pt>0,05), что свидетельствует о дисбалансе между этими ферментами.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют об ингибирующем влиянии BAY-11-7082 на активность ГР, Г6ФДГ и ЛДГ опухолевых клеток DN-5 кожи человека. Поэтому, применение BAY-11-7082, специфического ингибитора NF-κB, можно рассматривать как противоопухолевый препарат.

Источники финансирования: Fulbright Visiting Scholar Program, Chairman, J. William Fulbright, FSB, USA.

ВЛИЯНИЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА НА УРОВЕНЬ МОНОАМИНОВ В МОЧЕ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

Горошинская И.А., Каплиева И.В., Атаева Е.М., Трепитаки Л.К., Погорелова Ю.А., Качесова П.С., Шевченко А.Н.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Миздрава России, Ростов-на-Дону

Введение. Предполагаемая роль серотонина и катехоламинов, выполняющих функции нейротрансмиттеров, в канцерогенезе и прогрессировании злокачественных опухолей, а также данные литературы о связи между развитием рака мочевого пузыря (РМП) и диабетом обуславливают актуальность анализа содержания моноаминов в легко доступной для исследования моче при РМП в зависимости от наличия у пациентов сахарного диабета (СД) 2-го типа.

Цель работы. Исследовать содержание биогенных моноаминов в моче больных РМП, протекающим на фоне СД и без него.

Материалы и методы. 22 больных немышечно-инвазивным РМП были разделены на основную группу — РМП на фоне СД, и контрольную — без СД, по 11 пациентов в каждой. В группы сравнения вошли 11 человек без онкопатологии и СД (доноры) и 8 пациентов с СД 2-го типа без онкопатологии. В моче определяли содержание норадреналина, дофамина, серотонина и продукта его метаболизма 5-оксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК) методом ИФА. Использована Statistica 10.0.

Результаты и обсуждение. Для всех больных РМП было характерно повышение содержания в моче серотонина и 5-ОИУК, у больных РМП с СД — в 2,7 и 4,5 раз ($p < 0,0001$) соответственно, а у больных РМП, не страдающих СД, — только в 1,8 и 2,9 раз ($p < 0,0005$). Индекс соотношения 5-ОИУК к серотонину был выше, чем в группе доноров на 47,4% ($p < 0,05$), что указывает на возможность развития окислительного стресса у больных РМП, особенно с СД в результате повышенного образования перекиси водорода в катализируемом моноаминоксидазой (МАО) превращении серотонина в 5-ОИУК. Индекс соотношения норадреналина к серотонину во всех группах больных был ниже, чем у доноров, что было особенно выражено при РМП+СД: в 3,5 раз ($p = 0,0001$)

относительно доноров и в 1,9–2,3 раз ($p < 0,01$) относительно других групп. Пациенты группы сравнения (СД без РМП) отличались двукратно сниженным содержанием норадреналина и самым высоким соотношением 5-ОИУК к серотонину, превышающим данный индекс у здоровых в 2,5 раз ($p = 0,002$), а у больных РМП как с СД, так и без него — в 1,7 раз ($p = 0,027–0,034$). Это подтверждает наличие МАО-зависимого механизма развития окислительного стресса у больных СД 2-го типа.

Заключение. Наиболее высокий уровень серотонина и 5-ОИУК при РМП на фоне СД, возможно, способствует более тяжелому течению заболевания и худшему прогнозу у таких больных.

РЕКОМБИНАНТНАЯ АРГИНИНДЕИМИНАЗА СРЕПТОКОККА *S. PYOGENES* ПОДАВЛЯЕТ РОСТ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Егидарова Е.Ю.¹, Филатенкова Т.А.¹, Грудина Н.А.¹, Соколов А.В.¹, Суворов А.Н.^{1,2}

¹ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

Аргининдеиминаза (ADI) — фермент, катализирующий гидролиз L-аргинина (R) до цитрулина с образованием аммиака. Известно, что эукариотические клетки способны превращать цитруллин в R с помощью аргининосукцинатсинтетазы и аргининосукцинатлиазы. Однако экспрессия этих ферментов подавляется в ряде опухолевых клеток, что делает их ауксотрофными по R. Таким образом, удаление R из среды с помощью ADI ведет к избирательной гибели опухолевых клеток, не затрагивая нормальные. Согласно данным проведенных ранее исследований ADI, полученная из лизата клеток *Streptococcus pyogenes* M22, обладает значительным противоопухолевым потенциалом.

Нами был создан штамм-продуцент *E. coli*, экспрессирующий ген рекомбинантной аргининдеиминазы (rADI). Кодированная последовательность гена *argA* была взята из штамма *S. pyogenes* M22 A1168. Последовательность rADI содержала His-tag для очистки на Ni-хелатирующей-агарозе. Очистку rADI из клеточного лизата осуществляли при помощи варианта металл-аффинной хроматографии, где в качестве сорбента была использована сефароза 6B. После активации бромцианом к ней присоединяли лизин, к аминокгруппе которого через карбодиимид иммобилизовали кальцеин. Для элюции rADI использовали ступенчатый градиент имидазола с pH 6,6. В элюирующий раствор добавляли 0,5 NaCl и 0,5 мМ 2-меркаптоэтанол для сохранения активности фермента.

Была проанализирована активность rADI в отношении культур опухолевых (Panc02, H22a, Caco-2) и нетрансформированных (фибробласты) клеток в MTT тесте. Наиболее значимое влияние оказывало добавление rADI к клеткам Panc02 и Caco-2. Гепатома H22a практически не реагировала на добавление исследуемого белка. Наилучший эффект наблюдался при самой высокой концентрации фермента в среде — 20 мкг/мл.

В дальнейшем для подтверждения полученных результатов была изучена цитотоксичность rADI на клетки Caco-2 и клетки фибробластов (контроль) в режиме реального времени с помощью клеточного анализатора xCelligence. При добавлении 10 мкг/мл фермента происходила остановка пролиферации клеток, а при добавлении 20 мкг/мл — наступала гибель клеток (около 70% клеток), что согласуется с данными MTT теста.

В обоих тестах — MTT и xCelligence было показано низкое токсическое воздействие rADI на контрольные нормальные клетки.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке НЦМУ «Центр персонализированной медицины».

УПРАВЛЕНИЕ МЕТАБОЛИЗМОМ МЕДИ КАК СТРАТЕГИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ

Ильичева Е.Ю.^{1,2}, Магазенкова Д.Н.^{1,2}, Скоморохова Е.А.^{1,2}, Джассим З.М.¹, Пучкова Л.В.^{1,2}

¹ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет ИТМО», Санкт-Петербург

²ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

Медь (Cu) — микроэлемент, который используется как каталитический и регуляторный фактор. У онкологических пациентов её концентрация повышается в сыворотке крови и в опухолях. Это связано с тем, что опухолевые клетки испытывают более высокую потребность в Cu для ангиогенеза и метастазирования, что позволяет рассматривать ограничение доступа Cu к клеткам опухолей как одну из стратегий терапии. В клинике хелаторы Cu используют для лечения рака молочной железы. Однако они связывают пищевую Cu, создавая её дефицит для ферментов. Альтернативным подходом может быть использование серебра (Ag) в виде ионов или наночастиц, которые изоэлектронны Cu(II). Попадая в печень, они встраиваются в церулоплазмин (ЦП), основной внеклеточный Cu-транспортный белок, который является универсальным донором Cu, что приводит к её дефициту для быстро растущих клеток.

В экспериментах на *nude* мышах, выращивающих опухоль кишечника человека, нами было показано, что обработка мышей Ag до инокуляции опухоли вызывает ускоренный рост опухолей, но одновременная обработка Ag и перевивка опухоли подавляет её рост. У мышей, выращивающих аденокарциному Эрлиха (АКЭ) предобработка Ag до перевивания опухоли не влияет на выживаемость животных. Введение Ag одновременно с перевиванием опухоли приводит к увеличению продолжительности жизни мышей с асцитной формой АКЭ. Введение Ag в солидную АКЭ увеличивает выживаемость мышей. Выживаемость также увеличивается у мышей с асцитной АКЭ, которым Ag начинали вводить на 5-й день после инокуляции опухоли в сочетании с противоопухолевым препаратом цисплатином, при этом отдельное введение цисплатина и Ag не приводило к увеличению продолжительности жизни мышей. Все данные по изменению выжива-

емости сопровождались изменением статуса Cu в сыворотке крови. В печени мышей рост асцитической АКЭ стимулировал экспрессию генов внутриклеточного транспорта меди. В опухолях животных, обработанных Ag, снижался уровень экспрессии генов *HIF1A*, *TNFA*, *VEGFA*, *DMT1*, *GPI-Cp* и повышался уровень LOX-мРНК. У мышей с солидной АКЭ, которым Ag вводили в опухоль, снижалась активность генов *VEGFA* и *VEGFR1*, в то время как активность генов *HIF1A*, *TNFA*, *LOX*, *Cp*, *GPI-Cp* повышалась.

Полученные данные однозначно показывают, что дефицит ЦП-ассоциированной Cu снижает скорость роста опухолей. Дальнейшие исследования будут направлены на понимание молекулярных механизмов связи статуса Cu с опухолевым ростом и активностью генов, кодирующих Cu-зависимые онкосупрессоры.

Источники финансирования. Работа поддержана грантом РНФ №20-74-10087.

УРОВЕНЬ БЕЛКОВ ЦИТОСКЕЛЕТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ОПУХОЛЕВОГО ПРОЦЕССА У БОЛЬНЫХ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ГОЛОВЫ И ШЕИ

Какурина Г.В.^{1,2}, Середа Е.Е.^{1,2}, Черемисина О.В.¹, Кондакова И.В.¹, Чойнзонов Е.Л.¹

¹ФГБНУ «Томский научно-исследовательский медицинский центр РАН», НИИ онкологии, Томск

²ФГБОУ ВО «Сибирский Государственный Медицинский Университет» Минздрава России, Томск

Плоскоклеточный рак головы и шеи (ПРГШ) — агрессивное опухолевое заболевание с высокой частотой прогрессирования, и, соответственно, высокой смертностью. Прогрессирование тесно связано с динамикой цитоскелета опухолевой клетки, которая регулируется различными белками цитоскелета. Проводили анализ концентрации таких белков цитоскелета в ткани у больных ПРГШ: профилин-1 (PFN1), кофилин-1 (CFL1), фасцин-1 (FSCN1), эзрин (EZR), аденилат-циклаза-ассоциированный протеин-1 (CAP1) и протеинфосфатаза 1B (PPM1B). В исследование вошли 29 больных ПРГШ, которые были сгруппированы по стадии заболевания: ПРГШ (T1-2N0-1M0) — 1-я группа, и ПРГШ (T3-4N0-2M0) — 2-я группа; и по наличию лимфогенных метастазов: N(–) нет метастазов и есть метастазы N(+). Анализ проводили в опухолевой и прилежащей к первичному опухолевому узлу морфологически не измененной ткани, которую получали перед началом противоопухолевого лечения. Уровень белков измеряли с помощью ИФА наборов на микропланшетном ИФА-ридере Multiskan FC (Thermo Scientific).

Выявлено, что у больных 2-й группы повышен уровень PPM1B на 27%, PFN1 и CAP1 на 24% в опухолевой ткани по сравнению с 1-й группой ($p \leq 0,05$). В морфологически не измененной ткани у больных 2-й группы в 6 раз увеличен уровень EZR по сравнению с 1-й группой ($p \leq 0,01$). В группе больных ПРГШ N(–) в морфологически не измененной ткани увеличен уровень FSCN1 в 2,6 раз по сравнению с группой больных ПРГШ N(+) ($p \leq 0,01$). При этом в опухолевой ткани у больных N(+) на 32% увеличен уровень CAP1 ($p \leq 0,01$).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что содержание белков цитоскелета в ткани больных ПРГШ зависит от основных характеристик опухолевого роста, при этом

отмечены изменения не только в первичной опухоли, но и в морфологически не измененной ткани. Увеличение уровня PPM1B и PFN1, возможно, говорит об активации белков цитоскелета с помощью механизмов «фосфорилирование-дефосфорилирование». Так, в клетках MDA-MB-231 в ядре фосфорилирование PFN1 связано с блоком апоптоза, в цитоплазме дефосфорилирование PFN1 связано с усилением инвазивности этих клеток. Увеличение уровня EZR в морфологически не измененной ткани, возможно, связано с процессами в микроокружении опухоли. В частности, есть данные об иммуносупрессивной роли эзрина с энтозом, механизмы которого не изучены, и амебоидным движением опухолевых клеток.

ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМЫ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА У ПАЦИЕНТОВ С ПОВЕРХНОСТНЫМ РАКОМ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ, РАЗВИВАЮЩИМСЯ НА ФОНЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2-ГО ТИПА

Каплиева И.В., Атаева Е.М., Франциянц Е.М., Шевченко А.Н., Погорелова Ю.А., Трепитаки Л.К., Качесова П.С., Швырёв Д.А.

ФГБУ «Национальный Медицинский Исследовательский Центр Онкологии» Минздрава РФ, Ростов-на-Дону

Известно, что система эпидермального фактора роста (EGF) участвует в патогенезе рака мочевого пузыря (РМП), а увеличение экспрессии рецептора EGF в опухолевых клетках связано с его прогрессированием. РМП — патология людей преимущественно пожилого возраста, имеющих целый букет коморбидных заболеваний, среди которых наиболее часто встречается сахарный диабет 2-го типа (СД2).

Цель исследования — изучить особенности содержания EGF и растворимой формы его рецептора (sEGF-R) в крови, моче и опухоли при РМП, сочетающегося с СД2.

Материал и методы. 31 пациент обоего пола (средний возраст $67,8 \pm 2,5$ лет) с немывочно-инвазивным РМП, гистологическая верификация — уротелиальная карцинома, были разделены на группы: основную (СД2+РМП) — 11 человек и контрольную (РМП) — 20 человек. Группы сравнения (СД2) и условно-здоровых доноров включали 8 и 11 человек соответственно. Забор крови и мочи у пациентов с РМП производился на этапе госпитализации. Опухолевый материал изымали на этапе трансуретральной резекции. Содержание EGF и sEGF-R в крови, моче и 10% гомогенатах опухоли определяли методом ИФА (R&D Systems, США). Статистический анализ проводили в программе Statistica 12.

Результаты. Установлено, что только при РМП увеличивалось количество EGF в крови — в 2,8 раза по сравнению с донорами и группой СД2. Уровень sEGF-R уменьшался при РМП как без, так и в сочетании с СД2 в 1,4 раза ($p < 0,0058$) по сравнению с донорами и группой СД2, что приводило к увеличению соотношения лиганд/рецептор в крови у всех пациентов с РМП вне зависимости от отсутствия или наличия СД2. В моче увеличива-

лась концентрация sEGF-R и при РМП, и при СД2+РМП соответственно в 2,9 и 3,5 раза относительно доноров и в 2,3 и 2,7 раза относительно группы СД2. Уровень EGF снижался только при СД2+РМП в 1,3 раза относительно доноров ($p = 0,033$) и РМП ($p = 0,040$), однако у всех пациентов с РМП, вне зависимости от СД2, уменьшалось соотношение лиганд/рецептор в моче. В опухоли при СД2+РМП количество EGF и sEGF-R было меньше, чем без СД2 соответственно в 1,5 раза ($p = 0,031$) и в 2,0 раза ($p = 0,027$), при этом соотношение лиганд/рецептор в опухолях не отличалось.

Выводы. Таким образом, только при РМП без СД2 увеличивается накопление EGF в крови и вне зависимости от статуса СД2 возрастает выведение sEGF-R с мочой. Наличие коморбидной патологии в виде СД2 приводит к дефициту EGF и sEGF-R в опухоли и EGF в крови (относительному) и моче (абсолютному).

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТА ТЕМОЗОЛОМИД НА УРОВНИ ОНКОГЕНА MYCN И ОСНОВНЫХ МАРКЕРОВ РАКОВЫХ СТЕВЛОВЫХ КЛЕТОК ГЛИОБЛАСТОМЫ

Коваленко Т.Ф., Абдуразаков А., Филина М.Н., Смирнова Ю.Д., Мазур Д.В., Шахпаронов М.И., Антипова Н.В.

ФГБУН ГНЦ РФ «Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

Глиобластома (ГБМ) является наиболее агрессивной опухолью головного мозга, для которой характерен чрезвычайно неблагоприятный прогноз и почти 100% частота развития рецидивов. На данный момент в химиотерапии ГБМ используется препарат темозоломид (TMZ). Однако препарат увеличивает среднюю продолжительность жизни лишь на 2 месяца. Причиной низкой эффективности TMZ является исходная или приобретенная в процессе терапии резистентность клеток ГБМ. Известно, что опухолевые стволовые клетки (ОСК) обладают повышенной резистентностью к различным видам терапии. Исходя из этого, мы предположили, что причиной развития устойчивости к TMZ является увеличение доли ОСК в общей популяции клеток глиобластомы под действием препарата.

Целью данной работы явилось определение уровней основных маркеров ОСК в клетках ГБМ после инкубации клеток с TMZ.

В работе были использованы клетки четырех первичных культур ГБМ, культивируемые в виде нейросфер. Клетки культивировали в течение 24 ч в среде, содержащей 200 мкМ TMZ, после чего определяли относительные уровни экспрессии основных маркеров ОСК глиобластомы: CD133, CD44 и SOX2. Помимо этого, мы анализировали уровень ключевого онкогена, задействованного в патогенезе ГБМ и участвующего в поддержании раковых стволовых клеток — MYCN.

В клетках двух из четырех линий ГБМ после инкубации с TMZ было обнаружено значительное возрастание уровней анализируемых маркеров. Кроме того, в одной из линий наблюдалось увеличение уровня экспрессии гена MYCN. Таким образом, мы полагаем, что в ряде случаев темозоломид способствует

повышению доли раковых стволовых клеток в общей популяции клеток глиобластомы, что, в свою очередь, может быть причиной развития резистентности к данному препарату.

Источники финансирования. Грант РФФИ 24-15-00097.

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ИНТРАОПЕРАЦИОННОЙ ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКЕ КРАЕВ РЕЗЕКЦИИ ОПУХОЛЕЙ

Ковтун О.Г.¹, Лушников А.А.¹, Белашов А.В.²

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, НИИ канцерогенеза, Москва

²ФГБУН «Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе» РАН, Москва

Введение. Точность прижизненной интраоперационной патоморфологической диагностики (ИПД) — важный фактор при исследовании полей резекции (ПР) на криостатных срезах опухоли. Предварительный анализ историй болезни 762 пациенток с раком молочной железы (РМЖ) из Б/д БАРС показал важность результатов ИПД для снижения риска рецидивов: среди пациенток с выполненной ИПД частота рецидивов через 2 года после резекции была ниже, чем у не прошедших ИПД больных с сопоставимыми стадиями РМЖ ($p < 0,05$).

Цель. Гистологическая идентификация микрометастазов и отдельных опухолевых клеток в краях резекции опухоли при ИПД с помощью специфичных молекулярных маркеров и/или путем лазерного сканирования срезов.

Результаты. Модифицированы методики быстрой фиксации криостатных срезов (КС) и ИГХ-анализа за счет непродолжительной инкубации КС с антителами и субстрат-хромогеном, а также промывок (всего 15–20 мин). Предлагаемый подход к ИПД апробирован на КС протокового и долькового РМЖ и первичного рака толстой кишки (всего 11 образцов опухолей, 52 препарата) с помощью маркера пролиферации Ki-67, флуоресцентно меченых NCL и AQP5. Анализ КС (>4 сегментов опухоли, ПР > 6 см от края) позволяет идентифицировать молекулярные маркеры в клетках ПР и при необходимости корректировать площади полей резекции. Для количественной оценки меченых маркеров в полях зрения и проверки точности результатов ИПД использован пакет программ MatLab и цифровой анализ изображений. Это позволяет оценить различия в количестве, плотности и распределении одного или нескольких маркеров в опухоли и ПР.

В дальнейшем предлагаемый подход будет апробирован на панели маркеров Pr, ER, AQP

1,2,3, Her2/neu и других, в зависимости от типа опухоли. Кроме того, разрабатывается подход к ИПД с использованием прецизионных методов лазерного сканирования поверхности клеток для дифференциации нормальных и опухолевых клеток в поле резекции по типу голографических изображений и сравнения графических профилей клеток, их оптической плотности и других специфичных параметров.

Другой перспективный подход основан на применении ряда флуоресцентно меченых опухолевых маркеров, в т.ч. меченого лиганда Cy5-NC811 для рецепторного NCL с последующей цифровой визуализацией опухолевого узла и опухолевых клеток в полях резекции при световой микроскопии в комбинации с лазерным сканированием срезов, что повысит точность и скорость ИПД и позволит снизить риск послеоперационных рецидивов.

АКТИН-СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ В РАЗВИТИИ И ПРОГРЕССИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

Кондакова И.В.¹, Какурина Г.В.¹, Бахронов И.А.², Сиденко Е.А.¹, Середа Е.Е.¹, Коршунов Д.А.¹, Юнусова Н.В.¹, Чойнзонов Е.Л.¹

¹НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Томск

²Областное государственное автономное учреждение здравоохранения «Томский областной онкологический диспансер», Томск

В процессе неопластической трансформации эпителиальные клетки становятся подвижными, что сопровождается перестройкой актинового цитоскелета и в дальнейшем служит одним из основных механизмов опухолевой прогрессии. Динамическая организация полимерного актина зависит от множества актин-связывающих белков (АСБ), осуществляющих ассоциацию/диссоциацию актиновых филаментов между собой и с клеточной мембраной.

В представленной работе изучали вовлеченность АСБ: фасцина 1 (FSCN1), CAP1, профилина 1, эзрина, кофилина (CFL1) в развитие опухолей гортани на модели хронического гиперпластического ларингита (ХГЛ) (high grade), который рассматривается как обильный предрак гортани, и злокачественных опухолях гортани.

Содержание актин-связывающих белков в тканях и сыворотке крови определяли иммуноферментным методом. Кроме того, оценивали уровень экспрессии мРНК, кодирующих эти белки, в изучаемых тканях.

При плоскоклеточном раке гортани сывороточные уровни CAP1, CFL1, FSCN1 были увеличены в 14; 2,6 и 21 раз, соответственно, по сравнению с пациентами с ХГЛ. Также у больных раком гортани со стадией T1N0M0 уровни мРНК FSCN1, CAP1 CFL1 были выше в 14,5, 15 и 1,8 раза соответственно, по сравнению с группой пациентов ХГЛ. Дальнейшее развитие опухоли также сопровождается изменением количества АСБ и кодирующих их мРНК. С увеличением размера первичной опухоли гортани значимо увеличивались уровни сывороточных FSCN1, CAP1 и профилина 1. В группе больных раком гортани с лимфогенными метастазами отмечен повышенный сывороточный уровень FSCN1 и CAP1 в 5,2 и в 1,75, соответственно, и уровни

CAP1 и FSCN1 были выше на 39% и в 2,6 раза в опухолевой ткани по сравнению с больными без метастазов. При лимфогенном метастазировании отмечен увеличенный уровень мРНК PFN1, CFL1, и CAP1 в опухолевой ткани по сравнению с больными без метастазов. Участие АСБ в прогрессировании опухолевого процесса подтверждено и на других локализациях. При раке молочной железы обнаружено повышение уровня кофилина в ткани опухоли при появлении лимфогенных метастазов. Показана взаимосвязь содержания АСБ с глубиной инвазии рака эндометрия в миометрий. Также была обнаружена связь уровня АСБ с выживаемостью больных.

Таким образом, результаты свидетельствуют о вовлечении АСБ в развитие злокачественных опухолей, а также в инвазию и метастазирование. На основании полученных данных разработаны способы прогноза выживаемости больных злокачественными новообразованиями и способ оценки риска перехода предрака гортани в рак.

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках Государственного задания № FGWM-2022-0019 в НИИ онкологии Томского НИМЦ.

ЛОКАЛЬНЫЙ ПРОФИЛЬ ЦИТОКИНОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ИНТРАОПЕРАЦИОННОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА

Комарова Е.Ю.¹, Златник Е.Ю.¹, Комарова Е.Ф.^{1,2}, Сагакянц А.Б.¹, Новикова И.А.¹, Дженкова Е.А.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону

²ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону

Исследовали уровень цитокинов в слюне после проведения интраоперационной фотодинамической терапии (ИФДТ) у 60 больных местно-распространенным раком слизистой оболочки полости рта (СОПР) T3-4aN0-2M0 без специального лечения. Оценку концентрации цитокинов осуществляли на дооперационном этапе, через 3 и 7 сут после хирургического вмешательства методом ИФА мультиплекс-анализа.

При сравнительном анализе выявлено, что особенностью динамики цитокинов слюны в группе с ИФДТ было возрастание на 3-и сутки уровней IL-1β и IL-8 на 34% и 365% соответственно относительно дооперационного уровня ($p < 0,05$), превышая показатели в контрольной группе на 439% и в 12 раз ($p < 0,05$). Межгрупповые различия на этом сроке выражались в снижении локального содержания TNF-α на 43% и IFN-γ на 30% ($p < 0,05$) относительно дооперационного уровня у больных без ИФДТ при отсутствии статистически значимых изменений в группе с ИФДТ. На 7-е сутки локальные уровни цитокинов, более высокие у больных основной группы на 3-и сутки, снижались, оказываясь ниже показателей в контроле: IL-1β на 68%, IL-8 на 30% и IFN-γ на 31% (во всех случаях при $p < 0,05$). В этом сроке было отмечено выраженное снижение содержания IL-10 и IL-12 в обеих группах: уровень IL-10 относительно дооперационного уровня — на 12% в группе с ИФДТ ($p < 0,05$) и на 100% в группе без ИФДТ ($p < 0,05$), а содержание IL-12 — на 20% и 46% соответственно ($p < 0,05$). Однако в группе с ИФДТ это происходило параллельно с уменьшением продукции IL-8 и IL-1β, а в группе без ИФДТ, напротив, уровни последних увеличивались.

Полученные результаты указывают на более ранние пики концентраций IL-1β и IL-8 в груп-

пе с ИФДТ, что свидетельствует об активном развитии воспалительной реакции на 3-и сутки и ее купировании на 7-е сутки после операции. При этом у больных без дополнения ИФДТ на 7-е сутки после операции наблюдалось снижение содержания IL-10 в слюне, что указывает на пролонгирование локальной воспалительной реакции под действием возросших к этому сроку уровней IL-8 и IL-1β.

Сниженные на протяжении всего срока наблюдения уровни TNF-α и IFN-γ в слюне больных без ИФДТ могут говорить о дисфункции Т-, НК-лимфоцитов, макрофагов и других эффекторных клеток.

Значимая противоопухолевая эффективность ИФДТ, о чем свидетельствует увеличение показателей общей и безрецидивной выживаемости больных раком СОПР, с учетом выявленных особенностей локального состава цитокинов в периоперационном периоде позволяет предполагать ее иммуотропное действие.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КЛЕТОК РАКА ШЕЙКИ МАТКИ К ИОНИЗИРУЮЩЕМУ ИЗЛУЧЕНИЮ

Логашенко Е.Б.¹, Михайлова Д.М.², Талышев В.А.¹, Татарникова И.С.¹, Пашковская О.А.³

¹ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск

²ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России, Новосибирск

Рак шейки матки (РШМ) — одно из наиболее распространенных злокачественных образований у женщин до 45 лет. Лучевая терапия считается эффективным методом лечения онкологических заболеваний и в случае РШМ может применяться в качестве самостоятельного лечения. Тем не менее, за последние 25–30 лет достаточно большой процент больных умирают от прогрессирования заболевания. Это обусловлено низкой радиочувствительностью и/или приобретаемой радиорезистентностью опухолевых клеток. Известно, что чувствительность опухолей одного и того же типа к облучению у различных индивидуумов существенно различается.

Для определения факторов, влияющих на чувствительность клеток к ионизирующему излучению в работе использовали три линии клеток рака шейки матки, а именно HeLa, CaSki, SiHa, а также первичные культуры клеток, полученные от одной и той же пациентки до и после радиотерапии.

Клетки однократно облучали, после чего исследовали влияние полученной дозы на пролиферативную активность и жизнеспособность, а также на скорость миграции. Оценку гибели клеток, включающей в себя апоптоз и некроз, проводили с помощью проточной цитофлуорометрии по окраске Anntxin-FITC и пропидием йодида, также оценивали влияние облучения на клеточный цикл.

Было показано, что наиболее высокой радиочувствительностью обладали клетки CaSki, в интактном состоянии характеризующиеся наибольшей пролиферативной и миграционной активностью. Также было продемонстрировано, что ионизирующее излучение в исследуемых дозах не оказывает значительного влияния на миграционную активность ни одной из трех линий (SiHa,

HeLa, CaSki). Интересно, что первичные клетки, выделенные из опухоли после проведения пациентке терапии, демонстрировали сниженную пролиферативную активность по сравнению с клетками, выделенными до радиотерапии, но при этом миграционная активность оставалась на том же уровне.

Источники финансирования. Работа поддержана грантом РФФ №19-74-30011.

АКТИВАЦИЯ КОНТРОЛЬНОЙ ТОЧКИ ВЕРЕТЕНА ДЕЛЕНИЯ ВЛИЯЕТ НА ОТВЕТ НА ТЕРАПИЮ ТАКСАНАМИ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Луппов Д.В.¹, Сорокин М.И.^{1,2}, Буздин А.А.^{1,2}, Захарова Г.С.²

¹ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)», Долгопрудный

²ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

Таксаны — один из наиболее широко используемых классов препаратов для лечения рака молочной железы (РМЖ). Несмотря на длительную историю клинического применения, молекулярные механизмы как действия таксанов, так и устойчивости рака к ним до сих пор не до конца изучены.

В данной работе мы поставили перед собой цель найти экспрессионные биомаркеры и биомаркеры уровней активации молекулярных путей для предсказания чувствительности РМЖ к паклитакселу и доцетакселу (основным препаратам класса таксанов). Для этого мы использовали самый большой, по нашим сведениям, набор открытых клинически аннотированных данных экспрессии генов пациентов с РМЖ, проходивших лечение таксанами (12 наборов данных, $n=1250$) и экспериментальную когорту пациентов ($n=12$). При этом семь открытых наборов данных были использованы для нахождения биомаркеров ($n=914$), а остальные пять открытых наборов плюс один экспериментальный набор ($n=336$) — для валидации.

Мы обнаружили 34 гена и 29 молекулярных путей, которые различают хороший и плохой клинический ответ на лечение таксанами. Связанные с ними молекулярные процессы в основном касались формирования митотического веретена, а также центромер и контрольной точки сборки митотического веретена. Данные результаты подчеркивают важность механизма работы таксанов, включающего в себя активацию контрольной точки веретена деления и последующий апоптоз. Используя весь набор дифференциальных генов и путей, мы создали экспрессионные подписи для генов и сигнальных путей, предсказывающие ответ пациентов с РМЖ на таксаны, и проверили их на валидационной когорте. Построение проводилось методом

шаговой оптимизации AUC. Подписи, построенные по экспрессии генов, и по активации сигнальных путей продемонстрировали высокие значения AUC, со средним, равным 0,76 и 0,77, соответственно, что превосходит ранее описанные подписи ответа на данные терапии.

В совокупности эти результаты могут углубить понимание механизмов действия таксанов и потенциально улучшить персонализированную терапию РМЖ.

Источники финансирования. Работа поддержана грантами РНФ под номерами 20-75-10071 и 22-74-10031.

ВЛИЯНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ B16 И ОПУХОЛЕВОГО ОКРУЖЕНИЯ НА РОСТ МЕЛАНОМЫ *IN VITRO* И *IN VIVO*

Миронова Н.Л.¹, Филатова А.А.^{1,2}, Алексеева Л.А.¹, Савин И.А.¹, Сенькова А.В.¹, Зенкова М.А.¹

¹ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск

²ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск

В крови пациентов с онкологическими заболеваниями часто наблюдается повышение концентрации внеклеточной ДНК (внДНК), в составе которой детектируют фрагменты опухолевой ДНК. Несмотря на то, что состав такой внДНК хорошо изучен, ее функции остаются невыясненными. Также остается невыясненным, могут ли в состав внДНК вносить вклад клетки опухолевого микроокружения, такие как опухоль-ассоциированные фибробласты (CAF), и какова роль подобной внДНК в развитии опухоли.

Нами исследовано влияние внДНК, генерируемых *in vitro* клетками меланомы мыши B16 (B16-внДНК) и фибробластами мыши L929 (L929-внДНК), на клетки B16 *in vitro*, рост опухоли и метастазирование *in vivo*.

Анализ внДНК показал, что в B16-внДНК высоко представлены фрагменты мобильных генетических элементов (МГЭ) (B1, L1) и онкогенов (Myc, Ras). В L929-внДНК были выявлены фрагменты МГЭ L1 в таком же количестве, а количество копий Myc оказалось выше, чем в B16-внДНК. Анализ митохондриальной ДНК в составе внДНК выявил фрагменты мтДНК только в B16-внДНК, но не в L929-внДНК. Опухолевая B16-внДНК оказалась гипометилирована по сравнению с L929-внДНК. Оказалось, что *in vitro* эффекты, оказываемые внДНК на клетки B16, зависят от источника внДНК: B16-внДНК снижала миграцию и пролиферацию клеток B16, а также запускала апоптоз, тогда как L929-внДНК стимулировала их пролиферацию и миграцию. Клетки B16 инкубировали *in vitro* с внДНК, а затем вводили мышам C57Bl подкожно для формирования опухолевого узла (модель I) или внутривенно для формирования метастазов в легких (модель II). Обработка клеток B16 B16-внДНК приводила к уменьшению опухолевого узла и количества метастазов в моделях I и II, тогда как обра-

ботка клеток B16 L929-внДНК стимулировала рост опухолей и метастазов в обеих моделях. Полученные данные подтверждают, что внДНК, генерируемая фибробластами, участвует в опухолевой прогрессии и в формировании новых опухолевых очагов, что поднимает вопрос об участии в этих процессах внДНК, генерируемых другими клетками опухолевого микроокружения.

Источники финансирования: грант РНФ № 22-14-00289.

ПРИНЦИПЫ КОНСТРУИРОВАНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ микроРНК-СПЕЦИФИЧНЫХ ИСКУССТВЕННЫХ РИБОНУКЛЕАЗ: НОВЫЙ ПОДХОД В микроРНК-НАПРАВЛЕННОЙ ТЕРАПИИ

Патутина О.А., Мирошниченко С.К., Чиглинцева Д.А.

ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск

Концепция применения синтетических нуклеиновых кислот и их конъюгатов с биологически активными молекулами в качестве перспективных терапевтических средств приобретает всё большее развитие, представляя собой новую парадигму в борьбе со злокачественными заболеваниями. В сравнении с традиционными лекарственными средствами использование адресно-направленных терапевтических нуклеиновых кислот обеспечивает принципиально новый механизм действия, позволяющий специфически воздействовать на конкретные молекулярные мишени, в том числе различные типы абберантных внутриклеточных РНК, участвующих в развитии процессов онкотрансформации. Воздействие на ключевые процессы канцерогенеза за счёт модуляции активности онкогенных микроРНК привлекает всё более широкое внимание.

Для направленного подавления микроРНК нами предложен новый подход, основанный на каталитическом разрушении патогенных молекул с использованием миРНК-направленных олигонуклеотид-пептидных искусственных рибонуклеаз — миРНКаз.

Было разработано несколько конфигураций миРНКаз, отличающихся по структуре олигонуклеотидного домена и включающих каталитический пептид ацетил-(LRLRG)-(LRLRG)-COOH, направленный на определенные функциональные детерминанты микроРНК. Основным преимуществом созданных ингибиторов является их высокая рибонуклеазная активность, которая позволяет эффективно расщеплять микроРНК, находящуюся в избытке по отношению к миРНКазе. Одновременно с этим миРНКазы сконструированы таким образом, что образованный с микроРНК гетеродуплекс образует субстрат для РНКазы H, что обеспечивает синергическое расщепление мишени. Разработанные миРНКазы проявляют высокую биологическую активность, выра-

жающуюся в подавлении пролиферативных и миграционных свойств опухолевых клеток *in vitro*, а также ингибировании роста опухоли *in vivo*.

В качестве РНК-ингибиторов искусственные РНКазы демонстрируют высокий потенциал и представляют собой новый подход для терапии РНК-ассоциированных заболеваний.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант № 19-74-30011.

ВЛИЯНИЕ ХИМИОТЕРАПИИ НА ПЕПТИДНЫЙ ПАТТЕРН ЛИГАНДОВ ГЛАВНОГО КОМПЛЕКСА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ I КЛАССА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ЯИЧНИКОВ

Петрова А.В.¹, Кузнецов А.А.¹, Шендер В.О.^{1,2}, Шнайдер П.В.¹, Арапиди Г.П.^{1,2}

¹ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. Ю.М. Лопухина» ФМБА, Москва

²ФГБУН ГНЦ РФ «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

Ранее нами было показано изменение сплайсинга в опухолевых клетках в ответ на использование химиотерапевтических препаратов платины и таксанов, причем различные препараты вызывали схожие изменения сплайсинга. У нас возникла гипотеза о том, что в результате изменения сплайсинга, вызванного применением терапевтических препаратов, через главный комплекс гистосовместимости I класса (MHC I; Major histocompatibility complex class I) опухолевые клетки будут презентировать новые антигены, которые можно рассматривать как потенциальные мишени для иммунотерапии. Целью работы является поиск потенциальных мишеней для иммунотерапии аденокарциномы яичника, появляющихся после химиотерапии. Предварительно была разработана и улучшена методика выделения иммунопептидома из клеточных линий и постоперационного опухолевого материала, которая позволила идентифицировать с 0,1 г опухолевого материала (примерно 100 млн клеток) свыше 1000 уникальных пептидных последовательностей лигандов MHC I, более 80% которых являются аффинными к соответствующим аллелям MHC I по данным биоинформатического анализа.

Среди 3774 идентифицированных пептидов иммунопептидома аденокарциномы яичника обнаружено 97 пептидных фрагментов 10 опухоль-специфичных белков (СТА, Cancer/Testis Antigens), которые в норме синтезируются только клетками половых желез мужчин, и которые представляют интерес для иммунотерапии. 7 СТА белков были описаны как потенциальные мишени для иммунотерапии ранее, в базе данных CTDatabase. 3 потенциальных СТА белка, фрагменты которых мы обнаружили в иммунопептидоме аденокарциномы яичника, ранее не были

обнаружены в опухолях. Это продукты генов FSIP2, RCC2, CLGN. Их специфичность для опухоли была подтверждена на основании данных ресурса «The Human Protein Atlas». Также в иммунопептидоме пациентов (как до, так и после химиотерапевтического лечения) были обнаружены пептидные фрагменты продукта гена MUC16 – Муцина-16 или опухолевого антигена CA125 – известного маркера аденокарциномы яичника.

Работа осуществлена при государственном финансировании проекта «Иммунопептидом», номер государственной регистрации НИОКР 124031200004-7.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ МЕТАБОЛИЗМА МЕЛАНОМ СО СПЕРМОСПЕЦИФИЧНОЙ ГЛИЦЕРАЛЬДЕГИД-3-ФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗОЙ ДЛЯ ЦЕЛЕВОЙ ДОСТАВКИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

Поздышев Д.В.¹, Ефимова А.А.², Медведева М.В.¹, Абрамова Т.А.²

¹ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Москва

²ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Химический факультет, Москва,

Ранее в нашей лаборатории было обнаружено, что в некоторых линиях меланомы присутствует спермоспецифичная форма гликолитического фермента глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (ГАФДс). ГАФДс — паралог соматической глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы — фермента гликолиза, который считается одним из ключевых белков в регуляции энергетического метаболизма. Последующие исследования показали, что накопление этого фермента, вероятно, необходимо для переключения энергетического метаболизма опухолевой клетки с гликолиза на окислительное фосфорилирование. Известно также, что для меланом тип энергетического метаболизма во многом определяет их метастатический потенциал. Метастазы характеризуются снижением уровня гликолитических метаболитов и увеличением количества метаболитов цикла Кребса.

Мы продолжили исследование молекулярных механизмов участия ГАФД и ГАФДс в метастазировании и химиорезистентности меланомы, функциональных отличий этих белков, а также особенностей регуляции экспрессии их генов в раковой клетке с целью поиска мишеней для таргетной терапии.

Показано, что для меланом повышение экспрессии гена, кодирующего ГАФДс, коррелирует с повышением накопления лактата в среде, а значит, приводит к значительному закислению внешней среды. Нами была начата работа по созданию системы для целевой доставки лекарств с учетом метаболических особенностей клеток с повышенным накоплением ГАФДс на основе мультилипосомальных pH-чувствительных контейнеров. В мембрану анионных липосом будет встроен pH-чувствительный липид-переключатель, позволяющий эффективно высвобождать

активные молекулы в среде с пониженными значениями pH, что характерно для микроокружения меланомы.

Использование смеси липосом с разными инкапсулированными веществами, включая химиотерапевтические препараты или препараты для таргетной терапии, открывает путь к получению мультилипосомальных контейнеров с требуемым соотношением действующих веществ.

Источники финансирования. Работа была выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект No 24-74- 10024).

ЗАВИСИМОСТЬ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ днРНК GAS5, HAND2-AS1, LINC00152 И LINC00339 ОТ РАЗМЕРА ОПУХОЛИ И НАЛИЧИЯ ЛИМФОГЕННЫХ МЕТАСТАЗОВ ПРИ СВЕТЛОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ПОЧКИ

Пронина И.В.^{1,2}, Бурденный А.М.^{1,3}, Логинов В.И.^{1,4}

¹ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», Москва

²ФГАОУ ВО «Государственный университет просвещения», Москва

³ФГБНУ «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля» РАН, Москва

⁴ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», Москва

Светлоклеточный почечноклеточный рак (скПКР) составляет 60–85% всех видов рака почки. Частота метастазирования скПКР доходит до 25–30%, что делает актуальным поиск молекулярных маркеров прогноза течения заболевания. Большое внимание уделяется длинным некодирующим РНК (днРНК), осуществляющим тонкую регуляцию биологических процессов в клетках, как потенциальным маркерам.

Целью нашей работы было сравнение уровней экспрессии днРНК GAS5, HAND2-AS1, LINC00152 и LINC00339 в опухолях и нормальной ткани почки и статистический анализ зависимости их изменений от клинико-патологических показателей.

Использовались архивные образцы РНК 70 первичных опухолей с подтвержденным диагнозом скПКР и 70 прилежащих нормальных тканей почки с RIN > 7 по результатам капиллярного электрофореза на приборе Qsep1-Plus (BiOptic, Тайвань). Анализ экспрессии проводили методом количественной ОТ-ПЦР. В качестве референсных генов использовали B2M и ACTB. Статистический анализ проводили с применением многофакторного ANOVA теста. Изменения экспрессии считались значимыми при $p \leq 0.05$.

Выявлено снижение экспрессии днРНК GAS5 в 5,25, HAND2-AS1 в 5,92, LINC00152 в 2,04 и LINC00339 в 2,34 раза в опухоли по сравнению с нормой. Анализ изменений экспрессии в зависимости от размера первичной опухоли (T) скПКР показал, что уровень экспрессии LINC00152 практически не меняется при T1, T2 и T3 по TNM классификации и снижается в 33,43 раза при прорастании опухоли за пределы фасции Герота (T4). Экспрессия LINC00152 была ниже в опухолях с показателем T4 по сравнению с опухолями меньшего размера: T1/T4 — в 10,86 раз, T2/

T4 — в 22,76 раза, T3/T4 — в 27,11 раза. Экспрессия LINC00152 снижается в 4,71 раза при множественном поражении регионарных лимфатических узлов (норма/N2), в т.ч. по сравнению опухолями с отсутствием метастазов в лимфатических узлах (N0/N2) или одним пораженным лимфатическим узлом (N1/N2) в 4,36 и 7,26 раза, соответственно. HAND2-AS1 также имеет более низкий уровень экспрессии в опухоли при множественном поражении регионарных лимфатических узлов: норма/N2 — в 15,02, N0/N2 — в 5,84, N1/N2 — в 4,04 раза. Полученные данные о значимом снижении уровней экспрессии днРНК HAND2-AS1 и LINC00152 при поражении более одного регионарного лимфатического узла (N2 по TNM-классификации опухолей) при скПКР позволяют предложить их в качестве маркеров лимфогенного метастазирования при отсутствии возможности оценить регионарные лимфатические узлы (Nx).

Источники финансирования. Исследование выполнено при поддержке госзадания № FGFU-2022-0007 Министерства науки и высшего образования РФ ФГБНУ «НИИОПП».

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТРОМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ ЭКТОПИЧЕСКОГО, НО НЕ ЭУТОПИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИЯ, ПРОЯВЛЯЮТ ВЫРАЖЕННУЮ ИММУНОСУПРЕССОРНУЮ АКТИВНОСТЬ *IN VITRO*

Сарыглар Р.Ю.¹, Лупатов А.Ю.¹, Чупрынин В.Д.², Павлович С.В.², Ярыгин К.Н.¹

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва

²ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва

Возникновение и прогрессирование эндометриоза сопровождается выраженными изменениями в иммунной системе и формированием воспалительного микроокружения в эктопических нишах. Более полное понимание патогенеза эндометриоза могло бы существенно помочь в разработке новых более эффективных методов лечения.

С использованием проточной цитометрии, мультиплексного анализа и клеточных моделей *in vitro* был проведен сравнительный анализ маркеров клеточной поверхности и иммунологических свойств культур клеток, происходящих из нормального эндометрия и эндометриоидных гетеротопий женщин с экстрагенитальным эндометриозом.

Оба типа полученных культур клеток экспрессировали поверхностные молекулы, характерные для мезенхимных стромальных клеток: CD73, CD90, CD105, CD44, и не экспрессировали эпителиальные (EpCAM, CD24) и гемопоэтические (CD14, CD45, CD11b, CD31) маркеры. Таким образом, полученные культуры состояли из клеток, имевших фибробластоподобную морфологию и стромальное происхождение с характерным для МСК фенотипом. Эти клетки не экспрессировали иммуностимулирующие молекулы (CD80, CD83, CD86) и молекулы главного комплекса гистосовместимости II класса (HLA-DR). Не было выявлено заметных различий в уровне экспрессии главного комплекса гистосовместимости I класса (HLA-ABC) и рецептора фактора некроза опухолей CD95.

Несмотря на схожий фенотип, МСК, полученные из двух источников, обладали разной иммуномодулирующей способностью: клетки эндометриоидных гетеротопий, но не эктопического эндометрия, могли подавлять дифференцировку дендритных клеток из мо-

ноцитов, а также пролиферацию лимфоцитов в аллогенных совместных культурах. Сравнительный мультиплексный анализ секретомов выявил значительное увеличение секреции провоспалительных медиаторов, в том числе IL-6, IF- γ и ряда хемокинов (CCL2, CXCL6, CCL7, CCL8, CXCL9 и CCL17), связанных с воспалением. С другой стороны, не обнаружено существенных различий в секреции другого важного провоспалительного цитокина — TNF- γ . Концентрация IL10, обычно связанная с негативной иммунорегуляцией, также не отличалась в двух типах клеточных культур.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что стромальные клетки в эктопических поражениях эндометрия проявляют повышенную провоспалительную и иммуносупрессивную активность, что, вероятно, оказывает значительное влияние на патогенез и прогрессирование заболевания.

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021–2030 годы) (No122022800499-5).

НОВЫЕ СТРАТЕГИИ ТЕРАПИИ СОЛИДНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ НА ОСНОВЕ КОМБИНАЦИИ МОДУЛЯТОРА СПЛАЙСИНГА ПРЕ-МРНК И ДНК-ПОВРЕЖДАЮЩЕГО ПРЕПАРАТА

Свирина Е.А.¹, Лукина М.М.¹, Ануфриева К.С.¹, Шнайдер П.В.^{1,2}, Иванова О.М.¹, Мочалова Е.Н.³, Никитин М.П.³, Деев Р.В.⁴, Кашина А.В.⁵, Васильчикова Е.А.⁵, Лагарькова М.А.¹, Говорун В.М.⁶, Арапиди Г.П.^{1,7}, Шендер В.О.^{1,7}

¹ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. Ю.М. Лопухина» ФМБА, Москва

²ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Биологический факультет, Москва

³Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Сочи

⁴ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург

⁵ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Нижний Новгород

⁶ФБУН «Научно-исследовательский институт системной биологии и медицины» Роспотребнадзора, Москва

⁷ФГБУН ГНЦ РФ «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

Несмотря на значительный прогресс в лечении солидных злокачественных новообразований, значимой проблемой является развитие устойчивости опухоли к химиотерапии. Ранее нами было показано, что в ответ на ДНК-повреждающую химиотерапию в различных злокачественных опухолях схожим образом изменяется регуляция сплайсинга мРНК, что может быть защитным механизмом опухолевых клеток. Это делает аппарат сплайсосомы привлекательной мишенью для противоопухолевой терапии, однако в клинических испытаниях I фазы модуляторы сплайсинга тестировались в режиме монотерапии и только тормозили рост опухоли, но не элиминировали ее полностью.

Нами было предположено, что модуляторы сплайсинга могут увеличивать чувствительность опухолевых клеток к ДНК-повреждающим агентам.

В работе были использованы клеточные линии различных типов опухолей, линия нормального эпителия фаллопиевых труб и первичная культура дермальных фибробластов. Протеомный анализ проводили с помощью масс-спектрометра Q Exactive HF. Жизнеспособность клеток оценивали с использованием реагента МТТ. Анализ клеточного цикла проводили на проточном цитометре NovoCyte. Метод ДНК-комет проводили по инструкциям Trevigen. Для экспериментов *in vivo* использовали самок мышей Balb/c.

Нами было показано, что модулятор сплайсинга пладиенолид Б (PI-B) имеет синергетический эффект с ДНК-повреждающим агентом (цисплатином) только в режиме последовательного добавления. С помощью протеомного анализа мы обнаружили, что предобработка опухолевых клеток PI-B значительно уменьшает пул белков, участвующих в репарации ДНК. Анализ клеточного цикла показал, что PI-B предотвращает арест опухолевых клеток в S-фазе, необходимой для репарации ДНК. С помощью метода ДНК-комет было выявлено большее количество разрывов ДНК в клетках, обработанных комбинацией препаратов, по сравнению с монотерапией цисплатином или PI-B. Также мы показали, что развитие устойчивости к PI-B не снижает чувствительность к предлагаемой комбинации. Мы апробировали и верифицировали терапевтический эффект предложенной нами комбинации на мышинной опухолевой модели *in vivo*: эффективность была подтверждена значимым ингибированием роста для опухолей, обработанных комбинацией PI-B (1 мг/кг) и цисплатина (2,5 мг/кг), по сравнению с контрольной группой. Таким образом, предобработка опухолевых клеток PI-B приводит к истощению пула белков ДНК репарации, что делает клетки более восприимчивыми к последующему лечению цисплатином.

Источники финансирования: Грант РНФ 22-15-00462.

ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ НИКОТИНОВЫХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ И ДЛИННЫХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК И РИБОСОМАЛЬНЫХ ГЕНОВ В КЛЕТКАХ МИОМЫ

Петросян Э.Г.¹, Мазур Д.В.¹, Резекина А.И.¹, Кавиладзе М.Г.², Азадова Г.Я.², Антипова Н.В.¹

¹ФГБУН ГНЦ РФ «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

²ФГОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

Актуальность: Клинико-морфологические особенности быстрорастущих миоматозных узлов, а также частое их сочетание с гиперпластическими процессами эндометрия, эндометриозом и функциональными кистозными изменениями яичников позволяют предположить, что в основе их развития лежат нарушения, вызываемые половыми стероидами, реализующиеся за счет пролиферации клеток с нарушением процессов апоптоза, что требует комплексного подхода, как в лечении, так и в восстановительном периоде.

Цели: изучить экспрессию различных генов на уровне мРНК, предположительно связанных с процессом онкогенеза.

Материалы и методы. Исследование состояло из 3 групп пациенток: I группа, проходившая лечение в течение 3 мес; II группа, проходившая лечение в течение 6 мес; группа контроля. Первые два эксперимента были направлены на нахождение зависимости относительной экспрессии генов субъединиц никотиновых ацетилхолиновых рецепторов и длинных некодирующих РНК (CASC2, HOTAIR, linc-ROR и MALAT1) в клетках миомы от длительности лечения препаратом «Индинол + эпигаллат» с помощью методики ПЦР в реальном времени. Третий эксперимент был направлен на нахождение корреляции между экспрессией генов рибосомальных белков паралога RPL22 и RPL22L1 в клетках миомы и продолжительностью лечения тем же препаратом с помощью методики классической ПЦР с электрофорезом в агарозном геле.

Результаты. Наибольшие значения относительной экспрессии субъединиц $\alpha 3$ и $\beta 1$ зафиксированы в группе контроля,

а для субъединиц $\alpha 4$, $\alpha 6$, $\alpha 7$ и $\alpha 9$, наоборот, эти показатели максимальны в клетках миомы в I группе. Наибольшее значение относительной экспрессии субъединицы $\alpha 9$ замечено в образцах миомы во II группе. Наиболее вероятными кандидатами на роль маркеров миомы могли бы быть $\alpha 4$, $\alpha 6$, $\alpha 7$, так как их экспрессия достаточно ярко выражена, и максимальное значение принадлежит одной из крайних групп.

Выводы. Исходя из полученных данных, можно сделать предположение о том, что длинные некодирующие РНК на роль маркеров подходят куда больше, чем субъединицы никотиновых ацетилхолиновых рецепторов. Также мы можем сделать вывод о том, что в клетках миомы экспрессируются оба паралога, причем у белка RPL22L1 модулируется две изоформы.

Источник финансирования: грант РФ № 22-14-00234, названия — Низкомолекулярные модуляторы сплайсинга РНК нового поколения как потенциальные препараты для терапии глиобластомы человека, руководитель — Шахпаров Михаил Иванович, доктор химических наук.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК К ЦИТОСТАТИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТАМ *IN VITRO*: РАЗРАБОТКА ЭФФЕКТИВНОЙ ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ДЛЯ ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ МИЕЛОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ

Сенькова А.В.¹, Колесникова М.А.², Поспелова Т.И.³, Зенкова М.А.¹

¹ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск

²Городской гематологический центр (ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница №2»),

Новосибирск

³ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск

В настоящее время для выбора оптимальных схем лечения и прогнозирования ответа на терапию пациентов с острым миелобластным лейкозом (ОМЛ) — опухолевым заболеванием системы крови, характеризующимся злокачественной трансформацией миелоидных клеток-предшественников — проводят стратификацию на группы риска на основании установленных цитогенетических нарушений, а также на группы прогноза на основании интегрированных клинических и молекулярных маркеров (возраст, уровень лейкоцитов, иммунофенотип опухолевых клеток, наличие отдельных генетических мутаций). Несмотря на такой всесторонний подход, ответ на терапию и исход заболевания для конкретного пациента с ОМЛ зависят от ряда факторов. Среди них множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) опухолевых клеток является одним из основных препятствий на пути улучшения результатов лечения и выживаемости пациентов с ОМЛ. Исследование включало 127 пациентов с ОМЛ. До проведения противоопухолевой терапии с помощью WST-1 теста оценивали чувствительность опухолевых клеток пациентов к ряду цитостатических препаратов. Кроме того, в этих же клетках определяли уровни экспрессии гена MDR1 и Р-гликопротеина, отражающих один из механизмов МЛУ, методами ОТ-ПЦР и иммуноцитохимии, соответственно.

Показано, что резистентность опухолевых клеток к цитостатикам, определенная *in vitro*, коррелирует с плохим ответом пациентов на химиотерапию и, как правило, сочетается с маркерами незрелости и аберрантного иммунофенотипа, неблагоприятными цитогенетическими аномалиями и высокими

уровнями экспрессии MDR1 и Р-гликопротеина в опухолевых клетках. Все вместе это указывает на неблагоприятный прогноз пациентов с ОМЛ.

На основе полученных данных разработана новая прогностическая шкала для стратификации пациентов с ОМЛ на группы риска с учетом чувствительности опухолевых клеток к цитостатическим препаратам *in vitro*, а также уровней экспрессии MDR1/Р-гликопротеина в опухолевых клетках, происхождения опухоли (первичная/вторичная), наличия ряда цитогенетических аномалий и маркеров аберрантного иммунофенотипа.

Исследование аналитической ценности разработанной модели показало, что среди факторов, влияющих на ответ на терапию у пациентов с ОМЛ, наибольшее прогностическое значение имеют чувствительность опухолевых клеток к цитостатическим препаратам и кариотип опухолевых клеток, а группа риска, определенная в соответствии с разработанной прогностической шкалой, является независимым прогностическим фактором общей выживаемости пациентов с ОМЛ.

Источники финансирования: грант РНФ №19-74-30011.

ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОТЕАСОМ КАК ВОЗМОЖНЫЙ КРИТЕРИЙ ДИАГНОСТИКИ РАКА РОТОВОЙ ПОЛОСТИ

Сиденко Е.А.

НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН»,
Томск

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск

Актуальность. Рак полости рта представляет собой сочетание высокозлокачественных опухолей, которые могут возникать на поверхности эпителия, подслизистой ткани или малых слюнных железах. 85–95% всех случаев приходится на плоскоклеточный рак ротовой полости, который по-прежнему остается шестой причиной смертности в мире. Рак полости рта характеризуется быстрым ростом клеток, способных секретировать ферменты, факторы роста, факторы инвазии и многие другие элементы, которые приводят к распространению заболевания. Выявление молекулярных механизмов развития рака ротовой полости позволит применить полученные знания для формирования групп повышенного онкологического риска. В этой связи наиболее перспективно исследование протеасом, одних из главных представителей протеолитических систем организма, действие которых направлено на деградацию и специфический протеолиз поврежденных или выполнивших свою функцию белков. Они активируются во многих опухолях и участвует в их развитии.

Цель исследования — изучение активности циркулирующих протеасом больных плоскоклеточным раком ротовой полости.

Материалы и методы. В исследование было включено 20 пациентов с плоскоклеточным раком ротовой полости (T1-3N0-2M0). Группа контроля включала 10 здоровых волонтеров. Материалом для исследования послужила сыворотка крови. Химотрипсинподобную (ХТП) и каспазаподобную (КП) активности протеасом определяли с использованием коммерческих флуорогенных субстратов.

Результаты. ХТП и КП активности протеасом в сыворотке крови больных раком ротовой полости были значимо выше по сравнению со здоровыми волонтерами. ХТП активность была выше в 2,2 раза, а КП — в 1,8 раз в сравнении с группой контроля.

Обсуждение. Полученные данные являются частью большого исследования, однако на данном этапе можно предположить, что протеасомы могут играть важную роль на этапе возникновения рака ротовой полости. Участие протеасом показано в прогрессировании злокачественных опухолей различных локализаций, в том числе при плоскоклеточном раке головы и шеи.

Выводы. Протеолитическая активность протеасом значимо повышается у больных раком ротовой полости, следовательно, протеасомы можно рассматривать как потенциальный критерий диагностики данной злокачественной патологии.

Перспективы. Планируется расширение выборки пациентов с плоскоклеточным раком ротовой полости, а также включение в исследование больных с предраковыми патологиями ротовой полости.

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ ПЕРВИЧНЫХ КУЛЬТУР РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

Татарникова И.С.¹, Талышев В.А.¹, Марков О.В.¹, Красильников С.Э.², Самойлова Е.А.³, Логащенко Е.Б.¹

¹ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск

²ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России, Новосибирск

Рак шейки матки — один из наиболее часто встречающихся видов злокачественных опухолей среди женщин по всему миру. Лечение РШМ варьирует в зависимости от стадии заболевания и может включать хирургию, химиотерапию и радиотерапию. Несмотря на то, что выживаемость и показатели достижения полной ремиссии при лечении на ранних стадиях заболевания высоки, в случае запущенного процесса сохраняется высокий риск рецидивов и часто неблагоприятный исход. Для более полного понимания биологии РШМ необходимы новые модели исследования. Иммутизированные линии раковых клеток человека, такие как HeLa, представляют собой важнейший инструмент для исследования, но подобных доступных клеточных линий РШМ мало, что ограничивает наше понимание заболевания, известного своей молекулярной гетерогенностью.

Целью работы было получение и характеристика первичной культуры из биоптатов РШМ.

Образцы тканей были получены при биопсийном исследовании РШМ человека. В исследование включены пациентки от 18 до 70 лет на всех стадиях патологического процесса. Выделение первичной культуры проходило в асептических условиях. Для диссоциации тканей использовали инкубацию в присутствии 0,2% коллагеназы I и 0,6 ЕД/мл диспазы при 37°C в течение 3 ч. Для морфологической верификации полученных культур использовали электронную и флуоресцентную микроскопию с окрашиванием полученных клеток антителами к поверхностным клеточным маркерам (fibronectin, αSMA, vimentin, cytokeratin, e-cadherin).

Обработаны 47 биоптатов РШМ, получен устойчивый рост 24 первичных культур (51%).

Статистически значимой связи между возрастом пациенток, типом и стадией опухолевого процесса, и ростом первичной культуры не выявлено. Культуры из опухолей разных пациентов имели разный состав и вид клеток. Только в двух случаях получена первичная культура опухолевых клеток с устойчивым ростом *in vitro*. В остальных случаях (98%) была получена смешанная культура, содержащая фибробластоподобные и эпителиальные клетки. Полученные первичные культуры клеток РШМ проявляли разную способность к миграции и пролиферации. Самым высоким миграционным и пролиферативным потенциалом обладала культура опухолевых клеток, полученная от пациентки с инвазивной умеренно дифференцированной плоскоклеточной карциномой шейки матки человека до проведения радиотерапии.

Полученные культуры могут быть использованы в качестве новой модели для доклинических исследований.

Источники финансирования. Работа поддержана грантом РФФ №19-74-30011.

ВЛИЯНИЕ КУРКУМИНА И КВЕРЦЕТИНА НА ТИОРЕДОКСИН-ЗАВИСИМУЮ СИСТЕМУ И УСТОЙЧИВОСТЬ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК К ЦИСПЛАТИНУ

Хасан А.Ш.¹, Калинина Е.В.¹, Володина Ю.Л.², Петрова А.С.¹, Жданов Д.Д.^{1,3}, Штиль А.А.², Татарский В.В.⁴

¹ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

³ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва

⁴ФГБУН «Институт биологии гена» РАН, Москва

Среди ферментных систем антиоксидантной защиты для предотвращения окислительного стресса важную роль выполняет система тиоредоксин/тиоредоксинредуктазы (Trx/TrxR). Как один из основных регуляторов редокс-зависимых процессов, Trx/TrxR система связана с пролиферацией и выживанием клеток. Химиотерапевтический потенциал куркумина (CUR) и кверцетина (QU) — растительных полифенолов, обладающих антиоксидантным и антипролиферативным действием, установлен для различных типов злокачественных новообразований.

Цель настоящей работы заключалась в исследовании влияния куркумина на устойчивость клеток аденокарциномы яичников SKOV-3 и изогенной резистентной сублинии SKOV-3/CDDP к противоопухолевому препарату цисплатину (CDDP).

Установлено, что сверхэкспрессия генов системы Trx/TrxR, антиоксидантных ферментов, транскрипционного фактора Nrf2 и сигнального пути PI3K/Akt/mTOR способствуют формированию резистентности клеток SKOV-3 к CDDP. Действие CUR и QU, ингибиторов TrxR, вызывает «обращение» резистентности яичников опухолевых клеток к цисплатину, которое связано с подавлением экспрессии генов ферментов Trx/TrxR системы — изоформ тиоредоксина (TRX1, TRX2) и тиоредоксинредуктазы (TRXR1, TRXR2), пероксиредоксинов (PRDX1,2,3 и 6), а также антиоксидантных ферментов (SOD-1, SOD-2, Gpx-1, CAT и HO-1) и фактора транскрипции NFE2L2. Установлен эффект противоположного действия CUR и QU на антиоксидантный статус и сигнальный путь PI3K/AKT/mTOR в чувствительных и резистентных опухолевых клетках. Исследован редокс-зависимый механизм модуляции устойчивости к CDDP:

предварительная обработка QU действует как прооксидант, индуцируя образование АФК в результате ингибирования антиоксидантной системы Trx/TrxR и активируя апоптоз митохондриального типа (расщепленные каспазы 9, 7, 3 и PARP) посредством подавления сигнального пути mTOR/STAT3.

Данное исследование предоставляет новые данные о механизмах повышения чувствительности резистентных клеток к CDDP.

ПРИМЕНЕНИЕ ФРАГМЕНТОВ АНТИТЕЛ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ GD2-ПОЗИТИВНЫХ ОПУХОЛЕЙ

Холоденко Р.В.^{1,2}, Калиновский Д.В.¹, Холоденко И.В.³, Кибардин А.В.⁴, Ларин С.С.⁴, Свирщевская Е.В.¹, Деев С.М.¹

¹ФГБУН ГНЦ РФ «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

²ООО «Реал Таргет», Москва

³ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва

⁴ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева», Москва

Успехи таргетной иммунотерапии в лечении солидных опухолей значительно ниже, чем при терапии гематологических опухолей. Ганглиозид GD2 является маркером солидных опухолей, и эффективность стандартных методов GD2-направленной иммунотерапии ограничена. Однако конъюгаты антител с лекарством (ADC) демонстрируют значительные успехи в терапии солидных опухолей, они способны изменить сложившуюся тенденцию и повысить эффективность иммунотерапии, что подтверждается в первую очередь успехами anti-HER2 и anti-Trop-2 ADC.

В своей работе мы впервые получили анти-GD2 ADC, которые проявили высокую и селективную цитотоксичность на широкой панели GD2+ опухолевых клеточных линий, а также значительное ингибирование роста опухолей в мышинных GD2-моделях рака.

Использованные ADC были получены на основе полноразмерных антител, что является стандартным подходом, однако такой формат векторных молекул определяет основные ограничения использования ADC, и другие варианты антиген-связывающих молекул могут улучшить эффективность ADC. Ключевым преимуществом фрагментов антител по сравнению с полноразмерными молекулами является их более эффективное проникновение внутрь солидных опухолей, что обусловлено их меньшим размером, а также снижением побочных эффектов, обусловленных нежелательными иммунными реакциями.

В представленной работе в качестве векторных молекул в составе конъюгатов были использованы фрагменты антител (FDC) в двух вариантах scFv-фрагменты и миниантитела.

Были изучены интернализация в GD2-позитивные опухолевые клетки и биораспределение в организме лабораторных животных антиген-связывающих фрагментов антител в сравнении с исходными полноразмерными GD2-специфичными антителами. Малеимид-активированные производные лекарственных препаратов класса ауристинов MMAE и MMAF были конъюгированы с фрагментами антител, также были изучены физико-химические и антиген-связывающие свойства анти-GD2 FDC.

Цитотоксические и цитостатические эффекты конъюгатов были выявлены в GD2-положительных, но не в GD2-отрицательных опухолевых клеточных линиях, что демонстрирует избирательность действия полученных FDC. В GD2-позитивной сингенной модели рака, характеризующейся агрессивным ростом, показаны выраженные противоопухолевые эффекты.

Анти-GD2 FDC имеют потенциал практического применения, поскольку конъюгаты, построенные с использованием данного формата антител способны усилить терапевтическую эффективность таргетных препаратов за счет улучшения биораспределения и снижения побочных эффектов.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 23-14-00277.

РОЛЬ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ КОММУНИКАЦИИ КЛЕТОК РАКА ЯИЧНИКА В ФОРМИРОВАНИИ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ДНК-ПОВРЕЖДАЮЩИМ АГЕНТАМ

Шнайдер П.В.^{1,2,3}, Лашкин А.И.^{1,3}, Лукина М.М.^{1,2}, Арапиди Г.П.^{1,4,5}, Бекбаева И.В.^{1,4}, Иванова О.М.^{1,2}, Шендер В.О.^{1,5}

¹ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. акад. Ю.М. Лопухина» ФМБА РФ, Москва

²ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. акад. Ю.М. Лопухина» ФМБА РФ, Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины, Москва

³ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Москва

⁴ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)», Долгопрудный

⁵ФГБУН ГНЦ РФ «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

Ранее нами и другими исследовательскими группами было показано, что межклеточная коммуникация опухолевых клеток во время химиотерапии способствует развитию химиорезистентности. Чтобы глубже понять это явление, мы сосредоточили наши исследования на клеточной модели рака яичников, одного из самых смертельных гинекологических заболеваний. Наши предыдущие исследования выявили, что умирающие клетки выделяют во внеклеточную среду молекулы, включая сплайсосомальные белки, которые вызывают химиорезистентность в опухолевых реципиентных клетках. Однако механизм, лежащий в основе этого процесса, остается неизвестным.

Мы показали, что секретомы от умирающих опухолевых, но не нормальных клеток способствуют формированию устойчивости к химиотерапии у аутологичных реципиентных клеток. Инкубация нормальных клеток с секретомы от умирающих опухолевых клеток не приводила к формированию химиорезистентности. Протеомный анализ секретомов показал, что в ответ на химиотерапию опухолевые клетки секретируют большое количество белков, участвующих в метаболизме, репарации ДНК, трансляции и регуляции клеточного цикла, в то время как нормальные клетки секретируют белки, задействованные в иммунных каскадах и процессах клеточного старения. Протеомный анализ реципиентных опухолевых клеток показал, что инкубация с АпоС повы-

шает представленность белков, участвующих в сплайсинге РНК и репарации ДНК.

Затем мы показали, что АпоС спасают реципиентные клетки от различных ДНК-повреждающих агентов, но не от других типов препаратов. Мы обнаружили, что предварительная инкубация реципиентных клеток с АпоС приводит к приобретению химиорезистентности за счёт удлинения S-фазы клеточного цикла, уменьшения фрагментации ДНК и снижения числа аддуктов цисплатин-ДНК, а также уменьшения уровня фосфорилирования RPA2. Таким образом, один из основных эффектов АпоС на реципиентные клетки заключается в улучшенной эффективности устранения аддуктов цисплатин-ДНК и репарации вызванных ими повреждений.

Эти результаты показывают, что химиотерапия ДНК-повреждающими агентами способствует секреции погибающими опухолевыми клетками сигнальных молекул в составе внеклеточных везикул. Эти молекулы эффективно спасают оставшиеся опухолевые, но не нормальные клетки от повреждения ДНК, регулируя клеточный цикл и способствуя репарации ДНК, что в конечном итоге приводит к химиорезистентности.

Источники финансирования. Работа была поддержана грантом Министерства науки и высшего образования 075-15-2019-1669.

АДИПОЦИТАРНЫЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ВЕЗИКУЛЫ У БОЛЬНЫХ С ПОЛИПАМИ И РАКОМ ТОЛСТОЙ КИШКИ: КОНЦЕНТРАЦИЯ, СОСТАВ И ЭКСПРЕССИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Юнусова Н.В.^{1,2}, Сваровский Д.А.^{1,2}, Кондакова И.В.¹, Черемисина О.В.¹, Афанасьев С.Г.¹, Костромицкий Д.Н.¹

¹НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Томск

²ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск

Введение. Внеклеточные везикулы (ВВ) представляют собой гетерогенную популяцию мембранных частиц размером менее 1 мкм, секретируемую различными типами клеток. Большинство циркулирующих в крови человека ВВ являются частицами тромбоцитарного, лейкоцитарного, эритроцитарного и эндотелиального происхождения. Состав циркулирующих адипоцитарных ВВ при различных патологических состояниях практически не изучен.

Методы. Малые ВВ из плазмы крови больных колоректальным раком (КРР) и полипами толстой кишки с наличием ожирения или метаболического синдрома выделены методом ультрафильтрации с двойным ультрацентрифугированием. Для изучения состава адипоцитарных ВВ использовали иммунопреципитацию в сочетании с Вестерн-блоттингом и проточную цитометрию.

Результаты. Фракции везикул (FABP4- и CD11b-иммунопреципитированные ВВ, а также ВВ, содержащиеся в супернатанте после удаления CD11b-позитивных ВВ) содержали комплекс адипоцитарных маркеров (FABP4, PPAR-γ и перилипин 1). Преципитированные на CD11b-покрытых частицах ВВ моноцитарно-макрофагального происхождения у больных КРР без ожирения характеризовались сочетанной гиперэкспрессией FABP4 и перилипина 1, в то время как для больных КРР с метаболическим синдромом или ожирением такая гиперэкспрессия была нехарактерна. Фракция истинно адипоцитарных везикул (супернатант после удаления CD11b-позитивных ВВ) характеризовалась наличием у всех больных комплекса адипоцитарных маркеров с преимущественной экспрессией в ней FABP4 как у больных с метаболическим синдромом/метаболиче-

ски здоровым ожирением, так и больных без метаболических нарушений. Для больных без ожирения для корректной характеристики циркулирующих ВВ из препаратов ВВ необходимо удалять фракцию CD11b-позитивных моноцитарно-макрофагальных ВВ, а в супернатанте после удаления/сорбции преципитированных ВВ — изучать состав адипоцитарных везикул, используя набор маркеров (FABP4, PPAR-γ, перилипин 1 и др.). При этом у больных с метаболическими нарушениями с учетом незначительной экспрессии FABP4 в составе CD11b-иммунопреципитированных ВВ, по-видимому, предварительная деплеция препаратов везикул не столь необходима. Проведенный ROC-анализ выявил шесть субпопуляций ВВ, способных прогнозировать онкологический риск у пациентов с полипами толстой кишки, из них три CD9-позитивных и три FABP4-позитивных популяции.

Источники финансирования: Грант РНФ 23-25-00085

DR5-ОПОСРЕДОВАННЫЙ СЕНОЛИЗ — НОВЫЙ ПОДХОД К ТЕРАПИИ ГЛИОБЛАСТОМЫ?

Яголович А.В.^{1,2}, Исакова А.А.^{1,2}, Дружкова И.Н.³, Краснов К.С.⁴, Фадеев Р.С.⁴, Мазур Д.В.², Антипова Н.В.², Гаспарян М.Э.²

¹ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Москва

²ФГБУН ГНЦ РФ «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

³ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Нижний Новгород

⁴ФГБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики» РАН, Пущино

Сенесцентность — необратимая остановка клеточной пролиферации, вызванная различными стрессовыми воздействиями, характеризующаясь повышенной метаболической активностью и особым секреторным фенотипом. Сенесцентность клеток, вызванная лучевой терапией или химиопрепаратами, играет важную роль в резистентности опухолей. Ранее было показано, что агонисты рецептора DR5 (TRAILR2, TNFRSF10B) обладают сенолитической активностью в отношении химио-индуцированных сенесцентных опухолевых клеток. Однако неясно, функционален ли этот механизм в клетках глиобластомы.

В работе был исследован сенолитический потенциал агониста рецептора DR5, DR5-селективного варианта TRAIL DR5-B, относительно клеток глиобластомы с темозоломид-индуцированной сенесцентностью. Сенесцентное состояние клеток выявляли по комбинации маркеров: снижению пролиферации, увеличению размеров клеток и ядер, окрашиванию на β-галактозидазу, экспрессии p21. Было показано, что как первичные, так и линеаризованные клетки глиобластомы отличаются гетерогенным ответом на индукцию сенесцентности темозоломидом. Наиболее ярко черты сенесцентности проявились в клетках линии U87MG. Был проведен сравнительный биоинформатический анализ дифференциальной экспрессии генов, ассоциированных с сенесцентностью, стволовостью, пролиферацией и DR5-опосредованным сигналингом при воздействии темозоломида на U87MG.

Метаболический имиджинг на основе флуоресцентной микроскопии с временным

разрешением (FLIM) по автофлуоресценции НАДН показал сдвиг метаболизма в сторону гликолиза в клетках U87MG под действием темозоломида. Также при этом наблюдалось усиление автофлуоресценции липофусцина — пигмента, ассоциированного с клеточным старением. Кроме того, была повышена экспрессия компонентов сигнального пути цитокина TRAIL: рецепторов DR5, DcR1, DcR2 и антиапоптотического гомолога каспазы-8 cFLIP. Тем не менее, приобретение клетками U87MG маркеров сенесцентности сопровождалось повышением чувствительности к DR5-опосредованной клеточной гибели. Поскольку TRAIL играет важную роль в иммунологическом надзоре, полученные результаты подтверждают, что сенесцентность опухолевых клеток может усиливать их восприимчивость к противоопухолевому иммунному ответу.

Агонисты рецептора DR5 могут иметь терапевтический потенциал в отношении глиобластомы после лечения темозоломидом. Однако, гетерогенная реакция клеток глиобластомы на индукцию сенесцентности требует дополнительных исследований и должна учитываться при разработке стратегий сенолитической терапии.

Источники финансирования. Исследование выполнено за счет гранта РНФ № 24-24-00222, <https://rscf.ru/project/24-24-00222/>.

СУКЦИНАТНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ КАК НОВАЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ МИШЕНЬ

Абаленихина Ю.В., Есенина А.С., Исаева М.О., Шулькин А.В., Якушева Е.Н.

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Рязань

Сукцинат — анион янтарной кислоты, который в нормальных условиях содержится в матриксе митохондрий. В настоящее время доказано, что наличие рецепторов сукцината 1 (SUCNR1) в почках, мозге, печени, сердце, скелетных мышцах, сетчатке, костном мозге, где реализуют свои эффекты через G-белки. Сукцинат входит в состав многих лекарственных препаратов, например этилметилгидроксипиридина сукцината (ЭМГПС), вследствие чего SUCNR1 можно рассматривать в качестве новой фармакологической мишени.

Цель исследования — определить механизм действия сукцината и ЭМГПС в иммортализованной линии клеток миобластов мыши C2C12.

Клетки C2C12 культивировали в среде Игла, модифицированной Дульбекко (DMEM), с высоким содержанием глюкозы (4500 мг/л), содержащей L-глутамин (4 мМ), 10% эмбриональной бычьей сыворотки, 100 ЕД/мл и 100 мкг/мл пенициллина и стрептомицина. Затем в питательную среду добавляли 2% лошадиной сыворотки для дифференцировки клеток. В ходе исследования сформированы следующие экспериментальные группы: контроль — миобласты, культивируемые в питательной среде, воздействие янтарной кислотой в концентрации 10 мкМ, воздействие ЭМГПС — 10 мкМ, оценка влияния коклюшного токсина (ингибитор SUCNR1-Gαi сигнального пути) 100 нг/мл (n=3). Анализ содержания MyoD, MyoG, SUCNR1 оценивали методом вестерн-блот на 4-й день дифференцировки. Статистическую значимость различий оценивали дисперсионным анализом (ANOVA), тест Даннетта.

При воздействии янтарной кислотой на 4-й день дифференцировки возрастало относительное количество MyoD 395,8% (p<0,0001), MyoG — 40,2% (p=0,0003), снижалось относительное количество SUCNR1 на 30,1% (p<0,0001). При воздействии ЭМГПС возрастало относительное количество MyoD 32,6%

(p<0,0001), MyoG — 45,6% (p<0,0001), снижалось относительное количество SUCNR1 на 26,1% (p=0,002). Представленные результаты демонстрируют, что при воздействии янтарной кислоты и ЭМГПС существенный вклад в развитие миогенеза вносят MyoD и MyoG, что, возможно, реализуется через SUCNR1. Добавление коклюшного токсина в дифференцировочную среду с янтарной кислотой/ЭМГПС приводило к практически полной остановке процессов миогенной дифференцировки, о чем свидетельствует отсутствие изменений показателей MyoD, MyoG, SUCNR1 относительно контрольных значений.

Таким образом, сукцинатные рецепторы выступают в качестве фармакологической мишени для сукцинат-содержащих препаратов.

Источники финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке внутривузовского гранта молодых ученых Рязанского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова на 2023 год (Договор № 3/23).

ВЛИЯНИЕ ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ХАЛЬКОГЕНСОДЕРЖАЩИХ ПРОИЗВОДНЫХ АЛКИЛИРОВАННЫХ ФЕНОЛОВ И ИХ КОМБИНАЦИЙ С ДОНОРОМ ОКСИДА АЗОТА И АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТОЙ НА АКТИВНОСТЬ РЯДА ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЦИТОСТАТИКОВ *IN VIVO*

Богатыренко Т.Н.¹, Кандалинцева Н.В.², Акимов А.В.¹, Сашенкова Т.Е.¹, Аллаярова У.Ю.¹, Мищенко Д.В.¹

¹ФГБУН Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии РАН, Черноголовка

²ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный педагогический университет», Новосибирск

Введение. Новыми подходами к противоопухолевой терапии могут служить исследования влияния на опухолевый рост редокс-активных соединений, в частности, антиоксидантов (АО) и оксида азота (NO). В организме к увеличению концентрации NO может приводить и аскорбиновая кислота (АК). Модулируя редокс-состояния опухолей, можно влиять на действие различных цитостатиков на опухолевый процесс.

Цель исследования — изучение влияния аскорбиновой кислоты с гидрофильными халькогенсодержащими производными алкилированных фенолов (серосодержащими — ТС13 и селенсодержащими — ПЭК) на изменение активности ряда противоопухолевых цитостатиков: циклофосфана (ЦФ), цисплатина (сPt), доксорубина (Dox).

Материал и методы. Противоопухолевую активность изучали на лимфолейкозе Р388 мышей линии BDF1. Животные получены из УНУ «Питомник и виварий ФИЦ ПХФ и МХ АН». Критерием эффективности лечения служили показатели изменения средней продолжительности жизни (СПЖ), индекс увеличения средней продолжительности жизни (ILS%), выживаемость. Изменения активности метаболических парамагнитных центров опухолевых тканей животных проводилось с помощью метода электронного парамагнитного резонанса (ЭПР).

Результаты и выводы. Было показано, что АК увеличивает активность ЦФ на 98% по сравнению с монотерапией и приводит к 50% выживанию животных. АК уменьшает активность сPt на 18%. На активность Dox АК практически не влияет. Добавление к этим композициям халькогенсодержащих производных алкилированных фенолов (ТС-

13, ПЭК) по-разному модулирует активность цитостатиков. ТС-13 уменьшает активность ЦФ на 22%, а ПЭК — увеличивает на 31%. Добавление к сPt с АК серосодержащего АО ТС-13 и селенсодержащего ПЭК увеличивает активность сPt на 58% и 51% соответственно, при этом приводит к 33% выживаемости животных. Добавление к Dox с АК АО ТС-13 уменьшает активность Dox на 10%, а ПЭК — увеличивает на 52% по сравнению с монотерапией. Пути исследуемых нами редокс-активных соединений пересекаются, влияя друг на друга и усиливая цитотоксический эффект противоопухолевых цитостатиков.

Источники финансирования: Работа выполнена в рамках госзадания №124020500019-2.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЦИАНИДА С ЦИТОХРОМОМ bd

Борисов В.Б.

ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Москва

При колонизации ткани хозяина бактериальные патогены сталкиваются с неблагоприятными условиями, в частности, с активными формами кислорода и азота, которые вырабатываются иммунной системой человека в качестве оружия против патогенных микроорганизмов. Известно, что в этих условиях повышение экспрессии цитохрома bd является механизмом выживания патогенных микроорганизмов [1]. Вероятно, это обусловлено уникальными структурными и функциональными особенностями терминальной оксидазы типа bd, позволяющими ей активно работать в этих и других неблагоприятных условиях [2]. Наличие оксидазы bd в дыхательных цепях ряда патогенных бактерий, таких как *Mycobacterium tuberculosis* и уropатогенных *Escherichia coli* (UPEC), повышает их вирулентность, что делает фермент этого типа потенциальной мишенью для антибактериальных препаратов нового поколения [2]. Цитохром bd входит в состав надсемейства прокариотических кислородоредуктаз типа bd. Фермент катализирует восстановление молекулярного кислорода до воды, используя в качестве донора электронов убухинол либо менахинол [1]. Реакция сопряжена с генерацией протонного потенциала, который используется бактерией для синтеза АТФ и совершения другой полезной работы. Цитохром bd содержит сайт окисления хинола и три гема: b558, b595 и d. Гем b558, по-видимому, выступает в качестве первичного акцептора электронов при окислении хинола. Гем d служит активным сайтом, в котором O_2 связывается с высоким сродством и затем восстанавливается до $2H_2O$ [1]. Роль гема b595 не вполне понятна. Помимо запасаения энергии, оксидаза bd наделяет бактерию устойчивостью к стрессорам различной природы, таким как антибиотики, H_2O_2 , NO, пероксинитрит, CO, H_2S , NH_3 [1]. Молекулярные механизмы, лежащие в основе нечувствительности цитохрома bd к этим соединениям, пока не ясны. В этой работе

с помощью метода абсорбционной спектроскопии исследовали взаимодействие выделенного цитохрома bd с цианидом, используя оксидазу bd-I *E. coli* в качестве модельного объекта. Удалось идентифицировать сайты в ферменте, ответственные за связывание этого лиганда. Получены спектральные и кинетические характеристики взаимодействия терминальной оксидазы bd-I с цианидом. Обсуждается структура образующегося циано-аддукта.

Литература:

1. Borisov V.B., Siletsky S.A., Paiardini A. et al. Antioxidants & Redox Signaling, 2021, 34, 1280–1318.
2. Friedrich T., Wohlwend D., Borisov V.B. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23, 3166.

Источники финансирования: работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 24-24-00006; <https://rscf.ru/project/24-24-00006/>).

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ СМЕСЕЙ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В МОДЕЛИ «ПОДОСТРОГО» ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТЫМ УГЛЕРОДОМ (CCL₄) *IN VIVO*

Бржозовский А.Г.¹, Кононихин А.С.¹, Бугрова А.Е.¹, Семёнов С.Д.¹, Ковалёва О.А.¹, Жернов Ю.В.¹, Юрова М.Н.^{1,2}, Федорос Е.И.², Николаев Е.Н.¹

¹Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Сколковский институт науки и технологий», Москва

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Москва

Введение. Согласно данным ВОЗ, количество острых и хронических заболеваний печени заметно растёт, особенно в индустриальных странах. Применение природных многокомпонентных биологически активных веществ и материалов на их основе перспективно для создания новых фармакологических субстанций-гепатопротекторов.

Цель. Исследовать гепатопротекторную активность многокомпонентных смесей природного происхождения *in vivo* на модели «подострого» поражения печени у самок мышей линии BALB/c, индуцированного токсинном — четыреххлористым углеродом (CCL₄).

Материалы и методы. Была проведена оценка гепатопротекторной активности препарата окисленного гидролизного лигнина (BP-Cx-1), гуминовых кислот пелоидов (PelHA) и изофлавонов из корней кудзу, пуэрарии дольчатой (ISF). В рамках данной работы были проанализированы по 62 образца мочи и печени. Для анализа протеомной композиции печени к 10–20 мг ткани, растертой в порошок в жидком азоте, добавляли лизирующий буфер (50 мМ Трис-HCl pH 8,0, 150 мМ NaCl, 0,1% SDS, 0,5% деоксихолата Na, 1% NP-40), содержащий коктейль ингибиторов протеаз (Roche). Образцы растворяли в 8 М мочеvine (в 0,1 М Tris-HCL pH 8,5), затем добавляли ДТТ до конечной концентрации 0,1 М и инкубировали в течении 30 мин при 37°C. Для гидролиза использовали 50 мкг белка, в качестве протеолитического фермента использовался трипсин (Promega gold, США), который добавляли в соотношении 1:25 и инкубировали 16 ч. Анализ смеси триптических пептидов проводился на ВЭЖХ-системе Dionex Ultimate 3000 (Thermo Fisher Scientific, США), соединенной

с масс-спектрометром TIMS TOF Pro (Bruker Daltonics, США), с использованием метода сбора данных с помощью параллельного накопления и последовательной фрагментации (PASEF) в режиме DDA (сбор данных в зависимости от данных). Полученные данные были проанализированы с использованием программного обеспечения PEAKS Studio 11, с использованием следующих параметров: погрешность измерения массы родительского иона — 20 ppm; погрешность массы фрагмента — 0,01 Да. Дополнительно была проанализирована метаболомная фракция мочи на приборе Apex Ultra ИЦР МС (Bruker Daltonics).

Результаты. По результатам исследования молекулярного состава (метаболом, протеом) образцов от экспериментальных животных в модели подострого поражения печени было показано, что гепатопротекторная эффективность исследуемых многокомпонентных смесей природного происхождения сопровождается закономерными изменениями метаболомного и протеомного профиля состава мочи и печени. Описываемые изменения наиболее выражены при применении изофлавонов из корней кудзу (ISF). Возможно, данное преимущество связано с более низкой молекулярной массой активных изовлавоноидов по сравнению с компонентами полифенольного препарата BP-Cx-1.

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках гранта РНФ РНФ № 22-75-10140 от [28.07.2022].

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ В ЭКСТРАКТАХ СНЫТИ ОБЫКНОВЕННОЙ — ПЕРСПЕКТИВА В ПРОИЗВОДСТВЕ ФАРМПРЕПАРАТОВ

Викторович Н.Н., Пыльчикова Ю.Ю.

ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», Чебоксары

Введение. Сныть обыкновенная является распространенным растением на территории Чувашской Республики и используется как пищевое растение среди населения. Определение в ходе исследования концентрации флавоноидов в подземных органах и листьях сныти позволило заключить о возможности использования растения в фармакотерапии. Листья сныти применяются в народной медицине с древних времен. Настои из сушеных листьев рекомендуются при подагре, воспалительных заболеваниях почек и мочевого пузыря и как вспомогательное средство при мочекаменной болезни. Известно, что сныть богата биоактивными веществами. Вегетативные органы сныти содержат полиацетилены, полифенолы, эфирные масла, витамины, а также макро- и микроэлементы. При этом относительное содержание кальция, железа и кремния в корнях выше, чем в листьях, и калия и фосфора выше в листьях, чем в корнях. Полифенольные соединения, в том числе флавоноиды, гидроксикоричная и хлорогеновая кислоты обладают высокой антиоксидантной способностью. Их биологическая роль заключается в способности ингибировать окислительный стресс путём нейтрализации свободных радикалов.

Цель работы — определить содержание флавоноидов в экстрактах корней сныти обыкновенной.

Материал и методы. Для получения экстракта использовались высушенные подземные органы растения, собранные в начале октября в Чебоксарском районе Чувашской Республики. Для экстрагирования флавоноидов из состава растительного сырья был использован водный раствор этанола в 40 и 70% концентрациях. Для исследования были приготовлены водные растворы Folin-Ciocalteu (10%) и карбоната натрия (7,5%) и стандартный раствор галловой кислоты (1 мг/см³). Измерения оптической плотности

проводились на спектрофотометре КФК-3-«ЗОМЗ», при длине волны 765 нм, в кюветах с толщиной слоя 10 мм. Сначала были определены оптические плотности исследуемых образцов, затем был построен калибровочный график зависимости концентрации галловой кислоты в стандартных растворах и определены коэффициенты линейной зависимости. Все тесты проводились в трехкратной повторности.

Результаты. Концентрация флавоноидов в 40% экстракте оказалась на уровне $2,04 \pm 0,62\%$, а при экстракции 70% спиртом — $2,96 \pm 0,74\%$.

Заключение. На основании полученных данных применение экстрактов сныти можно найти в фитотерапии для поддержки и лечения состояний, связанных с повышенным окислительным стрессом, таких как воспалительные процессы, сердечно-сосудистые заболевания, нейродегенеративные изменения.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА ГПП-1 ЛИРАГЛУТИДА НА АДИПОГЕННУЮ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Волошина Е.Д.¹, Волошин Н.С.¹, Кулебякин К.Ю.^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Факультет фундаментальной медицины, Москва

²ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Медицинский научно-образовательный центр, Москва

В 2023 г., по данным Всемирной Диабетической Федерации, причиной смерти около 1,5 млн людей в мире стал сахарный диабет. Сахарный диабет 2-го типа (СД 2) является фактором развития ишемической болезни сердца, гипертонической болезни, инсульта, болезней почек и нарушений зрения. Распространенным подходом для борьбы с СД 2 являются препараты, разработанные на базе сигнальной системы глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1). ГПП-1 повышает секрецию инсулина клетками поджелудочной железы, а также регулирует пищевое поведение.

Лираглутид — агонист рецептора ГПП-1 (рГПП-1) — одобрен в качестве терапии для больных СД 2 и ожирением, так как он эффективно снижает уровень глюкозы в крови и способствует снижению массы тела. Важнейшую роль в патогенезе СД 2 играет обновление жировой ткани — адипогенез. Адипогенез осуществляется мезенхимными стромальными клетками (МСК). Известно, что лираглутид специфически воздействует на МСК: он повышает экспрессию адипонектина, однако не влияет на накопление жировых капель. Адипонектин — гормон жировой ткани, проявляющий инсулино-сенситизирующие кардио- и нейропротекторные свойства. Однако молекулярный механизм действия лираглутида на адипогенез на данный момент неизвестен. рГПП-1 относится к группе GPCR, он способен запускать два молекулярных каскада: Gas-опосредованный цАМФ-зависимый каскад, а также В-аррестин-зависимый каскад.

Целью данной работы является изучение молекулярных механизмов действия агониста рГПП-1 лираглутида на адипогенную дифференцировку МСК.

В нашей работе мы выделяли МСК из подкожной жировой клетчатки живота человека и культивировали до получения 100% конфлюэнтности. Затем клетки дифференцировали в течение 14 дней в адипогенном направлении при постоянном добавлении лираглутида в концентрации 100 нМ совместно с ингибитором аденилатциклазы SQ22536, активатором аденилатциклазы форсколином, антагонистом рГПП-1 эксендином (9-39) или блокатором В-аррестинового каскада барбадином. На 14-е сутки была произведена оценка накопления жировых капель с помощью флуоресцентной микроскопии. Клетки были лизированы, из них была выделена тотальная РНК с последующей ПЦР в реальном времени с обратной транскрипцией на гены адипонектина, лептина и PPAR γ . Была выполнена оценка вклада цАМФ-зависимого и В-аррестин-зависимого молекулярных каскадов в эффект повышения экспрессии адипонектина и лептина МСК в ответ на добавление лираглутида.

Источники финансирования. Грант РНФ 19-75-30007 Фундаментальные проблемы регенеративной медицины: регуляция обновления и репарации тканей человека.

ВЛИЯНИЕ MITO-ТЕМРО НА ФОНЕ 7-СУТОЧНОГО АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОГО ВЫВЕШИВАНИЯ КРЫС НА ПРОЦЕССЫ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ В МИТОХОНДРИЯХ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ

Галкин Г.В., Сидоренко Д.А., Шарло К.А., Боков Р.О., Тырина Е.А., Шенкман Б.С.

Государственный научный центр РФ «Институт медико-биологических проблем РАН», Москва

При функциональной разгрузке скелетные мышцы атрофируются, а также в них происходит накопление митохондриальных активных форм кислорода (АФК), которые могут вносить вклад в атрофию.

Целью данного исследования стало изучение влияния блокатора АФК митохондрий mito-ТЕМРО на активность ряда ферментов дыхательной цепи и уровень атрофии камбаловидных мышц на фоне 7-суточного антиортостатического вывешивания задних конечностей крыс (стандартная модель функциональной разгрузки).

Самцы крыс Вистар были разделены на 3 группы: С — виварный контроль, 7HS — 7-суточное вывешивание с плацебо, 7HSM — 7-суточное вывешивание с внутрибрюшинным введением mito-ТЕМРО (1 мг/кг массы тела). Измерялись: уровень митохондриального Ca^{2+} методом конфокальной микроскопии (краситель Rhod-2-AM), масса камбаловидных мышц, нормированная на массу тела (ВКМ), и методом полярографии 4 параметра потребления O_2 образцами тканей: «базальное» дыхание (БД) — потребление O_2 , не связанное с работой митохондрий; дыхание «утечки» (ДУ) — потребление O_2 , вызванное работой ЭТЦ, но без генерации АТФ; АДФ-стимулированное дыхание (АДФД) — потребление O_2 , вызванное работой ЭТЦ (без II комплекса) и генерацией АТФ; СУК-стимулированное дыхание (СУКД) — потребление O_2 , вызванное работой всех комплексов ЭТЦ и генерацией АТФ.

В группе 7HS ВКМ достоверно составил 50% от значений в группе С и был достоверно меньше, чем в группе 7HSM, в которой ВКМ составил 67% от значений в группе С. В группе 7HS интенсивность флуоресценции Rhod-2-AM была достоверно вдвое выше, чем в группе С и достоверно выше, чем в группе 7HSM. В группе 7HS ДУ было достоверно

выше по сравнению с группой С, АДФД было достоверно в полтора раза выше, чем в группе С, СУКД в группах С и 7HS не отличался. В группе 7HSM ДУ было ниже, чем в 7HS и не отличалось от группы С, АДФД было достоверно ниже, чем в 7HS и не отличался от группы С, СУКД был достоверно ниже, чем в группах С и 7HS. В группе 7HS достоверно возрастает скорость неспецифической утечки H^+ через митохондриальную мембрану и скорость АДФД. При этом в группе 7HSM происходило снижение скорости АДФД и ДУ в сравнении с группой 7HS и значения приближались к таковым в группе С.

Таким образом, введение mito-ТЕМРО на фоне 7-суточного вывешивания способно предотвратить накопление митохондриальных АФК и Ca^{2+} , а также частично предотвратить эффект вывешивания на активность ряда ферментов ЭТЦ скелетных мышц.

Источники финансирования: Выполнено при поддержке РНФ в рамках гранта № 23-75-10048.

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ КИСПЕПТИНА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ *CRH*, *GRH*, *GRH1* В МОЗГЕ *Danio rerio* ПОСЛЕ СОЦИАЛЬНОЙ ИЗОЛЯЦИИ

Гольц В.А., Лизунов А.В., Сексте Э.А., Лебедев А.А., Шабанов П.Д.
ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

Актуальность. Социальная изоляция оказывает травмирующее воздействие на психику [1]. В наших исследованиях показано, что социальная изоляция *Danio rerio* и последующая инкубация препаратов кисспептина повышает экспрессию генов гормонов стресса.

Целью исследования было изучение экспрессии генов гормональной регуляции в мозге у рыб *Danio rerio* после социальной изоляции.

Материалы и методы. Рыб помещали в мерные стаканы емкостью 200 мл на 48 часов. После окончания периода социальной изоляции проводили тестирование препаратов кисспептина и далее на сутки помещали в мерные стаканы емкостью 200 мл на сутки. Для фармакологического анализа использовали аналоги кисспептина «Cloud Clone» (USA): KS6, KS10. Мозг рыб использовали для оценки экспрессии генов по стандартной методике обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени с праймерами к мРНК генов [*Crh*, *Grh*, *Grh1*].

Статистические методы анализа. Для статистической обработки использовали программное обеспечение Graph Pad Prism v.8.0 Для сравнения только между двумя группами применялся t-критерий Стьюдента для независимых выборок. при уровне статистической значимости различий $p < 0,05$.

Результаты. После воздействия препаратов кисспептина (KISS6, KISS10) уровень экспрессии гена *Crh* на фоне изоляции повысился в 10 раз по сравнению с контролем. Уровень экспрессии гена *Grh* вырос на фоне изоляции в 10 раз, проявлял тенденцию к повышению при введении KS6, тенденцию к понижению при введении KS10. Уровень экспрессии гена *Grh1* снизился в 2 раза на фоне изоляции, повышался до уровня контроля при воздействии KS6 (в 1,8 раза), KS10 (в 2 раза).

Заключение. Уровень м-РНК генов *Crh*, *Grh* и *Grh1* увеличивается в ответ на применение препаратов. Также мы отмечали снижение

уровня окситоцина, что является показателем активации стрессовых показателей. Хроническое введение препарата кисспептина рыбам *Danio rerio* повышает стрессорное состояние рыбы, ввиду длительного нахождения в воде с препаратом, вследствие включения компенсаторного механизма нейроэндокринной оси.

Литература

1. Fulcher, N., Tran, S., Shams, S., Chatterjee, D. & Gerlai, R./ Neurochemical and behavioral responses to unpredictable chronic mild stress following developmental isolation: the zebrafish as a model for major depression.// Zebrafish. 2017 Feb;14(1):23-34. doi: 10.1089/zeb.2016.1295.
2. Jakob Biran, Shifra Ben-Dor, Berta Levavi-Sivan, Molecular Identification and Functional Characterization of the Kisspeptin/Kisspeptin Receptor System in Lower Vertebrates, Biology of Reproduction, Volume 79, Issue 4, 1 October 2008, Pages 776–786, <https://doi.org/10.1095/biolreprod.107.066266>.

ВЛИЯНИЕ КАЛЬЦИЕВОГО ХЕЛАТОРА ВАРТА НА АКТИВНОСТЬ ЭНДОГЕННЫХ КАЛЬЦИЙ-АКТИВИРУЕМЫХ ХЛОРНЫХ КАНАЛОВ ANO6 В КЛЕТКАХ HEK293

Григорьева Е.Р., Решетин Д.С., Колесников Д.О., Гусев К.О., Скобелева К.В., Казначеева Е.В.
ФГБУН «Институт Цитологии» РАН, Санкт-Петербург

Кальций-активируемые хлорные каналы (CaCC) играют роль во многих физиологических процессах. Они образованы белками семейства аноктаминов, часть из которых формирует кальций-зависимые ионные каналы, а часть — фосфолипидные скрамблазы. ANO6 (TMEM16F) является белком двойной функции, совмещает в себе свойства ионного канала и фосфолипидной скрамблазы. Он критично важен для работы всего организма. Эндогенные CaCC активируются при относительно высокой внутриклеточной концентрации ионов кальция. Хелаторы кальция ВАРТА и EGTA часто используются для контроля внутриклеточной концентрации ионов кальция при изучении активности кальций-зависимых ионных каналов. Однако вопрос прямого влияния кальциевого хелатора ВАРТА на активность и свойства этих каналов изучен недостаточно.

Целью исследования является изучение влияния хелатора ВАРТА на активность эндогенных кальций-активируемых хлорных каналов ANO6 в клетках HEK 293.

Основным **методом** исследования был метод локальной фиксации потенциала в двух конфигурациях, позволяющих регулировать состав внутриклеточной среды. Inside-out, которая позволяет регистрировать ток через одиночные каналы, и конфигурация whole-cell, в которой осуществляется регистрация тока от целой клетки. Электрофизиологические свойства эндогенных CaCC, активированных добавлением 10 мкМ свободных ионов кальция, изменялись приложением раствора с 10 мМ хелатора ВАРТА с внутриклеточной стороны в отсутствие свободных ионов кальция.

После добавления хелатора активность эндогенных ANO6 возрастала. Влияние хелатора ВАРТА на активность эндогенных ANO6 не зависело от внутриклеточной концентрации кальция: такой же эффект наблюдался при до-

бавлении раствора 100 нМ свободных ионов кальция с различными концентрациями хелатора ВАРТА: 0.1, 1, 10 мМ. В то же время, в растворах на основе EGTA, содержащих 100 нМ свободных ионов кальция, активность эндогенных CaCC была значительно ниже и не зависела от EGTA. Используя нокадаун по гену ANO6 и ингибиторы CaCC, регистрируя ток от целой клетки, мы показали, что активность эндогенных CaCC, вызванная 10 мМ ВАРТА во внутриклеточном растворе, зависит от ANO6. Это также подтвердили опыты в конфигурации inside-out с добавлением растворов с разной концентрацией хелатора и без добавления ионов кальция.

Таким образом, кальциевый хелатор ВАРТА при добавлении с внутриклеточной стороны приводит к активации и изменению электрофизиологических свойств эндогенных CaCC ANO6 в клетках HEK293.

Источники финансирования: работа была поддержана грантом РФФИ № 23-44-00054.

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ТИАМИНА И ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ НАД ПРИ БОЛЕЗНИ ШАРКО–МАРИ–ТУТА ТИПА 2К

Емельянова А.А.¹, Борисова Н.А.², Соловьева О.Н.³, Сидорова О.П.⁴, Бунник В.И.^{1,3,5}

¹ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва

²ФГОАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Институт клинической медицины им. Н.В. Склифосовского, Москва

³ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Москва

⁴ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский институт им. М.Ф. Владимирского» (МОНИКИ), Кафедра неврологии, Москва

⁵ФГОАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Кафедра биохимии, Москва

Болезнь Шарко–Мари–Тута (ШМТ) — распространенная наследственная моторно-сенсорная полиневропатия. Витамины В₁ и В₃ — предшественники ключевых коферментов — эффективны в лечении невропатологий.

Цель работы — оценить потенциал витаминов В₁ и В₃ в лечении ШМТ2К при мутациях GDAP1.

У пациентки 16-ти лет обнаружена ШМТ2К с гетерозиготными мутациями GDAP1: не описанной ранее Ala175Pro (от матери) и известной Leu239Phe (от отца), снижающей стабильность белка. Изучали действие перорального приема тиамина (100 мг) в течение 216 дней, с 91-го по 183-й день дополненного пероральным приемом никотинамидрибозида (НР, 100 мг), а со 184-го дня — никотинамидмоноуклеотида (НМН, 500 мг). Динамометрию силы сгибателей пальцев кистей рук сопоставляли с параметрами взятой натошак в пробируку с гепарином венозной крови: концентрациями окисленного никотинамидадениндинуклеотида (НАД⁺) и тиаминдифосфата (ТДФ), активностью транскетолазы (ТК), экспрессией α субъединицы пируватдегидрогеназы (ПДГА) и ее фосфорилированной формы. Для сравнения использовали анализ близких по возрасту здоровых женщин и пациенток ШМТ из опубликованного исследования.

Не описанная ранее мутация c523G>C (Ala175Pro) локализована в высокомолекулярном участке наиболее консервативной в структуре GDAP1 α -петли между двумя доменами белка. Фиксированная конформация пептидной связи пролинового остатка ограничивает существенную для связывания лигандов

подвижность α -петли, что должно вызывать дисфункцию белка. Дефекты GDAP1 с обеих аллелей объясняют выраженность патологии у пациентки при отсутствии таковой у родителей. Параметры тиаминового статуса у пациентки существенно не отличались от близких по возрасту контролей или других пациенток с ШМТ. Экспрессия, но не фосфорилирование ПДГА при мутациях GDAP1 была выше, чем у групп сравнения. Результаты указывают на регуляцию ПДГА крови при дисфункции GDAP1, что наблюдали и при нокауте GDAP1 в клетках нейробластомы. ТДФ в крови и сила сгибателей пациентки повышались при ежедневном приеме тиамина, а снижение дозы тиамина понижало оба параметра. Рост ТК при приеме тиамина коррелировал со снижением НАД⁺, возможно, из-за роста НАД(Ф)Н крови при активации ТК. НР (100 мг) и НМН (500 мг) повышали НАД⁺ в крови.

Таким образом, у пациентки с ШМТ2К наблюдали рост экспрессии ПДГА по сравнению с контролем и ШМТ других типов. Тиамин улучшил мышечную силу, а предшественники НАД повысили НАД⁺ в крови пациентки с ШМТ2К.

ФОРМИРОВАНИЕ РЕЗИСТЕНТНЫХ СВОЙСТВ ПО ОТНОШЕНИЮ К ФЛУКОНАЗОЛУ У ГРИБОВ РОДА *CANDIDA*

Еноктаева О.В., Николенко М.В., Айтмухамбетова И.Р.

ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России, Тюмень

Для борьбы с кандидозами используют широкий спектр лекарственных препаратов: флуцитозин, амфотерицин В, каспофунгин, итраконазол и другие. Одним из часто применяемых антимикотиков является флуконазол — фунгистатическое вещество, ингибирующее рост клеток микромицетов благодаря негативному воздействию, оказываемому на работу фермента 14 α -деметилазы, необходимого для биосинтеза эргостерола — компонента плазматической мембраны. Существуют альтернативные пути биосинтеза эргостерола без использования вышеуказанного фермента, которые ведут к снижению эффективности применения данного лекарственного препарата. Точечные мутации в гене *ERG11*, приводящие к замене аминокислот в молекуле-мишени, переход в гомозиготное состояние или увеличение количества копий данного гена в кариотипе грибов при анеуплоидиях также приводят к повышению резистентных свойств у патогенных штаммов. Накоплению флуконазола в клетках грибов препятствует наличие в мембране эфлюксных белков оттока. ABC-транспортеры кодируются генами *CDR1* и *CDR2* (*Candida drug resistance*), экспрессию которых регулирует цинк-кластерный фактор транскрипционной активности генов *Tac1* (*Transcriptional activator of CDR*). Цинк-кластерный фактор транскрипционной активности генов *Mrr1* (*Multidrug resistance regulator*) регулирует экспрессию *MDR1* (*Multidrug resistance*) — гена, ответственного за синтез основных фасилитаторов. Мутации в генах *TAC1* и *MRR1* и увеличение количества их копий в кариотипе тоже являются причиной повышения резистентности у видов рода *Candida* к флуконазолу.

В заключение следует сказать, что применение флуконазола в терапевтической практике, клинический статус пациента и колебания собственных физиологических процессов внутри клеток грибов приводят к регулированию экспрессии генов у патогенных штаммов.

Даже генетически идентичные клетки могут вести себя неодинаково и проявлять разные адаптивные возможности в одних и тех же условиях, демонстрируя свою фенотипическую пластичность, что подтверждается ростом количества микромицетов, обладающих резистентными свойствами.

ВЛИЯНИЕ 20-ГИДРОКСИЭКДИЗОНА НА ОБМЕН АЗОТСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

Еримбетов К.Т.^{1,2}, Обвинцева О.В.³

¹ФГБОУ ВО «МИРЭА — Российский технологический университет», Москва

²ФГБОУ ВО «Калужский государственный университет им. К.Э. Циолковского», Калуга

³ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ им. акад. Л.К. Эрнста», ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных, Боровск

К фитостероидам относится 20-гидроксизекдизон, который получают из корней левзеи сафлоровидной; он обладает плейотропностью физиологических и фармакологических действий. Одним из свойств 20-гидроксизекдизона является способность регулировать обмен веществ, в том числе при его нарушениях.

Цель исследования — оценить влияние 20-гидроксизекдизона на метаболизм азотсодержащих соединений в норме и при сахарном диабете.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что 20-гидроксизекдизон обеспечивает повышению функционального состояния организма через фосфатидилинозитол-3-киназный сигнальный путь активации протеинкиназы В. Следует отметить, что белково-анаболическое действие 20-гидроксизекдизона не связано с его влиянием на синтез мРНК, а является отражением ускорения трансляционных процессов за счёт сопряжённой стимуляции инициации трансляции и элонгации.

Применение 20-гидроксизекдизона способствует увеличению интенсивности синтеза белков ($2,77 \pm 0,06$ против $2,54 \pm 0,04$ г азота/кг массы тела 0,75/сутки; $p < 0,05$), потока азота (г азота/кг массы тела 0,75/сутки) на 16%, за счёт снижения потерь эндогенного азота с мочой ($0,48 \pm 0,06$ против $0,71 \pm 0,05$ г азота/кг массы тела 0,75/сутки; $p < 0,01$). При этом отмечено снижение концентрации свободных аминокислот (суммы аминокислот 497 ± 19 против 565 ± 16 мкг/мл; $p < 0,05$), мочевины ($3,9 \pm 0,4$ против $5,2 \pm 0,3$ ммоль/л; $p < 0,05$), которая является конечным продуктом обмена азотистых веществ в организме на фоне повышения уровней общего белка и альбумина в сыворотке крови.

При сахарном диабете 20-гидроксизекдизон

способствует нормализации уровня глюкозы, обмена азотсодержащих соединений (мочевины, креатинина, аспартат- и аланинаминотрансферазы, гамма-глутамилтрансферазы, аминокислот).

Заключение. 20-Гидроксизекдизон путем активации фосфатидилинозитол-3-киназного сигнального пути может усиливать обмен азотсодержащих соединений в норме и нормализовать его при нарушениях, в том числе, связанных с сахарным диабетом.

ПОТЕНЦИАЛ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ СИЛИМАРИНА В ЛЕЧЕНИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

Зендер М.М., Москвитина И.Е., Новиков Т.М., Зайко О.А.

ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва

Актуальность. Силимарин — смесь органических соединений, активно изучающаяся в последние 5 лет (более 4000 исследований). Выраженные антиоксидантные свойства и низкая токсичность позволяют применять силимарин в лечении злокачественных опухолей.

Цель: проанализировать возможность терапии рака препаратами с силибинином, исследовать его молекулярные механизмы действия.

Материалы и методы: анализ научно-исследовательской литературы, представленной на базах данных National library of Medicine. Силибинин является основным компонентом силимарина — смеси биологически активных веществ, извлеченной из плодов расторопши пятнистой, *cardui mariae fructus*. Фармакологическая группа — гепатопротектор. Входит в состав как однокомпонентных, так и многокомпонентных препаратов (Силимар®, Гепафор®, Сибектан®). Согласно МКБ-10, применяется при заболеваниях печени (K71 Токсическое поражение печени, K73.9 Хронический гепатит неуточненный, K74 Фиброз и цирроз печени).

Результаты. В последних исследованиях 2019–2024 гг. продемонстрировал терапевтический потенциал в лечении злокачественных опухолей, в том числе мультиформной глиобластомы, путем влияния на Nrf2-протеин, ответственный за регуляцию апоптоза и синтеза компонентов неферментативной антиоксидантной системы (например, GSH). Так, оценка биохимических маркеров на введение силимарина крысам, экспериментально подверженным влиянию нейротоксина акриламида, показала существенную активацию антиоксидантных ферментов CAT, SOD, и GPx, нормализацию уровня нейромедиаторов, предотвращение апоптоза нейронов. У пациента с диагнозом C71.9 «Злокачественное новообразование головного мозга неуточнённой локализации»,

получавшего терапию силибинином, уровень экспрессии ферментов Nrf2 и HO-1, а также глутаредоксина и тиоредоксина был проверен методом ПЦР в реальном времени, и их экспрессия значительно увеличилась после лечения, а уровень малонового диальдегида, являющегося показателем перекисного окисления липидов, был снижен.

Сочетание приема препаратов, содержащих силибинин с генетическим тройным синергическим селективным ингибированием путей синтеза GSH, Trx и Nrf2 в клетках опухоли — перспективное направление в противораковой терапии.

Выводы: силимарин повышает активность ферментов каталазы и супероксиддисмутазы, а также общий уровень антиоксидантной способности и перспективен для разработки новой противораковой терапии с низкой токсичностью.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ОКТОКАТИОННОГО ПРОИЗВОДНОГО БАКТЕРИОХЛОРИНОВ НА КЛЕТКАХ ГЛИОБЛАСТОМЫ ЧЕЛОВЕКА

Зимулькина Д.Р.¹, Меерович Г.А.², Макарова Е.А.³, Сусова О.Ю.⁴, Каршиева С.Ш.^{4,5}

¹ФГОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

²ФГБУН ФИЦ «Институт общей физики им. А.М. Прохорова» РАН, Москва

³АО «Государственный научный центр «НИОПИК», Москва

⁴ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

⁵ФГАУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС», Москва

Актуальность. Глиобластома (ГБМ) является наиболее агрессивной и часто встречающейся первичной опухолью нервной системы, которая характеризуется высокой смертностью и низкой выживаемостью. Стандартом лечения ГБМ является хирургическое лечение с максимально возможной резекцией опухоли и последующей лучевой или химиотерапией темозоломидом в качестве препарата первой линии. Фотодинамическая терапия (ФДТ), с использованием производных бактериохлоринов, имеющих интенсивность поглощения в ближней ИК области спектра, что позволяет эффективно воздействовать на опухоли в глубоких слоях мозга, является перспективной альтернативой для адъювантного лечения ГБМ.

Цель исследования. Изучить фотодинамическую активность октакатионного производного бактериохлоринов BC8 на клеточной линии U-87 и первичной культуре GBM13n глиобластомы человека и определить общее количество активных форм кислорода (АФК) после ФДТ.

Материалы и методы. Клетки облучали с помощью светодиодного источника ($\lambda = 761$ нм) с плотностью световой дозы 30 Дж/см². Для измерения цито- и фототоксичности BC8 использовали краситель аламаровый синий и многофункциональный планшетный анализатор Varioscan LUX. Общее количество АФК определяли методом окрашивания дихлорфлуоресцеиномдиацетатом, интенсивность флуоресценции которого измеряли с помощью Varioscan LUX при длине волны возбуждения 485 нм и длине волны испускания 530 нм. Клетки визуализировали с помощью системы EVOS M5000.

Результаты. На клетках ГБМ человека показано, что BC8 обладает выраженной фототоксичностью: полунгибирующая концентрация IC50 для клеточной линии U87 составляет 0.3 мкМ, а для первичной культуры GBM13n – 0.1 мкМ. Уровень АФК через сутки после фотодинамического воздействия BC8 в клетках ГБМ превышает контрольные значения в 5-5,7 раз. При этом BC8 без облучения не влияет на выживаемость клеток и продукцию АФК.

Закключение. Новый синтетический фотосенсибилизатор на основе октакатионного производного бактериохлоринов проявляет высокую фотодинамическую активность в отношении клеточных культур глиобластомы человека, ассоциированную с повышенной продукцией активных форм кислорода.

Источники финансирования. Работа проводилась при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках программы стратегического академического лидерства «Приоритет 2030».

ВЛИЯНИЕ ТРЕТ-БУТИЛ-ОКСИКАРБОНИЛ-ГЛИЦИЛ-ЦИАНОПИРРОЛИДИНА И ТРЕТ-БУТИЛ-ОКСИКАРБОНИЛ-МЕТИОНИЛ-ЦИАНОПИРРОЛИДИНА НА АКТИВНОСТЬ ПРОЛИЛЭНДОПЕПТИДАЗЫ И ВИСЦЕРАЛЬНУЮ БОЛЬ В СРАВНЕНИИ С СЕЛЕКТИВНЫМ ИНГИБИТОРОМ ПРОЛИЛЭНДОПЕПТИДАЗЫ БЕНЗИЛОКСИКАРБОНИЛ-ПРОЛИЛ-ПРОЛИНАЛЕМ

Иванова Е.А., Золотов Н.Н., Воронина Т.А.

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва

Введение. Нейропептид семейства тахикининов SP1-11 является нейромедиатором и модулятором болевой реакции. SP1-11 метаболизируется до пептидов SP3-11, SP5-11 и SP8-11, имеющих сродство к рецептору нейрокина 1 (NK-1). SP3-11 и SP5-11 образуются под действием пролилэндопептидазы (ПЭП, КФ 3.4.21.26) и дипептидилпептидазы 4 (КФ 3.4.14.5); ингибиторы ПЭП снижают скорость образования SP3-11 и SP5-11. SP5-11 увеличивает высвобождение возбуждающих аминокислот в дорсальном отделе спинного мозга крыс.

Цель исследования — оценить влияние трет-бутил-оксикарбонил-глицил-цианопирролидина (BocGlyPrdN) и трет-бутил-оксикарбонил-метионил-цианопирролидина (BocMetPrdN) в сравнении с селективным ингибитором ПЭП бензилоксикарбонил-пролил-пролиналем (Z-Pro-ProAl) на активность ПЭП и висцеральную боль у мышей.

Материалы и методы. Ингибирование активности ПЭП BocGlyPrdN, BocMetPrdN и Z-Pro-ProAl оценивали в присутствии субстрата Z-Ala-Pro-7-амино-4-кумариламида. Об ингибировании судили по количеству освободившегося 4-метил-кумарил-7-амида, определяемому флуориметрически (λ возбуждения 380 нм, флуоресценции 460 нм). IC50 ПЭП рассчитывали по уравнению Ченга-Пруссофа в программе Prism-4. Противоболевой эффект BocGlyPrdN, BocMetPrdN и Z-Pro-ProAl при однократном внутрибрюшинном (внб) введении (5 мг/кг) оценивали на модели укусных корчей у мышей. Контролем служили мыши, которым вместо соединений за 40 мин до внб введения 1% уксусной кислоты внб вводили физиологический раствор. О степени боли судили по числу специфических болевых движений — корчей, которые

регистрировали в течение 15 мин после введения 1% уксусной кислоты.

Результаты. IC50 ПЭП BocGlyPrdN — 12 нМ, BocMetPrdN — 3 нМ, Z-Pro-ProAl — 1,6 нМ. BocGlyPrdN и BocMetPrdN значительно снижали число корчей у мышей соответственно на 32% и 34% по сравнению с контролем. Z-Pro-ProAl не влиял на висцеральную боль. Различия действия производных цианопирролидина и Z-Pro-ProAl объясняются, скорее всего, их фармакокинетическими свойствами, поскольку среди них Z-Pro-ProAl — наиболее сильный ингибитор ПЭП.

Выводы: BocGlyPrdN и BocMetPrdN, как и Z-Pro-ProAl, ингибируют ПЭП, но в отличие от селективного ингибитора ПЭП, при однократном внутрибрюшинном введении в дозе 5 мг/кг за 40 мин до инъекции уксусной кислоты снижают висцеральную боль у мышей.

РЕГУЛЯТОРНЫЕ ПЕПТИДЫ: ВЛИЯНИЕ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН

Иванова В.П.

ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» РАН, Санкт-Петербург

Регуляторные пептиды могут не только воздействовать на активность мембрано-связанных белков, но и изменять некоторые физико-химические характеристики липидного бислоя клеточных мембран. Трансформация микродоменной структуры клеточных мембран может происходить за счет флуктуации спектра жирнокислотных остатков, входящих в состав фосфолипидов, формирующих липидный бислой мембран.

Изучено действие трипептидного и тетрапептидного фрагментов гистона H3 на жирнокислотный состав фосфолипидов клеток линии CHO-K1.

Пептиды добавляли в среду культивирования за 24 ч до окончания инкубации клеток. Липиды экстрагировали по методу Фолча. Фосфолипиды разделяли на фракции методом двумерной ТСХ. Состав метиловых эфиров жирных кислот определяли методом ГЖХ.

Установлено, что культивирование клеток с пептидами не приводило к изменению состава фосфолипидов в клеточных мембранах, но существенно влияло на спектр жирных кислот, входящих в состав основных классов фосфолипидов. Оба пептида регулировали процесс включения ненасыщенных жирных кислот в молекулы фосфолипидов. При этом обработка клеток тетрапептидом приводила к увеличению доли моноеновых и диеновых кислот и уменьшению доли длинноцепочечных полиеновых кислот в фосфолипидах клеточных мембран. Уменьшение степени ненасыщенности алкильных цепей приводит к увеличению удельной плотности молекул фосфолипидов. Большая компактность укладки ацильных цепей у фосфолипидов, взаимодействующих с гидрофобными участками трансмембранных доменов различных рецепторов, может локально ограничивать диффузию рецепторов в плоскости липидного бислоя и способствовать формированию рафтовых зон с определенным составом

рецепторных и нерецепторных белков, регулирующих двустороннюю передачу сигнала. В отличие от тетрапептида трипептид стимулировал включение полиеновых жирных кислот, но ингибировал включение моноеновых жирных кислот в состав фосфолипидов. Культивирование клеток CHO-K1 с трипептидом приводило к увеличению степени жидкости обоих монослоев дипидного бислоя мембраны, что облегчает латеральное перемещение молекул рецепторов в плоскости мембраны и соответственно ускоряет процесс образования кластеров рецепторов и сборки адгезионных комплексов. Изменение соотношения степени жидкости внешнего и внутреннего монослоев липидного бислоя влияет на процесс деформации клеточной мембраны в местах контакта клетки с субстратом, что не может не влиять на скорость образования различных отростков у клетки в ходе распластывания или миграции.

ВЛИЯНИЕ ДИТИОФОСФАТОВ ГЛУТАТИОНА НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС В КЕРАТИНОЦИТАХ ПРИ ДЕЙСТВИИ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Ишкаева Р.А., Валинурова М.В., Эсметьева М.В., Ергешов А.А., Низамов И.С., Абдуллин Т.И.
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань

Солнечное ультрафиолетовое (УФ) излучение способно вызывать повреждение тканей кожи, приводя к эритеме и фоточувствительности, а также провоцировать преждевременное старение кожи, фотодерматоз и новообразования. В клетках УФ-излучение вызывает окислительный стресс за счет фотоокисления белков, липидов, ДНК с участием генерируемых активных форм кислорода (АФК), таких как супероксид-радикал, синглетный кислород, пероксид водорода и гидроксильный радикал, в совокупности вызывающих апоптотическую гибель клеток. Терапия с применением антиоксидантов позволяет как предотвращать образование АФК и таким образом иметь профилактическое действие, так и снижать гибель клеток после повреждения.

В работе исследованы ранее синтезированные производные преобладающего внутриклеточного антиоксиданта глутатиона в редокс формах (GSH/GSSG), а именно, солей глутатиона с O,O-диорганилдитиофосфорными кислотами, используемыми в качестве модуляторов фармакологических свойств GSH/GSSG.

Принимая во внимание, что клетки эпидермиса кожи подвержены прямому действию УФ-излучения, для изучения влияния дитиофосфатов глутатиона на УФ-индуцированный стресс использованы кератиноциты линии HaCaT. Были оптимизированы условия повреждения кератиноцитов при кратковременной экспозиции УФ-излучения.

Согласно полученным результатам, обработка вызывала значительное понижение жизнеспособности кератиноцитов (на 80%) и умеренную сверхпродукцию АФК (приблизительно в 2,5 раза). В данных условиях дитиофосфаты глутатиона в нетоксичных концентрациях вызвали достоверное снижение уровня АФК и повышение жизнеспособности клеток.

Кроме того, повреждение ультрафиолетом приводило к заметным морфологическим изменениям клеток, таким как округление и изменение формы ядер. По данным визуального анализа, дитиофосфаты глутатиона также проявили цитопротекторный эффект, ингибируя морфологические изменения клеток. При этом тестируемые соединения не оказывали заметного влияния на детектируемые параметры в интактных клетках.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшего исследования дитиофосфатов глутатиона в качестве потенциальных цитопротекторных агентов.

Источники финансирования. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-75-01143, <https://rscf.ru/project/23-75-01143/>.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МИШЕНИ ДЛЯ ИММУННОЙ ТЕРАПИИ ГЕПАТИТА D

Карандашов И.В.¹, Костюшева А.П.¹, Брезгин С.А.¹, Пономарева Н.И.¹, Фролова А.С.¹, Закирова Н.Ф.², Иванов А.В.², Замятин А.А.^{3,4}, Чуланов В.П.⁵, Костюшев Д.С.^{1,4}

¹ФГОАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Институт медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского, Москва

²ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН, Москва

³Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Сочи

⁴ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Факультет биотехнологии и биоинформатики, Москва

⁵ФГОАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

Коинфекция вирусами гепатита В и D является тяжелой формой вирусного гепатита. Пятилетняя выживаемость инфицированных пациентов не превышает 50% из-за быстрого развития цирроза и рака печени. Поиск новых противовирусных факторов, подавляющих репликацию вируса гепатита D (ВГД), является одним из перспективных направлений для лечения ВГД-инфекции.

В рамках данного исследования был проведен анализ влияния 157 внутриклеточных факторов иммунного ответа на модели ВГД репликации в клетках человека HepG2. Анализ влияния факторов на ВГД проводили методами ПЦР, иммуноцитохимии и вестерн-блоттинга.

Выявлена выраженная противовирусная факторов YTHDF3, RSAD2 и IFIT2. Снижение параметров репликации ВГД достигало >50–80%. Противовирусная активность была подтверждена на модели коинфекции клеток HepG2-hNTCP. Все три фактора дестабилизировали РНК ВГД и снижали долю ВГД-позитивных клеток в >2 раза.

Детально был изучен механизм противовирусной активности YTHDF3, которая заключается в (1) дестабилизации РНК ВГД; (2) увеличении ядерного экспорта и (3) увеличении стабильности мРНК противовирусных факторов; (4) усилении экспрессии противовирусных белков. С помощью РНК-иммунопреципитации продемонстрировано, что YTHDF3 не взаимодействует с РНК ВГД напрямую, однако отмечено увеличение связывания с факторами противовирусного

ответа STAT1, TBK1, IRF3 и OAS (положения 492 и 497). YTHDF3 — считыватель эпигенетической модификации РНК, метилированного аденозина в положении 6 (m6A). Для оценки роли распознавания m6A белком YTHDF3 в ответе на ВГД были получены мутированные варианты YTHDF3 с делецией доменов и точечными мутациями в сайтах распознавания m6A. Выявлено, что делеция одного из доменов YTHDF3 полностью отменяет противовирусную активность фактора. Внесение мутаций в сайты m6A усиливает противовирусное действие YTHDF3. Анализ внутриклеточной локализации FLAG-меченых вариантов YTHDF3 белка не выявил колокализации с липидными каплями — одним из мест деградации РНК в клетке, при этом наблюдается увеличение экспрессии STING в FLAG-позитивных клетках. Метаболомный анализ продемонстрировал выраженные изменения в метаболомном профиле клеток при гиперэкспрессии различных вариантов белка YTHDF3 и белка RSAD.

Таким образом, выявлено три фактора с выраженной противовирусной активностью на модели ВГД. Изучены механизмы противовирусного действия белка YTHDF3, которые заключаются в активации противовирусного ответа за счет действия на уровне транскриптома, протеома и метаболома клеток.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №22-75-10032.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ HCRG21 ПЕПТИДА МОРСКОЙ АНЕМОНЫ *HETERACTIS CRISPA* В ЛЕЧЕНИИ ПСОРИАЗА И АЛЛЕРГИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА

Климович А.А.^{1,2}, Дерявко Ю.В.¹, Кветкина А.Н.¹, Попкова Д.В.¹, Гладких И.Н.¹, Синцова О.В.¹, Прайменко Н.А.^{1,2}, Лейченко Е.В.^{1,2}

¹ФГБУН «Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова» ДВО РАН, Владивосток

²ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», Владивосток

Дерматиты и псориаз — практически неизлечимые заболевания кожи со сложной этиологией и патогенезом. Используемые на сегодняшний день средства для лечения данных патологий обеспечивают лишь симптоматический эффект и при этом имеют ряд побочных действий. В настоящий момент известно, что к развитию кожных заболеваний может приводить дисфункция рецепторов ионных каналов. Одним из таких каналов является TRPV1, интегратор болевых и воспалительных стимулов, также участвующий в патогенезе кожных заболеваний, в частности повышая экспрессию провоспалительных медиаторов/цитокинов, усиливающих воспаление и зуд. Селективные лиганды, модулирующие функциональную активность ионных каналов, являются перспективными агентами для создания лекарственных препаратов нового поколения. В яде морской анемоны *Heteractis crispa* был обнаружен пептид HCRG21, являющийся полным блокатром TRPV1.

Рекомбинантный аналог пептида HCRG21 был выбран в качестве действующего вещества для разработки наружных средств лечения псориаза и аллергического дерматита. Оценка фармакологического потенциала HCRG21 была выполнена на мышиных моделях имиквимод-индуцированного псориазоподобного поражения кожи и дерматитов, вызванных кальципотриолом и 2,4-динитрофторбензолом.

Во всех трёх моделях применение геля, содержащего от 0,005% до 0,1% HCRG21, способствовало облегчению тяжести клинических проявлений псориаза и аллергического поражения кожи, таких как гиперкератоз, шелушение, гиперемия, утолщение и увеличивало скорость восстановления тка-

ней. Терапевтический эффект HCRG21 достигался за счёт нормализации гематологических и иммунологических показателей крови. Согласно клиническому анализу крови, средства с HCRG21 снижали общий уровень лейкоцитов и приводили в норму лейкоцитарную формулу, уменьшая содержание базофилов и эозинофилов. Иммунологический анализ показал, что HCRG21 снижает сывороточный уровень цитокинов, участвующих в патогенезе псориаза и дерматита, а именно интерлейкинов IL-1β и IL-23 и макрофагального хемокина. Кроме того, при гистологическом исследовании тканей обнаружено, что средство с HCRG21 препятствует патоморфологическим изменениям тканей, а именно уменьшает гиперкератоз и гиперплазию эпидермиса и дермы и васкуляризацию.

HCRG21 является перспективным терапевтическим агентом, способным за счёт блокирования TRPV1 каналов препятствовать развитию воспалительных процессов в коже и уменьшать клинические проявления псориаза и дерматита.

Источники финансирования. Работа выполняется при финансовой поддержке Минобрнауки России (Соглашение No 075-15-2022-1143 от 07 июля 2022 г.).

КОНЦЕНТРАЦИЯ ФЛАВОНОИДОВ В КОРНЕВИЩАХ ЛАБАЗНИКА ВЯЗОЛИСТНОГО В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТИПА ПОЧВЫ

Кириллов Н.А., Макарова Е.С., Григорьев С.Н.

ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», Чебоксары

До 38% территории Чувашской Республики покрыто лесами и лесными насаждениями, в которых описано более 300 видов лекарственных растений. К числу наиболее распространенных видов лекарственных трав относится лабазник вязолистный. В некоторых странах мира лабазник входит в список растений официальной фармакопеи, а в России на протяжении множества веков применяется населением для лечения органов дыхательной системы, артрита, ревматизма, водянки, подагры, не заживающих ран, ожогов и язв. Применение препаратов из разных органов лабазника связано с содержанием в них высоких концентраций витаминов (прежде всего, аскорбиновой кислоты), макро- и микроэлементов, кумаринов, флавоноидов и дубильных веществ. Особый интерес для фармацевтов и производителей биологически активных добавок представляют флавоноиды, которые применяются в составе комплексных препаратов в виде настоек, эликсиров и бальзамов. Эффективность последних зависит от содержания в составе сырья фенольных соединений, а концентрация биологически активных веществ — от условий и места произрастания.

Нами спектрофотометрическим путем проведено определение концентрации флавоноидов в корневищах лабазника, собранных на территории двух округов Чувашии (Ибресинского и Чебоксарского).

Растения из Ибресинского округа произрастали на легких супесчаных почвах с низким содержанием гумуса (2,42%), а из Чебоксарского — на тяжелых суглинистых почвах с невысоким содержанием гумуса (1,89%).

Как показали исследования, концентрация флавоноидов в корневищах, выкопанных на территории Ибресинского округа, оказалась выше ($3,94 \pm 0,323\%$) по сравнению с образцами, собранными на территории Чебоксарского района ($3,47 \pm 0,23\%$). Ранее нами было описано наличие 19 макро- и микроэ-

лементов в изученных образцах корневищ, среди которых преобладали Ca; K; Si; Fe; Mn и S. Концентрация обнаруженных химических элементов была выше в корневищах, собранных на территории Ибресинского округа. При этом в образцах корневищ, выкопанных на территории Чебоксарского округа, были выявлены дополнительно алюминий и никель, а в образцах из Ибресинского округа — ванадий и хром.

На основании результатов исследования можно заключить, что минеральный и органический составы лекарственного сырья из лабазника вязолистного зависят от типа почвы, что может отразиться на их фармакологических качествах.

ИЗУЧЕНИЕ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА НА РЕКОМБИНАНТНЫЙ ЛИСТЕРИОЛИЗИН — ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ КОМПОНЕНТ РЕКОМБИНАНТНЫХ МОНОВАЛЕНТНЫХ ВЕТЕРИНАРНЫХ ЛИСТЕРИОЗНЫХ ВАКЦИН

Кичемазова Н.В.¹, Ляпина А.М.¹, Урядова Г.Т.^{1,2}, Оглодина Д.Г.¹, Ларионова О.С.¹, Федорова В.А.¹

¹ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова», Саратов

²ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов

Листериоз — опасное инфекционное заболевание животных и человека. Смертность при развитой нервной форме инфекции достигает 30%. Заражение человека обычно происходит в результате употребления продуктов животноводства, контаминированных возбудителем заболевания *Listeria monocytogenes* (Lm). В РФ для профилактики листериоза успешно применяют ветеринарные живые аттенуированные вакцины, одним из недостатков которых является возможная реверсия вирулентности вакцинного штамма. Листеролизин О (LLO) является иммунодоминантным белком Lm и считается потенциальным компонентом безопасных субъединичных противолистерозных вакцин. Однако остается неясным, является ли он доминирующим антигеном при индукции иммунного ответа на штамм Lm, используемый в РФ в качестве вакцинного против листериоза сельскохозяйственных животных (СХЖ).

Цель работы — изучение гуморального ответа на рекомбинантный белок LLO при иммунизации лабораторных животных штаммом Lm, используемым в качестве вакцинного против листериоза СХЖ.

В работе использовали рекомбинантный белок LLO, который был экспрессирован в *E. coli* с последующей очисткой аффинной хроматографией. Исследование проводили на белых аутбредных мышах с массой тела 16–18 г путем их внутрибрюшинной иммунизации инактивированными бактериальными суспензиями вакцинного штамма Lm двукратно с интервалом в 7 сут. Бустерную инъекцию проводили на 36-е сутки иммунизации. Первую инъекцию вводили с адьювантом (полиоксидоний — ПО). Опытную группу (n=9) иммунизировали раствором инактивирован-

ного вакцинного штамма Lm в дозе 10^{-9} мкл на мышь; вторую опытную группу (n=10) — раствором инактивированного референтного штамма Lm; контрольную (n=4) — фосфатно-солевым буфером. На 40-е сутки мышей выводили из эксперимента путем внутрикардиального забора крови под терминальной анестезией. Сыворотки крови получали по стандартной методике. Гуморальный иммунный ответ оценивали с применением метода иммуоблоттинга.

В исследуемых сыворотках был детектирован гуморальный иммунный ответ к рекомбинантному белку LLO: у первой группы, иммунизированной вакцинным штаммом, — 67%, у группы, иммунизированной референтным штаммом, — 100%.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования рекомбинантного белка LLO листерий в качестве базового компонента для конструирования экспериментальной моновалентной вакцины нового поколения против листериоза СХЖ.

Источники финансирования: грант РНФ (проект 22-16-00165).

КИСЛОТО-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ ИОННЫЕ КАНАЛЫ КАК МОЛЕКУЛЯРНАЯ МИШЕНЬ ДЛЯ СРЕДСТВ ОБЕЗБОЛИВАНИЯ НА ПРИМЕРЕ ЭНДОГЕННЫХ И ЭКЗОГЕННЫХ ЛИГАНДОВ

Козлов С.А., Осмаков Д.И., Калиновский А.П.

ГНЦ ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

Среди лекарственных препаратов особое место занимают антибиотики и анальгетики, которые применяются наиболее часто при самых разнообразных заболеваниях. Соответственно и требования к таким лекарственным препаратам должны быть более строгие и более гибкие одновременно. Тогда как для антибиотиков найдено множество молекулярных мишеней, через которые можно ингибировать рост патогенных организмов, для анальгетиков пока признанными мишенями являются опиоидные рецепторы и фермент циклооксигеназа. Задействование этих путей обезболивания приводит к ряду побочных действий, и как следствие к ограничению применения для групп пациентов. А для опиоидных анальгетиков характерна выработка толерантности к применяемым препаратам, что осложняет их курсовой прием. Выходом является вывод на рынок лекарственных препаратов к альтернативной клеточной мишени для купирования болевых синдромов в комбинации с опиоидами или независимо от них. Установлено, что ключевыми игроками в процессах болевого сигнала являются рецепторы и ионные каналы периферических ноцицепторов. К ним относятся, в частности кислото-чувствительные ионные каналы (ASIC). Ингибиторы или частичные агонисты этих ионных каналов — перспективные кандидаты для купирования боли альтернативными путями.

На примере пептидных и низкомолекулярных лигандов, в том числе близких аналогов эндогенных пептидов, показана эффективность таких молекул как анальгетиков в тестах на животных моделях, а также их безопасность с точки зрения возникновения вероятных побочных эффектов.

ОРГАНЫ-НА-ЧИПЕ — НОВЫЙ ПОДХОД К РАЗРАБОТКЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Колесов Д.В., Лазарева О.А., Вишнякова П.А.

ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова»
Минздрава России, Москва

ФГАОУ ВО «Московский политехнический университет», Москва

ООО «Микрофлюидные технологии», Москва

Доклинические исследования *in vivo* являются неотъемлемой частью процесса разработки лекарственных препаратов, выявляющей их токсичность и эффективность при взаимодействии с разными органами организма. Обычно такие исследования проводят на животных моделях, например, грызунах. Однако в большинстве случаев эффективность на животных не гарантирует последующую эффективность на людях. Помимо низкой предсказательной силы для человека, к животным моделям существуют вопросы, касающиеся стоимости и времязатратности, а также вопросы этического характера. Появившиеся в последние два десятилетия модели типа «орган-на-чипе» имеют хорошие шансы стать альтернативой испытаниям на животных. Такие модели обычно представляют собой микрофлюидные устройства, в которых культивируются человеческие клетки, имитируя как тканевую микроархитектуру, так и физиологические функции различных органов. К настоящему моменту множество органов организма воспроизведено в микрофлюидном формате, включая сосудистую систему, легкие, почки, печень, сердце и др. Важной особенностью органов-на-чипе является возможность имитировать межтканевой барьер, включая гемато-тканевой транспорт.

Большинство терапевтических агентов распространяется по организму и проникает в ткани через кровоток. Поэтому модель сосудистой системы является основой построения полиорганных моделей на чипе. Мы научились достаточно хорошо воспроизводить эндотелиальную выстилку сосудов в микрофлюидных каналах. Микрофлюидный формат позволяет с высокой точностью контролировать массоперенос, воздействие сдвиговой деформации на эндотелий, прово-

дить изучение прямыми методами наблюдения, например, конфокальной микроскопией. На этой модели нами был исследован захват антиопухолевых липосом в условиях постоянного потока [1]. Дальнейшим развитием будет добавление в систему новых видов клеток, например, синцитиотрофобластов для моделирования плаценты-на-чипе.

Ранее большинство экспериментов в области построения органов-на-чипе имели в значительной степени инженерный характер, направленный на построение архитектуры чипа и воспроизведения функций органа или ткани. Сейчас фокус сместился в сторону верификации данного типа моделей для разработки лекарственных препаратов и воспроизведения патофизиологии заболеваний, а также демонстрации преимуществ перед животными моделями. Время покажет, преодолее ли технология органов-на-чипе этот барьер. Следующим шагом может стать персонификация подобных моделей для изучения индивидуального ответа пациента на предполагаемую терапию.

Литература

1. Onishchenko N.R., Kolesov D.V., Vodovozova E.L. et al. Protein Corona Attenuates the Targeting of Antitumor Sialyl Lewis X-Decorated Liposomes to Vascular Endothelial Cells under Flow Conditions // *Pharmaceutics*, 2023, 15, 1754

ИЗУЧЕНИЕ ИНГИБИТОРА ГЛИКОЛИЗА МОНОЙОДАЦЕТАТА В КАЧЕСТВЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО АГЕНТА

Коршунов Д.А., Кондакова И.В.

НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН»,
Томск

Ключевые слова: монойодацетат, липосомы, противоопухолевый эффект

Актуальность. Изменение метаболизма в раковых клетках является новой областью исследований противоопухолевых агентов. Существует множество потенциальных кандидатов, направленных на метаболизм глюкозы. Однако многие из них потерпели неудачу на ранних стадиях клинических испытаний, демонстрируя системную токсичность. Ингибитор гликолиза монойодацетат (ЙА) обладает хорошим противоопухолевым действием, но имеет небезопасный профиль. Липосомы (ЛС) являются хорошим элементом для адресной доставки и уменьшения системной токсичности препаратов.

Цель исследования. Установить влияние инкапсуляции монойодацетата в липосомы на его противоопухолевые свойства и системную токсичность.

Методы. ЛС готовили методом экструзии. Количественную оценку ЙА, инкапсулированного в ЛС, проводили с помощью ВЭЖХ. Токсическое действие оценивали по биохимическим маркерам крови. Противоопухолевую и антиметастатическую активность изучали на модели карциномы Льюиса с применением краткосрочной (4 дня) и двухнедельной долгосрочной схем.

Результаты. Количественный анализ ЙА в ЛС показал, что при максимально допустимой концентрации ЛС в 10 мг/мл, концентрация для вводимого в вену ЙА составила 8 мг/кг. Анализ биохимических показателей выявил, что ЙА токсичен для различных органов, но не оказывает такового действия на печень. Инкапсуляция в ЛС приводила к устранению всех его токсических свойств по биохимическим показателям. Эффективность торможения роста первичного очага ЙА в свободной форме достигала 15% при краткосрочном применении. При этом торможение роста метастазов было на уровне 45%. В группе ле-

чения с ЛС терапевтический эффект в отношении первичного очага увеличился до 25%, что является умеренным показателем для данной модели. Липосомальная форма также снижала антиметастатическую эффективность ЙА при краткосрочном применении. Использование ЛС с ЙА по долгосрочной схеме обеспечивало торможение роста опухоли у животных на 40–50% как в первичном очаге, так и в отношении метастазирования.

Выводы. Липосомальная форма монойодацетата имеет безопасный профиль по сравнению со свободной формой. Липосомальная форма имеет умеренную противоопухолевую активность, а ее антиметастатический эффект проявляется в условиях длительного приема.

ТОКСИНЫ МОРСКИХ АНЕМОН КАК ОСНОВА ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ИННОВАЦИОННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Климович А.А., Лейченко Е.В.

ФГБУН «Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова» ДВО РАН, Владивосток
ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», Владивосток

Морские организмы представляют собой огромный и ценный ресурс природных биоактивных молекул, фармакологический потенциал которых обусловлен, как правило, уникальностью их структуры. Пептидные токсины морского происхождения обладают широким спектром активности и имеют значительные преимущества перед низкомолекулярными метаболитами при применении их в качестве активных фармакологических субстанций. В настоящее время современные омиксные технологии позволяют получать необходимую структурно-функциональную информацию о потенциале пептидных соединений исследуемого организма, а биотехнологические подходы обеспечивают их эффективную наработку с минимальным воздействием на окружающую среду.

Наиболее изученными морскими пептидами являются пептиды моллюсков конусов, морских червей, медуз и морских анемон, последние из которых будут подробно рассмотрены в настоящем докладе. Особое внимание будет уделено изучению их молекулярного разнообразия, получению и тестированию биологической активности.

Проведенный протеомный анализ яда тропической морской анемоны *Heteractis magnifica* выявил более 300 пептидов, принадлежащих к различным структурным классам, главным образом, β-дефензинам, нейротоксинам и пептидам Кунитц-типа. Среди них впервые были обнаружены соединения с нейропротекторными свойствами, которые могут быть успешно использованы в терапии нейродегенеративных заболеваний, а также эффективно снижающие постпрандиальную гипергликемию и представляющие интерес как потенциальные препараты для лечения и/или предотвращения развития метаболического синдрома и сахарного диабета. Найдены пептиды, обладающие выраженной анальгетической и противовоспалительной активностью, связанной как с ингибировани-

ем протеаз, участвующих в воспалительном ответе, так и с влиянием на ионные каналы и рецепторы, такие как Kv, TRPV1, TRPA1, ASIC и P2X7.

Так, обнаруженный нами первый пептидный блокатор TRPV1, токсин Кунитц-типа HCRG21, обладает пролонгированным анальгетическим и противовоспалительным действием без гипертермической активности и рассматривается нами как перспективный анальгетический препарат. Доказана его эффективность в *in vivo* моделях аллергического контактного дерматита и псориаза в сравнении с кортикостероидными препаратами.

Источники финансирования. Работа выполняется при финансовой поддержке Минобрнауки России (Соглашение № 075-15-2022-1143 от 07 июля 2022 г.).

МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПТАЗЫ ВИЧ-1 С ЕЕ НЕНУКЛЕОЗИДНЫМИ ИНГИБИТОРАМИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА МОЛЕКУЛЯРНОГО ДОКИНГА

Махмедова А.Э.^{1,2}, Акберова Н.И.¹, Казимиров П.В.²

¹ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань

²ГАУЗ «Республиканский центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями» Минздрава Республики Татарстан, Казань

Актуальность. Сегодня вирус иммунодефицита человека является острой проблемой для человечества, так как вакцина до сих пор не изобретена, а количество больных продолжает расти. Антиретровирусная терапия (АРТ) пока что остается единственным способом для борьбы с вирусом. У пациентов часто обнаруживаются мутации, связанные с устойчивостью к данным препаратам. Моделирование взаимодействия белок-лиганд является обязательным этапом в процессе разработки лекарств на основе структуры и прогнозирования функции белка. Молекулярный докинг — вычислительный метод, который предсказывает связывание молекулы лиганда с конкретным рецептором. Он предсказывает форму связывания, силу и аффинность молекул к связыванию с использованием различных функций подсчета очков.

Цель. С помощью молекулярного докинга сравнить взаимодействие невирапина и эфавиренза со структурой обратной транскриптазы ВИЧ-1 без мутаций и с мутациями устойчивости к ненуклеозидным ингибиторам.

Материалы и методы. Предварительно провели экстракцию РНК ВИЧ-1 («Реал-Бест ДельтаМаг ВГВ/ВГС/ВИЧ» (АО «Вектор-Бест», РФ)), затем ОТ-ПЦР и секвенирование по Сэнгеру («Нанофор-05» (НПО «Синтол», РФ)) для получения нужной последовательности. Анализ нуклеотидных последовательностей проводили в программе ViroSeq HIV-1 Genotyping System Software v.2.8 (Celera Diagnostic, США). В Protein Data Bank нашли структуру обратной транскриптазы без мутаций с номером 1C0T и структуры обратной транскриптазы с найденными мутациями с номерами 2HNZ и 2OPR. Структуры невирапина и эфавиренза нашли в базе дан-

ных ZINC. Молекулярный докинг проводили на сервере Swisdock, результаты докинга анализировали в программе UCSF Chimera. Наличие мутаций в данных пробах и их позиции определили с помощью базы данных HIV DRUG RESISTANCE DATABASE.

Результаты. Были определены следующие мутации: 1-я проба — V106I, E138K; 2-я проба — K101E, Y181C, G190S, K101E+Y181C. Невирапин взаимодействовал в контрольной и мутантных структурах обратной транскриптазы во всех доменах, лучше всего в активном центре. Эфавиренз взаимодействовал со структурами обратной транскриптазы во всех доменах фермента, кроме области большого пальца, лучше всего в активном центре. Максимальная энергия сродства у мутанта с невирапином составила $-8,19$ ккал/моль, с контрольной структурой — $-8,36$ ккал/моль. Максимальная энергия сродства у мутанта с эфавирензом составила $-8,37$ ккал/моль, с контрольной структурой $-9,04$ ккал/моль.

ВЛИЯНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ АНАЛОГОВ ОКИСЛЕННОГО ГЛУТАТИОНА, ПРЕПАРАТОВ ГЛУТОКСИМА И МОЛИКСАНА, НА ТРАНСПОРТ Na^+ В ЭПИТЕЛИИ КОЖИ ЛЯГУШКИ

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

¹ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава РФ, Санкт-Петербург

Исследование механизмов трансэпителиального транспорта веществ — интенсивно развивающееся направление современной биологии и медицины. Кожа и мочевой пузырь амфибий представляют классические модельные объекты для исследования механизмов транспорта ионов через биологические мембраны.

Фармакологические аналоги окисленного глутатиона (GSSG) — глутамил-цистеинил-глицин динатрия (Глутоксим® — динатриевая соль GSSG с d-металлом в наноконцентрации, «ФАРМА-ВАМ», Санкт-Петербург) и инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия (Моликсан® — комплекс Глутоксима и нуклеозида инозина, «ФАРМА-ВАМ», Санкт-Петербург), используются как иммуномодуляторы и цитопротекторы в комплексной терапии бактериальных, вирусных и онкологических заболеваний. Эти препараты оказывают комплексное влияние на процессы редокс-регуляции в клетках, однако тонкие молекулярные механизмы их действия далеки от полного понимания. Также практически не изучено влияние окислителей и восстановителей на транспорт Na^+ в нативных эпителиальных системах, таких как эпителий кожи лягушки.

Цель исследования — изучение влияния Глутоксима и Моликсана в различных концентрациях на транспорт Na^+ в эпителии кожи лягушки. С использованием метода фиксации потенциала показано, что Глутоксим и Моликсан в концентрациях 100 и 500 мкг/мл подавляют транспорт Na^+ через апикальную поверхность кожи лягушки. Ингибирующее влияние этих препаратов может быть связано с их способностью взаимодействовать с функционально значимыми остатками цистеина Na^+ -транспортирующих белков, что приводит к ингибированию их активности и подавлению транспорта Na^+ . В то же время,

приложение Глутоксима и Моликсана в тех же концентрациях со стороны базолатеральной поверхности кожи, также как это было показано нами ранее для GSSG, имитирует действие инсулина и стимулирует транспорт Na^+ . Это согласуется с данными литературы о способности GSSG и его фармакологических аналогов оказывать рецептор-опосредованное влияние на клеточные процессы. Таким образом, в настоящей работе показано, что Моликсан и Глутоксим однонаправленно модулируют транспорт Na^+ в коже лягушки. Можно предположить, что эффект этих дисульфидсодержащих окислителей на транспорт Na^+ опосредован сходными регуляторными механизмами.

Источники финансирования: Работа выполнена в рамках Договора СПбГУ на выполнение научно-исследовательских работ № 05/03 от 12.03.2020.

ЛИГАНД РЕЦЕПТОРОВ СИГМА-1 BD-1063 ИНГИБИРУЕТ Ca^{2+} -ОТВЕТЫ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ ПРЕПАРАТОМ МОЛИКСАН В ПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ МАКРОФАГАХ

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

¹ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава РФ, Санкт-Петербург

Фармакологический аналог окисленного глутатиона препарат инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия (Моликсан®) («ФАРМА-ВАМ», Санкт-Петербург) используется как иммуномодулятор и цитопротектор в комплексной терапии бактериальных, вирусных и онкологических заболеваний. Клинические исследования показали, что Моликсан эффективен в профилактике и лечении коронавирусной инфекции COVID-19: приводит к более быстрому регрессу тяжести заболевания в более легкую форму. Ранее нами было впервые показано, что Моликсан увеличивает внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} , $[\text{Ca}^{2+}]_i$, вызывая мобилизацию Ca^{2+} из тапсигаргинчувствительных Ca^{2+} -депо и последующий депозависимый вход Ca^{2+} в перитонеальные макрофаги крысы. Рецепторы сигма-1 — многофункциональные лигандрегулируемые молекулярные шапероны в мембране эндоплазматического ретикулума, имеющие уникальную историю, структуру и фармакологический профиль. Выполняя функции шаперонов, рецепторы сигма-1 модулируют широкий спектр клеточных процессов в норме и патологии, включая процессы Ca^{2+} -сигнализации. Для выявления участия рецепторов сигма-1 во влиянии Моликсана на $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в макрофагах и в регуляции процессов Ca^{2+} -сигнализации в макрофагах в целом, исследовали влияние избирательного антагониста рецепторов сигма-1, соединения BD-1063, на Ca^{2+} -ответы, вызываемые Моликсаном в перитонеальных макрофагах крысы. Эксперименты проводили на культивируемых резидентных перитонеальных макрофагах крыс линии Wistar на автоматизированной установке для измерения $[\text{Ca}^{2+}]_i$ на базе флуоресцентного микроскопа Leica DM 4000B (Leica Microsystems, Германия). Для измерения $[\text{Ca}^{2+}]_i$ использовали флуо-

ресцентный зонд Fura-2AM (Sigma-Aldrich, США). Впервые обнаружено, что соединение BD-1063 подавляет обе фазы Ca^{2+} -ответов, вызываемых Моликсаном в макрофагах. Показано, что преинкубация макрофагов с 60 мкМ BD-1063 в течение 40 мин до введения 100 мкг/мл Моликсана приводит к значительному подавлению как мобилизации Ca^{2+} из внутриклеточных Ca^{2+} -депо (на $50,8 \pm 9,3\%$), так и последующего депозависимого входа Ca^{2+} в клетки (на $54,0 \pm 10,1\%$), индуцируемых Моликсаном. Кроме того, добавление 60 мкМ BD-1063 на фоне развившегося входа Ca^{2+} , индуцированного Моликсаном, вызывает значительное (на $63,1 \pm 8,5\%$) подавление депозависимого входа Ca^{2+} в макрофаги. Полученные данные свидетельствуют об участии рецепторов сигма-1 в комплексном сигнальном каскаде, вызываемом Моликсаном и приводящем к увеличению $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в макрофагах, а также об участии сигма-1 рецепторов в регуляции депозависимого входа Ca^{2+} в макрофагах.

Источники финансирования: Работа выполнена в рамках плановых тем Кафедры биофизики Санкт-Петербургского государственного университета и Кафедры биохимии Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета, а также Договора СПбГУ на выполнение научно-исследовательских работ № 05/03-20 от 12.03.2020.

ВОЗДЕЙСТВИЕ ФЕНТАНИЛА И СООТВЕТСТВУЮЩИЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙРОНОВ

Минакова В.В., Пряхин А.В.

Saint James School of Medicine, Arnos Vale, Saint Vincent and the Grenadines

Применение фентанила является растущей проблемой в обществе, поскольку часто может привести к передозировке. Фентанил в 50–100 раз более эффективен, чем другие опиоиды, отпускаемые по рецепту.

Целью этого исследования было провести сравнительный систематический обзор литературы, используя базы данных PubMed и NCBI. Мы сосредоточились на экспериментальных исследованиях с моделями крыс, мышей и свиней. С помощью блок-схемы для систематических обзоров и мета-анализов (PRISMA) было отобрано 24 статьи.

Известно, что фентанил действует через специфические опиоидные рецепторы (мю-опиоидный рецептор или MOR), вызывая гипоксические изменения в тканях. Поскольку фентанил имеет гораздо более высокое сродство к MOR, чем к дельта-опиоидным рецепторам, введение фентанила мышам, нокаутным по MOR, не вызывало изменений в дыхании, в то время как у мышей с MOR дикого типа наблюдалось значительное угнетение дыхания, что позволяет предположить, что фентанил стимулирует MOR. Было показано, что высокие дозы фентанила вызывают увеличение плотности дендритных отростков, тогда как более низкие дозы оказывают противоположный эффект, снижая плотность нейрональных отростков на 50%. Этот резкий контраст объясняется связью фентанила с кальмодулин-зависимой киназой типа 2 (CaMKIIa), вышестоящим активатором NeuroD, что способствует стабильности дендритов. Показано, что уровень фосфорилирования CaMKIIa снижается после хронического лечения фентанилом, однако общее количество NeuroD, измеренное в ядерных экстрактах, было увеличено. Воздействие фентанила в зависимости от дозы вызывало как нестабильность дендритных отростков, так и усиление экспрессии факторов, которые способствуют росту и стабилизации дендритных отростков. Фентанил вызывает стойкие

изменения посредством нейроадаптации, активируя рецепторы гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) в вентральной области покрышке (VTA). Активация рецепторов ГАМК-b на дофаминергических нейронах приводит к гиперполяризации, приводящей к уменьшению высвобождения дофамина в нескольких областях мозга (VTA и голубом пятне). Однако снижение токов рецепторов ГАМК-b в VTA может привести к увеличению концентрации дофамина позже после активации. Таким образом, подавление ГАМК-b рецепторов после самоиндуцированного воздействия фентанила, было вызвано одновременной пре- и постсинаптической нейроадаптацией.

НЕЙРОТОКСИЧЕСКИЕ ПОБОЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Михайлова М.Е.

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России, Оренбург

Актуальность. Нейротоксические эффекты при терапии антибактериальными препаратами (АБП) встречаются в 1–2% случаев (а у пациентов в отделении реанимации и интенсивной терапии и в 10–15%) и могут иметь множество неврологических проявлений. Именно поэтому такие побочные эффекты необходимо учитывать при оказании качественной медицинской помощи.

Цель и задачи. Изучить нейротоксические эффекты АБП на здоровье человека и выявить самые распространенные и важные из них, связанные с различными антибиотиками, регулярно применяемыми в клинических условиях.

Материалы и методы. Аналитический обзор имеющейся по данной теме информации, предоставленной в различных современных научных статьях и исследованиях.

Результаты. Важными примерами нейротоксических побочных эффектов, связанных с применением антибиотиков являются судороги, энцефалопатия, оптическая нейропатия, периферическая нейропатия, нарушения психики и обострение миастении. Они чаще встречаются у пожилых пациентов с почечной недостаточностью и у пациентов с уже существующими проблемами с центральной нервной системой. Многие из этих нейротоксических явлений обратимы, если их выявить на ранней стадии, поэтому медицинские работники и врачи должны быть осведомлены об их клинических проявлениях. Наиболее часто вызывают нейротоксические побочные эффекты такие антибиотики, как бета-лактамы (около 10% случаев, особенно в ОРПТ) и фторхинолоны (1–3,3%). Также следует отметить, что вызывать серьезную нейротоксичность могут и другие антибиотики, такие как аминогликозиды (около 2%), тетрациклины (могут вызвать нейромышечную блокаду), оксазолидиноны (особенно линезолид, вызывают серотониновый синдром), полимик-

сины (особенно часто вызывают парестезии и атаксию), этамбутол и изониазид (от 12 до 24%). Одним из примеров побочных действий на нервную систему служит индуцированная метронидазолом энцефалопатия (0,25%), связанная с его способностью преодолевать гематоэнцефалический барьер, после чего он связывается с РНК, ингибируя синтез белка в ЦНС, что приводит к аксональной дегенерации нервных волокон. Кроме того, метронидазол индуцирует окисление норэдреналина, дофамина и других производных катехоламинов с образованием супероксид-радикалов, которые повреждают мембраны, что приводит к набуханию аксонов.

Выводы. Точное знание нейротоксического побочного действия лекарств может помочь предотвратить подобные осложнения в будущем.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ МЕЛАНОМЫ К L-АСПАРАГИНАЗЕ И ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА АСПАРАГИНСИНТЕТАЗЫ

Кисляк И.А.^{1,2}, Покровский В.С.^{1,2}

¹ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства образования и науки РФ, Москва

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения РФ, Москва

Введение. Онкологические заболевания занимают 2-е место среди причин смертности населения. Важным представителем химиотерапевтических средств является L-аспарагиназа, успешно применяемая при лечении многих лейкозов, однако при терапии некоторых других опухолей эффективность которой оказывается низкой. В связи с этим целесообразно выявить маркёры, по которым можно прогнозировать эффективность будущего лечения, особенно таких агрессивных опухолей, как меланома.

Цель исследования. Определить возможную связь между чувствительностью клеточных линий меланомы к L-аспарагиназе и уровнем экспрессии генов аспарагинсинтетазы (ASNS) и глутаминсинтетазы (GLUL).

Материалы и методы. Исследования проводили на шести клеточных линиях меланомы: SK-Mel-28, Mel P, Mel Z, Mel IL, Mel Kor, Mel CherK. Клетки пассировали в культуральных флаконах в средах RPMI и DMEM. Цитотоксичность L-аспарагиназы оценивали с помощью МТТ-теста. Уровни экспрессии генов ASNS и GLUL определяли с помощью ПЦР с обратной транскрипцией. Значения генной экспрессии выражали как отношение к средней экспрессии трёх контрольных генов: генов GAPDH, 18S рРНК и В-актина.

Результаты. Более высокие уровни экспрессии гена ASNS (в диапазоне значений 5,26-7,38) соответствуют меньшей чувствительности клеток меланомы к L-аспарагиназе (диапазон IC_{50} 87-95 МЕ/мл), в то время как низкие уровни экспрессии гена ASNS (диапазон 0,75-4,1) соответствуют большей чувствительности (диапазон IC_{50} 13-18 МЕ/мл). Для уровня экспрессии GLUL подобная зависимость не выявлена.

Выводы. Установлена взаимосвязь уровня экспрессии гена аспарагинсинтетазы и чув-

ствительности клеток меланомы к L-аспарагиназе. Определение экспрессии гена ASNS в перспективе может использоваться для оценки эффективности применения препаратов L-аспарагиназы.

Исследование выполнено при поддержке государственной программы Министерства науки и высшего образования России, государственное задание №075-01551-23-00 (ФССП-2023-0006).

ИЗМЕНЕНИЕ МАРКЕРОВ АПОПТОТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ФРАКЦИИ ПЕРВИЧНОГО ОПУХОЛЕВОГО УЗЛА МЕЛАНОМЫ В16 ПРИ ВВЕДЕНИИ ГИБРИДНЫХ ОЛОВООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Мозалёва А.С., Гюльмамедов Д.Н., Алашева М.М.Х., Казимагомедова Э.Ш.

Ростов-на-Дону

Введение. Постоянно растет число соединений, находящихся на этапе доклинических исследований, для которых патогенетический механизм реализации фармакологической активности через влияние на метаболизм митохондрий рассматривается как один из ведущих. Особый интерес в качестве кандидатов в противоопухолевые лекарственные средства представляют гибридные оловоорганические соединения (ГОС-Sn (IV)). Их про/антиоксидантная активность и влияние на апоптотический потенциал митохондрий дозозависимы [1].

Материалы и методы. Исследование проводилось на мышах [самках] C57BL/6 с меланомой В16 (подкожная трансплантация). Тестируемые (ГОС-Sn (IV)): бис-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)тиолат диметиллолова (Me-3) и (3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)тиолат трифениллолова (Me-5). Введение осуществляли в классическом (пятикратно) и метрономном (десятикратно) режиме в суммарной дозе 375 мг/кг (Me-3) и 250 мг/кг (Me-5) [2].

Результаты. При анализе изменений молекулярных маркеров апоптотических процессов в митохондриальной фракции первичного опухолевого узла меланомы В16 через 18 сут после перевивки опухолевых клеток выявлены следующие изменения. Интенсивное повреждение мембран митохондрий происходит при классическом режиме введения ГОС-Sn (IV), более выраженное при введении Me-5, что сопровождается статистически значимым повышением маркеров повреждения липидов (цитохрома С), ДНК (8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин) [3]. При метрономном режиме введения уровни 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина и цитохрома С не имеют статистически значимых различий с уровнем в группе сравнения, что позво-

ляет предположить отсутствие выраженного цитотоксического повреждения митохондрий, и этот механизм не может быть ведущим в реализации противоопухолевой и антиметастатической активности в метрономном режиме введения ГОС-Sn (IV). Полученные данные могут позволить в перспективе разработать стратегию снижения токсического побочного действия, в том числе и кардиотоксического.

Вывод. Реализация патогенетического механизма ГОС-Sn (IV) зависит не только от структуры тестируемых соединений и вводимой дозы, но и от режима их введения.

Литература

1. Dodokhova M.A. et al. Research Results in Pharmacology. 2022. Т. 8. № 1. С. 85–94.
2. Додохова М.А. и др. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2021. Т. 84. № 8. С. 32–35.
3. Додохова М.А. и др. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2021. Т. 24. № 11. С. 28–33.

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНЫХ ОБЩИХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ МИШЕНЕЙ ТАКСАНОВ И ИНГИБИТОРОВ ГМГ-КОА-РЕДУКТАЗЫ

Мухина И.Г.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России, Новосибирск

Онкологические заболевания и атеросклероз часто бывают сопутствующими патологиями. Ряд доклинических исследований показывает, что оба заболевания могут быть вызваны схожими процессами. Препаратами выбора при терапии атеросклероза являются ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы (статины). Таксаны представляют собой цитотоксические препараты с довольно широким спектром терапевтического применения, обычно используемые для лечения солидных опухолей. Выявление общих потенциальных мишеней данных групп препаратов может служить базой для детального изучения их лекарственного взаимодействия.

Нацеленность на терапевтические мишени изучалась для ряда статинов (аторвастатин, ловастатин, правастатин, розувастатин, симвастатин, питавастатин и флувастатин) и для препаратов из группы таксанов (паклитаксел, доцетаксел и кабазитаксел).

Структурные формулы в формате 2D были выгружены с помощью ресурса PubChem и с помощью программного модуля Marvin JS были преобразованы в формат SMILES. Расчет выбранных показателей производился с использованием портала биоинформатических ресурсов ExPASy Швейцарского института биоинформатики (SIB). С помощью инструмента SwissTargetPrediction была определена вероятность, с которой данный препарат может быть нацелен на определенную мишень. Наиболее часто встречающимися общими мишенями для всех статинов являются ГМГ-КоА-редуктаза (средняя вероятность 0,998); рецептор нейрокинина-2 [0,710]; транспортер норэпинефрина [0,705]; транспортер дофамина [0,705] и гистондеацетилаза 6 [0,220]. Для таксанов — рецептор нейрокинина-2 [0,925] и цитохром P450 3A4 [0,671].

Таким образом, выявлена одна общая мишень для исследуемых препаратов, характеризу-

ющаяся высокой степенью вероятности — рецептор нейрокинина-2 (NK-2). Рецепторы NK-2 находятся в гладких мышцах дыхательной, желудочно-кишечной и мочеполовой систем и оказывают мощный спазмогенный эффект. Поиск терапевтических агентов-антагонистов рецепторов NK-2 имеет большое значение при различных болезненных состояниях, где повышенная моторика является преобладающим симптомом.

Таким образом, полученные результаты могут служить поводом для изучения межлекарственных взаимодействий статинов и таксанов, в частности механизмов взаимодействия с их мишенями (конкурирующее или синергетическое действие, ингибирующее или индуцирующее и т.д.). Дальнейшее изучение возможных связей с NK-2 открывает путь к управлению рядом нежелательных лекарственных реакций, сопровождающих терапию гепатотоксическими и цитотоксическими препаратами.

ИЗУЧЕНИЕ МЕМБРАННОЙ АКТИВНОСТИ ПОРООБРАЗУЮЩЕГО ТОКСИНА HCT-S3 МОРСКОЙ АНЕМОНЫ *HETERACTIS MAGNIFICA*

Павленко А.П.¹, Ефимова С.С.², Кветкина А.Н.¹, Лейченко Е.В.¹, Остроумова О.С.²

¹ФГБУН «Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова» ДВО РАН, Владивосток

²ФГБУН «Институт цитологии» РАН, Санкт-Петербург

Морские анемоны — животные типа Стрекающие, в сложную смесь ядовитого секрета которых входят цитолитические полипептиды — актинопорины. Они формируют поры в клеточных мембранах, содержащих сфингомиелин, что приводит к гибели клеток. Связывание с мембранами в основном осуществляется за счет фосфохолин-связывающего сайта, способного распознавать как фосфатидилхолин (ФХ), так и сфингомиелин (СМ), однако актинопорины распознают СМ более специфично, чем ФХ. Повышенное содержание СМ наблюдается в мембранах некоторых опухолевых клеток, поэтому изучение механизма взаимодействия актинопоринов с мембранами различного состава является актуальной задачей. Ранее было показано, что актинопорин Hct-S3 морской анемоны *Heteractis magnifica* (ранее *H. crispa*) обладает цитотоксической активностью в отношении различных опухолевых клеточных линий. Кроме того, в нетоксичных концентрациях Hct-S3 практически полностью подавляет миграцию клеток аденокарциномы кишечника HT-29, что делает его перспективным противоопухолевым соединением.

В работе исследована способность актинопорина Hct-S3 формировать ионные каналы в плоских липидных мембранах, сформированных из эквимольной смеси фосфолипид:сфингомиелин:холестерин. Среди фосфолипидов протестированы нейтральные (диолеилфосфатидилхолин (ДОФХ) и диолеилфосфатидилэтаноламин (ДОФЭ)) и отрицательно заряженные (диолеилфосфатидилсерин (ДОФС) и диолеилфосфатидилглицерин (ДОФГ)) липиды.

Обнаружено, что Hct-S3 формирует ион-проницаемые поры в липидных мембранах различного состава, и минимальная концентрация, при которой наблюдается эта активность, увеличивается в ряду: ДОФХ $\approx$ ДОФЭ (около 4 нг/мл) $\leq$ ДОФС (около 7 нг/мл) $\ll$ ДОФГ (около 55 нг/мл). Рост концентрации

Hct-S3 вызывает дозозависимое увеличение актинопорин-индуцированного тока, что позволило установить, что четыре молекулы Hct-S3 участвуют в образовании пор в бислоях независимо от их фосфолипидной составляющей.

Полученные результаты позволяют заключить, что фосфолипидная составляющая мембраны не сказывается на процессе порообразования Hct-S3. Можно думать, что при наличии в составе бислоя СМ и холестерина образуются упорядоченные домены, которые и играют решающую роль в способности Hct-S3 формировать пору.

ВЛИЯНИЕ РАСТВОРОВ БАКТЕРИЦИДНЫХ ВЕЩЕСТВ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В СЛЮНЕ КРЫС

Прудникова В.Н., Копылова С.В.

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Институт биологии и биомедицины, Нижний Новгород

Актуальность проблемы воспалительных заболеваний пародонта обусловлена значительной распространенностью поражений слизистой оболочки полости рта среди населения. Важной задачей современной стоматологии является проведение профилактических процедур для предотвращения заболеваний пародонта, в том числе применение бактерицидных ополаскивателей для полости рта.

Исследования были проведены на 30 беспородных крысах-самцах, содержащихся в условиях вивария, с соблюдением принципов гуманного обращения с животными. Крысы были разделены на группы: интактная — животные, которым не проводили обработку ротовой полости; контрольная — животные, которым проводили обработку ротовой полости бактерицидным средством для стоматологической практики (Республики Сербия); опытная — животные, которым проводили обработку ротовой полости средством российского производства. Для исследования собирали смывы ротовой полости на 14-е и 21-е сутки после начала профилактики. О состоянии перекисного окисления липидов (ПОЛ) судили по концентрации малонового диальдегида (МДА).

Спустя 14 суток уровень МДА в смывах из ротовой полости в опытной группе снизился на 5% ($p > 0,1$) относительно интактной группы. В контрольной группе количество МДА в смывах выросло на 26% по сравнению с интактной группой ($p < 0,05$). Спустя 21 сутки содержание МДА в смывах опытной группы крыс снизилось по сравнению с интактными на 33% ($p < 0,05$), а в контрольной на 37% ($p < 0,05$). Сравнивая данные на 14-е и 21-е сутки, можно сказать, что в опытной группе крыс на 21-е сутки среднее значение составило $0,80 \pm 0,13$ усл.ед., что на 30% меньше, чем на 14-е сутки ($1,13 \pm 0,23$) ($p < 0,05$). В контрольной группе это различие составило 50% ($p < 0,05$).

ПОЛ является чувствительным показателем воспалительно-дегенеративных процессов пародонта. Развитие даже незначительного воспалительного процесса в ротовой полости (что может происходить и у условно здоровых животных) приводит к усилению ПОЛ и накоплению МДА в слюне. При системном ополаскивании полости рта растворами бактерицидных веществ происходило снижение активности ПОЛ и, как следствие, повышение антиоксидантной активности слюны. Наиболее выраженный терапевтический эффект исследуемые растворы оказали к 21-м суткам с начала эксперимента, поэтому можно сказать об их накопительном эффекте.

Можно сделать вывод, что бактерицидные растворы постепенно приводили к изменениям гомеостаза буккальных эпителиоцитов на клеточном уровне: активной пролиферации клеток эпителия и улучшению работы антиоксидантной системы.

ХАРПИНОПОДОБНЫЕ ПЕПТИДЫ РАСТЕНИЙ — НОВЫЕ ИНГИБИТОРЫ ТРАНСЛЯЦИИ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Рогожин Е.А.¹, Усачев К.С.²

¹ФГБУН ГНЦ РФ «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

²ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Казанский Научный Центр» РАН, Казань

Хорошо известно, что многие растения являются богатыми источниками биологически активных соединений с разнообразными фармакологическими свойствами. При этом отдельную нишу занимают защитные полипептиды — молекулярные «инструменты» врожденного иммунитета растений к комплексу стрессовых факторов окружающей среды. Структурное семейство харпиноподобных пептидов (альфа-харпининов) растений включает в себя молекулы, имеющие универсальный тип пространственной укладки полипептидной цепи (две антипараллельные альфа-спирали, соединенные бета-шпилькой), при этом они характеризуются низким уровнем гомологии на уровне первичных структур. Данным пептидам свойственны разнообразные способы молекулярного действия по отношению к патогенным микроорганизмам-мишеням, которое состоит в проявлении статического типа активности (бактериостатического, фунгистатического). Характерно, что данные эффекты проявляются посредством интернализации этих молекул во внутриклеточное пространство без повреждения цитоплазматической мембраны клеток.

Цель настоящей работы заключалась в оценке способности выборки альфа-харпининов из различных растений к ингибированию биосинтеза белка в бесклеточной системе *Staphylococcus aureus*.

Было установлено, что исследуемые пептиды обладали способностью к концентрационно-зависимому подавлению функционирования аппарата трансляции при 5–50 мкМ. Полученный результат открывает возможности для дальнейшего исследования тонких молекулярных механизмов активности биологически активных пептидов растений, в том числе с точки зрения возможных перспектив их рассмотрения как сопутствующих

компонентов при комплексной антимикробной терапии человека.

Источники финансирования. Грант РНФ № 23-44-10021.

БИОЭНЕРГЕТИКА РАКОВОЙ КЛЕТКИ — МИШЕНЬ ДЛЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА — ДОНОРОВ NO

Саратовских Е.А.¹, Санина Н.А.^{1,2,3}

¹ФГБУН Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии РАН, Черноголовка

²ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Факультет фундаментальной физико-химической инженерии, Москва

³ФГАОУ ВО «Государственный университет просвещения», НОЦ «Медицинская химия», Москва

В ФИЦ ПХФ и МХ РАН активно ведется дизайн нитрозильных комплексов железа (НКЖ) с различными функциональными лигандами — эффективных доноров NO, проявляющих значимые антималярийные и противоопухолевые эффекты [1]. Устанавливаются механизмы их противоопухолевого действия. В частности, исследуется влияние НКЖ на макроэнергетические биомолекулы АТФ и ФЕП. Производство энергии в раковой клетке осуществляется исключительно в процессе гликолиза. Онко-клетки переключают производство энергии на себя, что обуславливает бесконечный рост числа пораженных клеток и блокирование их апоптоза. Задача потенциальных противоопухолевых лекарственных препаратов — прекратить этот неконтролируемый рост.

В настоящей работе исследовали реакции биядерных НКЖ с АТФ и ФЕП с использованием широкого спектра физико-химических методов: спектроскопии (УФ-, ИК, ЯМР, ЯГР), спектрофлуориметрии, масс-спектрометрии. Установлено взаимодействие НКЖ с АТФ и ФЕП. В ходе реакций происходит распад биядерного $[2\text{Fe}-2\text{S}]$ центра. Образующиеся соединения не содержат NO. Продукт реакции НКЖ с ФЕП имеет центральный атом Fe(III) и исходный лиганд; за счет карбоксила присоединен остаток ФЕП [2, 3]. В продукте реакции НКЖ с АТФ комплекс теряет исходный лиганд; Fe(III) образует комплексное соединение с аденином [4–9].

На основании полученных данных можно предположить, что в противоопухолевой эффект, проявляемый исследуемыми НКЖ, вносят свой вклад реакции взаимодействия с гликолитическими макроэргами АТФ и ФЕП.

нитрозильные комплексы железа — новый класс доноров монооксида азота для лечения социально значимых заболеваний. М. 2015.

2. Занина А. и др. Известия АН. Сер. хим. 2017. 66, 5, 927.
3. Саратовских Е. и др. Хим. физика. 2020. 39, 1, 39.
4. Saratovskikh E. et al. Eur.Sci.Tech.: Bild., Wiesbaden. 2012. II, 121.
5. Саратовских Е. и др. Известия РАН. Сер. хим. 2011, 6, 1151.
6. Психа Б. и др. Известия РАН. Сер. хим. 2012, 9, 1794.
7. Saratovskikh E. et al. Natural Sci. 2013. 5, 7, 800.
8. Saratovskikh E. et al. J. Organomet. Chem. 2020. 922, 121356
9. Psikha B. et al. Inorg. Chim. Act

Источники финансирования. Работа выполнена по теме № FFSG-2024-0012 Гос. задания.

Литература

1. Алдошин С., Санина Н. Функциональные

ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СЕКРЕТОРНОЙ ФОСФОЛИПАЗЫ A2 ЯДА ЗМЕЙ СЕМЕЙСТВА ГАДЮКОВЫХ (*VIPERIDAE*) НА МОДЕЛИ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ HELa И ECV304

Соловьева М.А., Шемчук О.С., Галкин М.А., Васина Л.В.

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Цель. Определить вклад секреторной ФЛА2 в цитотоксический эффект цельного яда змей семейства гадюковых с использованием ингибитора Varespladib на клеточных линиях HeLa и ECV304.

Материалы и методы. Использовали лиофилизированные яды *V. nikolskii*, *V. renardi*, *G. blomhoffii* и *G. halys*. Яды были предоставлены ООО «Сибирский серпентарий». Применяли ингибитор ФЛА2 Varespladib (Sigma-Aldrich, USA). Модельными системами были выбраны клеточные линии HeLa и ECV304. Для оценки вклада секреторной ФЛА2 в цитотоксический эффект цельного яда использовали модифицированный МТТ-тест (во все пробы дополнительно вносили 2 мг/мл эмульсии фосфолипидов (Lecithin, AppliChem, Germany), 2 мг/мл БСА и 2 мМ Ca²⁺). Яды растворяли в PBS до 10 мг/мл. Готовили 2 серии опытных проб для каждого яда: 1 — яд при конечной концентрации 0,625, 1,25, 2,5 и 10 мкг/мл, 2 — смесь яда с ингибитором в соотношении 1/100 при таких же концентрациях. Измеряли оптическую плотность на планшетном спектрофотометре BioRadMarx (Bio-Rad Laboratories, США).

Результаты. По отношению к клеткам HeLa дозозависимый цитотоксический эффект демонстрировал яд *G. blomhoffii* (IC₅₀=2,7 мкг/мл). Для *V. renardi* и *G. halys* цитотоксический эффект не зависел от дозы и был наиболее выраженным при концентрации 10 мкг/мл. В исследуемом диапазоне концентраций наименьшую цитотоксичность проявлял яд *V. nikolskii*. Результаты стандартного МТТ-теста показали, что доля выживших клеток HeLa в присутствии ингибитора по сравнению с пробами с ядом увеличивалась только для *V. nikolskii* при концентрациях 2,5 и 10 мкг/мл ($p < 0,05$). При модификации МТТ-теста доля выживших клеток в пробах с ингибитором по сравнению с пробами с ядом увели-

чивалась при всех изученных концентрациях для всех ядов, кроме *G. blomhoffii* ($p < 0,05$). По отношению к клеткам ECV304 яды *G. blomhoffii*, *V. renardi* и *G. halys* демонстрировали сопоставимые цитотоксические свойства с клетками HeLa. Яд *V. nikolskii* проявлял парадоксальный эффект: стимулировал пролиферацию эндотелиоцитов, наиболее выраженную в присутствии ингибитора. При модификации МТТ-теста этот эффект яда *V. nikolskii* исчезал и повышалась его цитотоксичность по сравнению с результатами стандартного МТТ-теста. Доля выживших клеток ECV304 в пробах с ингибитором по сравнению с пробами с ядом увеличивалась для всех ядов при концентрации 2,5 мкг/мл ($p < 0,05$).

Выводы. Предложен методический подход, позволяющий оценить вклад секреторной ФЛА2 в общую цитотоксичность цельного яда змей в отношении различных клеточных линий.

ВЛИЯНИЕ ИНГАЛЯЦИОННОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ МАТОЧНОГО МОЛОЧКА И ПРОПОЛИСА НА СОСТАВ ФОСФОЛИПИДОВ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ МЕМБРАН КРЫС ПРИ ОТЕКЕ ЛЕГКИХ

Старателева Ю.А., Копылова С.В.

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород

Все большее значение приобретает необходимость использования природных соединений с целью оптимизации лечения при ряде патологий, в том числе заболеваний дыхательной системы. Особое место среди таких соединений занимают пчелопродукты, оказывающие широкий спектр действия на организм.

Цель работы: исследование действия препарата на основе маточного молочка и прополиса на фосфолипидный спектр эритроцитарных мембран крыс при отеке легких.

Исследования проводились на 30 белых беспородных крысах, самцах, массой тела 150–180 г, которые были разделены на 3 группы. К интактной группе относились здоровые животные. Крысам контрольной группы моделировали адреналиновый отек легких. Для этого животным внутривенно вводили адреналин в дозе 0,5 мг/кг. Животным опытной группы моделировали отек легких, а затем в течение 10 дней по 10 мин их ингалировали препаратом, представляющим собой водноспиртовую суспензию пчелиного маточного молочка и прополиса. Липидный спектр эритроцитов определяли методом одномерной тонкослойной хроматографии.

Были выявлены фракции фосфолипидов (ФЛ): лизофосфатидилхолин (ЛФХ), сфингомиелин (СМ), фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилсерин (ФС), фосфатидилэтаноламин (ФЭА). Анализ липидного спектра эритроцитарных мембран крыс при отеке легких выявил нарушение соотношений между деструктивными и мембраностабилизирующими фракциями в сторону снижения последних. Регистрировалось повышение уровня ЛФХ более чем в 3 раза, ФС — в 2 раза по сравнению с интактными животными. Выявлено уменьшение количества фракций ФХ, СМ и ФЭА на 16,8%, 22,6% и 18,8% соответственно.

После ингаляции препаратом на основе маточного молочка и прополиса наблюдалось снижение наиболее цитотоксичной фракции ФЛ — ЛФХ — в 1,6 раза относительно контрольной группы. Регистрировалось повышение уровня ФЭА на 15,2% по сравнению с контрольной группой, что отражает стабилизирующее действие на мембраны клеток биологически активных компонентов прополиса и маточного молочка. На улучшение функционального состояния эритроцитарных мембран указывают изменения и других фракций ФЛ: повышение уровней СМ почти на 16 % и ФХ на 11 %, уменьшение количества ФС в 1,7 раза относительно контрольной группы.

Таким образом, ингаляция крыс препаратом на основе маточного молочка и прополиса при отеке легких способствовала модификации структуры эритроцитарных мембран в сторону оптимального состава фосфолипидного спектра, что является необходимым условием нормального функционирования клетки.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ 3D-СИСТЕМ НА ОСНОВЕ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ МЕТАБОЛИТОВ СИНТЕТИЧЕСКИХ АНАБОЛИЧЕСКИХ СТЕРОИДОВ

Сяхович В.Э., Даниленко О.В., Бабарико Д.В., Бакакина Ю.С., Походня Ю.Г.

Учреждение здравоохранения «Национальная антидопинговая лаборатория», Минск, Республика Беларусь

Введение. Одна из наиболее значимых проблем допинг-контроля — применение спортсменами анаболических андрогенных стероидов (ААС). Главной особенностью подхода к анализу проб спортсменов на присутствие ААС является необходимость детекции продуктов I или II фаз метаболизма стероидов. В связи с этим исследование путей их метаболизма, а также получение стандартных и рефересных образцов метаболитов ААС становится неотъемлемой частью разработки методов детекции.

Цель исследования. Изучить возможность получения метаболитов ААС в 3D-клеточных системах на основе клеток печени человека *in vitro*.

Материалы и методы. В работе были использованы гетероклеточные сфероиды, сформированные в системе ротационного культивирования RCCS-1 (Synthecon, США), а также 3D-системы на базе синтетических PGA и PCL матриц (Synthecon, США), на основе культур гепатоцитов человека HepG2 и Huh 7. Для оценки жизнеспособности клеток использовали методы световой и флуоресцентной микроскопии. Оценка метаболической активности моделей осуществлялась по отношению к тестостерону, метандиенону и оралтуриноболу. Анализ образцов проводили методом хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения на жидкостном хроматографе Dionex Ultimate 3000 с масс-спектрометрическим детектором высокого разрешения Q Exactive Plus (Thermo Scientific, США).

Результаты. В работе апробировано два варианта использования сфероидов для получения метаболитов ААС: в системе ротационного культивирования и с переносом готовых сфероидов в планшеты для неадгезивных культур. Показано, что система ротационного культивирования позволяет как

сформировать сфероиды, так и поддерживать их в состоянии, позволяющем эффективно нарабатывать широкий спектр метаболитов второй фазы. Использование сфероидов в ротационной системе культивирования, а также использование 3D матриц позволило получить метаболиты тестостерона, метандиенона и оралтуринобола I и II фаз биотрансформации, включая глюкуронидные и сульфатные конъюгаты.

Закключение. В настоящей работе сформированы подходы к получению широкого спектра метаболитов ААС I и II фаз в 3D-системах на основе культур гепатоцитов человека HepG2 и Huh 7.

Ключевые слова: анаболические андрогенные стероиды, сфероиды, синтетические матрицы, хромато-масс-спектрометрия, допинг-контроль.

Источники финансирования: Государственная программа «Физическая культура и спорт» на 2021–2025 гг., Республика Беларусь.

ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ПРОИЗВОДНОГО БЕНЗИМИДАЗОЛА ОКАЗЫВАЕТ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ ДЕЙСТВИЕ В ОТНОШЕНИИ ОПУХОЛЕЙ ЛЕГКОГО ЗА СЧЕТ УСИЛЕНИЯ АПОПТОЗА

Шевченко Н.А.¹, Комарова Е.Ф.^{1,2}, Вереникина Е.В.¹, Арапова Ю.Ю.²

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону

²ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону

Цель исследования — оценка влияния производного бензимидазола дигидробромид-2-(3,4-дигидроксифенил)-9-диэтиламино-этилимидазо-[1,2-а] бензимидазола (РУ-185) на рост эпидермоидной карциномы легкого Льюиса (LLC) и ксенографтов аденокарциномы легкого человека и оценка возможных механизмов ее действия.

Материалы и методы. Для эксперимента использовали самок линии C57Bl/6j с подкожно привитой LLC и линии Balb/c Nude с гетеротопическими ксенографтами аденокарциномы легкого A549 (CDX) и опухолевого материала пациента (PDX). РУ-185 вводили внутривенно ежедневно 1 раз в течение 10 дней в 3 разовых дозах, рассчитанных с учетом ЛД₅₀. Контрольными группами были мыши соответствующих линий, которым в аналогичных дозировках вводили физиологический раствор. Оценивали стандартные показатели противоопухолевой активности: объемы и показатель торможения опухоли (ТРО), продолжительность жизни (Т/С). Методом иммуногистохимии исследовали PDX с использованием антител к Ki-67, b-катенину, Bcl-2, P53.

Результаты. Применение РУ-185 у мышей с LLC показало наибольший противоопухолевый эффект в дозе 220 мг/кг: объемы опухолей были в 2,3 раза меньше, чем в контрольной группе ($p < 0,05$), полная регрессия опухолей LLC показана у 20% животных, индекс Т/С составил 162,3%. Для ксеногенных опухолей наиболее эффективной оказалась доза РУ-185 284,5 мг/кг: Т/С составил 162,4% (для CDX) и 169,2% (для PDX), ТРО — 77,8% и 74,5% соответственно ($p < 0,05$), а объемы опухолей были меньше в 4,5 и 3,8 раза соответственно, чем в контроле ($p < 0,05$). ИГХ исследование выявило, что с повышением дозы

РУ-185 происходит снижение экспрессии Ki-67, b-катенина и антиапоптотического белка Bcl-2 при нарастании доли окрашенных клеток на белок P53. Для наиболее эффективной дозы РУ-185 доля иммунопозитивных клеток Ki-67 составила 53,1% против 68,1% в контроле ($p < 0,01$), b-катенина — 9,2% против 34,2% в контроле ($p < 0,05$), Bcl-2 — 49,9% против 60,1% в контроле ($p < 0,05$) и P53 — 47,9% против 31,1% в контроле ($p < 0,01$).

Выводы. Исследованная химическая субстанция дигидробромид-2-(3,4-дигидроксифенил)-9-диэтиламино-этилимидазо-[1,2-а] бензимидазола при внутривенном введении продемонстрировала противоопухолевую эффективность в отношении эпидермоидной карциномы легкого Льюиса и аденокарциномы легкого, возможно, за счет усиления процесса апоптоза.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПРОДУКТОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ 3-(2-БУТИЛ-5-ХЛОРО-1Н-ИМИДАЗОЛ-4-ИЛ)-N-[4-МЕТОКСИ-3-(ТРИФТОРМЕТИЛ)ФЕНИЛ]-4,5-ДИГИДРО-1,2-ОКСАЗОЛ-5-КАРБОКСАМИДА

Яичков И.И., Алексеев М.А., Вольхин Н.Н., Петухов С.С.

ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ярославль
ФГБОУ ВО «Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского», Ярославль

3-(2-бутил-5-хлоро-1Н-имидазол-4-ил)-N-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамид (R004) является новым фармакологически активным соединением для терапии ревматоидного артрита; процесс биотрансформации этого вещества ранее не изучался.

Исследование проводилось на 6 крысах линии Wistar и 6 кроликах породы Советская шиншилла. Субстанцию R004 вводили животным внутривенно в дозировке 50 мг/кг. Образцы крови отбирались до введения и через 0,5; 1; 2; 4 и 24 ч после введения и немедленно центрифугировались для получения плазмы. У крыс с помощью метаболитических клеток параллельно отбиралась моча (до введения и в промежутки 0–2; 2–4; 4–6 и 6–24 ч после введения препарата) и фекалии (до введения и в промежутки 0–12 и 12–24 ч после введения препарата). Пробы плазмы и мочи после отбора немедленно стабилизировались 250мМ раствором ацетата аммония (pH=4,0) для предотвращения гидролиза R004, а фекалии гомогенизировались с применением ацетонитрила (1:1, об./об.). Дальнейшую подготовку проб осуществляли путём добавления к образцам ацетонитрила. Идентификацию метаболитов проводили методом ВЭЖХ-МС/МС по прогнозируемым MRM-переходам.

В результате анализа в пробах плазмы крыс и кроликов, мочи и фекалий крыс обнаружены продукты ферментативного гидролиза R004 — 3-(2-бутил-5-хлоро-1Н-имидазол-4-ил)-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоновая кислота (M1) и 4-метокси-3-(трифторметил)анилин (M2). Структура данных метаболитов была подтверждена путем сравнения времен удерживания, соотношения площадей хроматографических пиков на наиболее интенсивных MRM-переходах

и масс-спектров в образцах животных с образцами с добавкой синтезированных субстанций M1 и M2. Так, времена удерживания M1 и M2 в испытуемых и стандартных образцах отличались не более, чем на 0,21%, соотношения площадей хроматографических пиков на наиболее интенсивных MRM-переходах — не более, чем на 3,33%, а масс-спектры совпадали на 87–98%.

Таким образом, R004 метаболизируется путём гидролиза с образованием 3-(2-бутил-5-хлоро-1Н-имидазол-4-ил)-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоновой кислоты и 4-метокси-3-(трифторметил)анилина. В дальнейшем планируется оценить фармакологическую активность данных соединений, а также определить их фармакокинетические параметры в рамках полного фармакокинетического исследования.

Источники финансирования: Государственное задание Министерства здравоохранения Российской Федерации (1022051600008-9-3.1.5;3.2.22).

ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНА МАЛОЙ ГТФ-АЗЫ RAC1 КАК ДЕТЕРМИНАНТЫ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К САХАРНОМУ ДИАБЕТУ 2-ГО ТИПА И КОМОРБИДНОЙ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИИ

Азарова Ю.Э., Клёсова Е.Ю., Полоников А.В.

ФГБОУ ВО Курский государственный медицинский университет Минздрава России Курск

Актуальность. Сахарный диабет 2-го типа (СД2) является вторым по распространенности (после ожирения) эндокринологическим заболеванием, поражающим более 400 млн человек в мире. Диабетическая гипергликемия активирует опасный метаболический путь, вовлекающий НАДФН-оксидазу с субъединицами RAC1 и RAC2, кульминацией которого является избыточная продукция активных форм кислорода.

Цель исследования — изучение ассоциаций шести однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) гена малой ГТФ-азы RAC1 с риском развития СД2 и коморбидных сердечно-сосудистых заболеваний.

Материалы и методы. В исследование было включено 1579 пациентов с СД2 (591 мужчина и 988 женщин, средний возраст $61,3 \pm 10,4$ года), 1627 условно здоровых добровольцев (601 мужчина и 1026 женщин, средний возраст $60,8 \pm 6,4$ года) составили группу контроля. Генотипирование полиморфизмов RAC1 проводили с использованием технологии iPLEX на геномном времяпролетном масс-спектрометре MassARRAY Analyzer 4 (Agena Bioscience).

Результаты. Полиморфизм rs7784465 гена RAC1 показал выраженную ассоциацию с риском развития СД2: генотип rs7784465-T/C (OR=1,44, 95% CI 1,21–1,72, P=0,0001) и аллель rs7784465-C (OR=1,30, 95% CI 1,14–1,48, P<0,0001) ассоциировались с повышенным риском развития СД2 независимо от пола, возраста и ИМТ пациентов. В то же время генотип rs10951982-A/A RAC1 (OR=0,63, 95% CI 0,44–0,90, P=0,036) обладал протективным эффектом в отношении риска развития заболевания. Анализ частот гаплотипов RAC1 установил ассоциации двух гаплотипов с повышенным риском развития СД2. Таковыми были гаплотипы H3: ACGATG (OR=1,16, 95% CI 1,01–1,34, P=0,045, Q=0,12) и H7: GTAA CA (OR=1,71, 95% CI

1,11–2,63, P=0,015, Q=0,06), порядок аллелей в которых соответствует SNPs rs4724800-rs7784465-rs10951982-rs10238136-rs836478-rs9374.

Анализ ассоциаций изучаемых SNPs с различными клиническими формами ИБС показал, что носительство генотипа rs10238136-A/T RAC1 более чем в два раза повышало риск развития инфаркта миокарда (OR=2,21, 95% CI 1,17–4,14, P=0,002). При этом гаплотип H7 RAC1, несущий минорный аллель rs10238136-T, также ассоциировался с повышенным риском развития инфаркта миокарда у пациентов с СД2 (OR=2,40, 95% CI 1,18–4,92, P=0,016). Генотип rs10951982-G/A RAC1 ассоциировался с повышенным риском мозгового инсульта: OR=1,64, 95% CI 1,13–2,39, P=0,03.

Выводы. Однонуклеотидные варианты гена малой ГТФ-азы RAC1 могут рассматриваться в качестве молекулярно-генетических детерминант СД2 и коморбидной сердечно-сосудистой патологии.

Источники финансирования. Российский научный фонд: проект №20-15-00227.

ЛАКТАТ СТЕКЛОВИДНОГО ТЕЛА ГЛАЗА — МАРКЕР ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКОЙ КОМЫ

Акимов П.А.^{1,2}, Терехина Н.А.¹

¹ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А Вагнера» Минздрава России, Пермь

²ГБУЗ Пермского края «Краевое бюро судебно-медицинской экспертизы и патолого-анатомических исследований», Пермь

Постмортальная биохимия связана с изучением метаболических процессов в мертвом теле, выявлением маркеров танатогенеза. В постмортальном периоде диагностика гипогликемии невозможна в связи с быстрой утилизацией глюкозы крови. Известен способ постмортальной диагностики гипогликемической комы, не зависящий от длительности постмортального периода по содержанию лактата в крови. Содержание лактата в трупной крови в 20–30 раз выше, чем у живых людей. Резкое повышение концентрации лактата связано с усилением гликолиза, протекающего в агональном периоде. При гипогликемической коме снижение концентрации лактата в крови обусловлено недостатком глюкозы в организме, что является отражением танатогенеза. В судебно-медицинской практике используются для анализа различные биологические жидкости: кровь, моча, желчь, ликвор, перикардальная и синовиальная жидкости, стекловидное тело глаза (СТ).

Цель работы — исследовать содержание лактата в стекловидном теле глаза для постмортальной диагностики гипогликемической комы.

На базе судебно-медицинской лаборатории Пермского краевого бюро судебно-медицинской экспертизы проведен биохимический анализ крови и СТ глаза от 60 трупов людей, скончавшихся в результате гипогликемической комы (осложнение сахарного диабета, хронического алкоголизма, голодания) и 594 трупов с другими причинами смерти (острый инфаркт миокарда, острое отравление этанолом, механическая травма, механическая асфиксия, сахарный диабет), составивших группы сравнения. Наличие глюкозы в СТ глаза в группах сравнения выявлено в половине всех случаев. Содержание лактата в СТ

сильно варьировало. При остром инфаркте миокарда 13,3–41,0 ммоль/л, при остром отравлении этанолом — 10,7–29,5 ммоль/л, механической травме — 13,4–43,1 ммоль/л, механической асфиксии — 8,2–22,3 ммоль/л, сахарном диабете — 9,8–60,2 ммоль/л, при гипергликемической коме — 17,7–48,7 ммоль/л. При гипогликемической коме в половине случаев лактат в СТ глаза не определялся. Наибольшее содержание лактата составило 9,8 ммоль/л у больной с декомпенсированным сахарным диабетом, лактат крови при этом составил 13,1 ммоль/л.

Таким образом, содержание лактата в СТ глаза ниже 10 ммоль/л при отсутствии в нём глюкозы является маркером гипогликемической комы любой этиологии.

ДИНАМИКА МИТОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СПЛЕНОЦИТОВ У КРЫС ПУБЕРТАТНОГО ВОЗРАСТА, ПОДВЕРГАВШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ ЭНДОКРИННОГО ДИСРАПТОРА ДДТ

Гагулаева Б.Б., Обернихин С.С., Яглова Н.В.

ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына, Москва

Селезенка млекопитающих и человека — крупнейшее лимфоидное образование организма. В раннем периоде онтогенеза она является универсальным очагом кроветворения, а по мере развития трансформируется в орган иммунной защиты. В научной литературе имеются данные, что эндокринные дисрапторы — вещества различного происхождения, влияющие на любые этапы синтеза, выделения, транспорта гормонов и их лиганд-рецепторного взаимодействия, способны оказывать также и дисморфогенетическое действие на развитие эндокринных желез и органов иммунной защиты. Широкая распространенность и облигатность воздействия эндокринных дисрапторов, а также способность проникать через плацентарный барьер делают их важной составляющей антропогенного бремени, обуславливающего наблюдаемый рост заболеваемости, в частности дисфункций иммунной системы, приводящих к развитию аллергических и аутоиммунных процессов в организме, ослаблению противомикробной и противоопухолевой защиты.

Целью исследования было оценить динамику митотической активности первичной культуры спленоцитов у крыс пубертатного возраста, подвергавшихся воздействию низких доз самого распространенного на планете эндокринного дисраптора дихлордифенилтрихлорэтана (ДДТ) в пренатальном и постнатальном развитии.

Исследование показало, что при переходе от препубертатного возраста к периоду полового созревания селезенка крыс, подвергавшихся воздействию ДДТ, и контрольной группы не отличается по размерам и массе. Клеточность красной пульпы селезенки также соответствовала контрольным значениям. В препубертатном периоде пролиферация полученной из селезенки первичной куль-

туры спленоцитов была выше контрольных значений на 250%. В периоде полового созревания анатомических особенностей селезенки также не наблюдалось. Количество клеток в красной пульпе превышало значения контроля. Интенсивность деления клеток снижалась как в контрольной, так и в опытной группе. Однако у крыс, подвергавшихся воздействию ДДТ, показатели активности митотических процессов были в два раза ниже, чем в контроле.

Таким образом, динамика митотической активности спленоцитов крыс, подвергавшихся пренатальному и постнатальному воздействию эндокринного дисраптора ДДТ, соответствовала контрольной, но отличалась большими значениями до периода полового созревания и значительным спадом с началом пубертатного периода.

Источники финансирования.: Исследование выполнено по государственному заданию № FGFZ-2022-0035.

ЭКСПРЕССИЯ ЭКЗОСОМАЛЬНЫХ miR-34a И miR-210 ПРИ БЕСПЛОДИИ АССОЦИИРОВАНА С ПАРАМЕТРАМИ ЭЯКУЛЯТА И ФРАГМЕНТАЦИЕЙ ДНК СПЕРМАТОЗОИДОВ

Галимов Ш.Н.¹, Галимова Э.Ф.¹, Громенко И.Д.¹, Громенко Д.Д.¹, Галимов К.Ш.², Гилязова И.Р.¹

¹ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа

²ФГОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

Бесплодием страдают десятки миллионов людей во всем мире. В последние десятилетия наблюдается существенное снижение качества эякулята с уменьшением концентрации и подвижности сперматозоидов. Низкая ценность рутинного анализа спермы ставит задачу по разработке эффективных диагностических инструментов и поиску надежных биомаркеров бесплодия. Одним из наиболее перспективных из них может стать оценка экспрессии микроРНК сперматозоидов.

Цель работы — исследование роли miR-34a и miR-210 сперматозоидов в генезе мужского бесплодия.

В исследование включено 150 мужчин в возрасте 25–49 лет; из них 96 с диагнозом идиопатического бесплодия. Для оценки структуры и подвижности сперматозоидов использовали стандартное исследование эякулята (ВОЗ, 2021) и компьютерный анализ данных с помощью программного обеспечения MMC Sperm. Оценка фрагментации ДНК осуществлялась методом TUNEL. Для анализа экспрессии микроРНК проводили количественную ПЦР в реальном времени с использованием набора miRCURY LNA SYBR Green PCR Kit и системы обнаружения продуктов ПЦР Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия).

Изучение эякулята методом CASA выявило достоверную связь уровня фрагментации ДНК сперматозоидов с показателями скорости их движения: прямолинейного, криволинейного, по среднему пути, а также с амплитудой бокового смещения головки, степенью прямолинейно направленных движений и их прогрессивной подвижностью. При исследовании уровня экспрессии микроРНК в экзосомах спермы установлено статистически значимое снижение miR-34a пула. Сила корреляционной связи между

экспрессией miR-210 и эффективностью ВРТ была выражена умеренно. Обратная зависимость экспрессии miR-34a с результатами ЭКО и ИКСИ была слабой.

Результаты биоинформационного анализа экзосомальных микроРНК-34a и микроРНК-210, участвующих в регуляции сперматогенеза, свидетельствуют о прямой связи их изменений с морфокинетическими показателями гамет, а также с уровнем фрагментации ДНК. Эти данные позволяют говорить о разной степени экспрессии генов у бесплодных и фертильных мужчин, а также у пациентов с успешными и повторными неудачными исходами ВРТ.

Источники финансирования. Исследование выполнено при поддержке РФФ (грант № 23-25-00140).

ИНСУЛИН В МОЗГЕ — НЕЙРОГОРМОН, НЕЙРОПРОТЕКТОР И РЕГУЛЯТОР МЕТАБОЛИЗМА И ГОРМОНАЛЬНОГО СТАТУСА

Деркач К.В., Зорина И.И., Шпаков А.О.

ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» РАН, Санкт-Петербург

Инсулин традиционно считают периферическим гормоном, регулирующим уровень глюкозы в крови, но в последние годы все больший интерес вызывает изучение его механизмов действия и физиологических эффектов в мозге. В эмбриональном периоде у человека и млекопитающих, когда панкреатические инсулин-продуцирующие клетки плода еще не активны, инсулин может синтезироваться в некоторых отделах развивающегося мозга, выполняя функции нейрого르몬а и нейротрофического фактора. В постэмбриональный период и во взрослом возрасте инсулин перестает синтезироваться в мозге и поступает в него с периферии через гематоэнцефалический барьер. Этот транспорт осуществляется как рецептор-опосредуемым путем, так и независимо от инсулиновых рецепторов. Инсулину мозга присущ выраженный нейропротекторный эффект, который заключается в ослаблении апоптотических и воспалительных процессов в нейронах, в снижении продукции активных форм кислорода в мозге, в снижении β-амилоидной и глутаматной токсичности.

Вследствие этого нормализация функций инсулиновой системы мозга — один из путей коррекции нейродегенеративных заболеваний, ишемических и травматических повреждений головного мозга. Для этого могут быть предложены различные подходы. (1) Повышение чувствительности нейронов и глиальных клеток к инсулину с помощью «усилителей» инсулинового сигналинга, и здесь наибольший интерес представляют ингибиторы тирозиновых фосфатаз, повышенная активность которых приводит к инсулиновой резистентности. (2) Подавление активности ферментов, вовлеченных в гидролиз и деградацию инсулина и компонентов инсулинового сигналинга (ингибиторы инсулин-деградирующего фермента, низкомолекулярные шапероны, предотвращающие лизосомальную деградацию инсулинового

рецептора, и др.). (3) Усиление лептинового, дофаминавого и других сигнальных каскадов в мозге, потенцирующих инсулиновый сигналинг, для чего могут быть использованы устойчивые к протеолизу фрагменты лептина и D2-агонист бромокриптин. (4) Повышение уровня инсулина в ЦНС с помощью интраназально вводимого инсулина (ИВИ), что позволяет активировать инсулиновую систему мозга.

Сейчас ИВИ применяют для лечения болезни Альцгеймера и мягкого когнитивного дефицита. Ведутся эксперименты по его применению для нормализации когнитивных функций, метаболизма и гормонального статуса при сахарном диабете 1-го и 2-го типов, ишемии и травмах головного мозга.

Все это указывает на значительный терапевтический потенциал ИВИ и на важность инсулиновой системы мозга, как терапевтической мишени.

Источники финансирования. Работа поддержана Министерством науки и высшего образования России (соглашение № 075-15-2022-296 о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития национального центра мирового уровня «Павловский центр»).

ДОКАЗАТЕЛЬСТВО ТАРГЕТНОСТИ ДЕЙСТВИЯ АЛЛОСТЕРИЧЕСКИХ АНТАГОНИСТОВ РЕЦЕПТОРА ТИРЕОТРОПНОГО ГОРМОНА, ПРОИЗВОДНЫХ ТИЕНОПИРИМИДИНА, НА КОМПОНЕНТЫ ТИРЕОИДНОЙ ОСИ

Деркач К.В., Морина И.Ю., Кузнецова В.С., Романова И.В., Шпаков А.О.

ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» РАН, Санкт-Петербург

Избыточная активация рецептора тиреотропного гормона (ТТГ) в результате активирующих мутаций или воздействия стимулирующих аутоантител может стать причиной аутоиммунного гипертиреоза и рака щитовидной железы (ЩЖ). Имеющиеся фармакологические подходы в этом случае не всегда эффективны и характеризуются множеством побочных эффектов, и потому в качестве альтернативы часто используют операции по удалению ЩЖ. Основным ограничением фармакологических подходов является то, что они не устраняют причину заболевания — гиперактивацию рецептора ТТГ. В связи с этим не прекращаются поиск и разработка препаратов, которые были бы способны подавлять конститутивно повышенную или стимулированную антителами активность рецептора ТТГ. Одним из решений проблемы является создание аллостерических антагонистов на основе низкомолекулярных соединений, которые связываются с трансмембранным аллостерическим сайтом рецептора ТТГ. Кандидатами на роль таких регуляторов являются тиенопиримидиновые производные — ТРУ1 и ТРУ5, которые, как показано нами ранее, снижают продукцию тиреоидных гормонов, стимулированную тиролиберином (TRH). Однако их эффекты на гипоталамические и гипофизарные звенья тиреоидной оси и на морфологию ЩЖ не были изучены.

Целью работы было изучить влияние ТРУ1 и ТРУ5 (в/б, 20 мг/кг) на уровень ТТГ в крови самцов крыс, предварительно обработанных TRH (интраназально, 300 мкг/кг), и на экспрессию гипоталамических генов, вовлеченных в регуляцию тиреоидной оси, а также исследовать морфологию ЩЖ у крыс при 5-дневном введении ТРУ1.

ТРУ1 и ТРУ5 подавляли TRH-стимулирован-

ные синтез тиреоидных гормонов и экспрессию генов в ЩЖ, ответственных за их синтез. Но они не влияли или слабо влияли на уровень ТТГ и на экспрессию гипоталамических генов, кодирующих про-TRH, рецепторы тиреоидных гормонов и дейодиназы. При 5-дневном введении ТРУ1 слабо влиял на морфологию ЩЖ, индуцируя в незначительной степени выраженные признаки очаговой патологии в периферических ее областях при сохранении функциональной активности. Таким образом, мишенями ТРУ1 и ТРУ5 являются рецепторы ТТГ ЩЖ, в то время как на вышележащие звенья тиреоидной оси эти антагонисты практически не действуют. Кроме того, на примере ТРУ1 показано, что при длительном применении тиенопиримидиновые производные слабо влияют на ультраструктуру ткани ЩЖ, что важно с точки зрения их возможного практического использования.

Источники финансирования. Работа поддержана грантом Российского Научного Фонда (проект № 19-75-20122).

АНАЛИЗ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА И ВЛИЯНИЕ ТЕРАПИИ СОВРЕМЕННЫМИ АНТИДИАБЕТИЧЕСКИМИ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ СРЕДСТВАМИ

Дзугкоев С.Г., Дзугкоева Ф.С., Хубулова А.Е., Маргиева О.И.

ФГБУН Федеральный научный центр «Владикавказский научный центр РАН», филиал «Институт биомедицинских исследований», Владикавказ

Целью исследования было изучение характера изменений биохимических и функциональных показателей нефропатии у больных сахарным диабетом (СД) 2-го типа и оптимизация стандартного лечения и профилактики с использованием современных антидиабетических лекарственных средств.

В стационаре на 45 больных СД 2-го типа с длительностью болезни 10–15 лет в возрасте 60–75 лет изучены уровни гликемии, гликированного гемоглобина (HbA_{1c}), основных процессов мочеобразования, содержание креатинина, мочевины, холестерина, общего белка, суммарных метаболитов оксида азота (NOx) в сыворотке крови, протеинурия, а также состояние системы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиокислительной системы (АОС). Обследование проводили при поступлении больных в стационар республиканского эндокринологического диспансера г. Владикавказа в соответствии с договором на фоне метформина и комплексной терапии, включающей метформин + ингибиторы SGLT, DPP-4, регуляторы артериального давления — иАПФ эналаприл и холестерина — аторвастатин.

У всех больных до лечения выявлено повышение уровня HbA_{1c} , гидроперекисей и малонового диальдегида (МДА) в эритроцитах, снижение активности супероксиддисмутазы (СОД) и уровня NOx сравнительно с показателями контрольной группы. Развившаяся дисфункция эндотелия характеризовалась нарушением основных процессов мочеобразования, экскрецией белка и протеинурией. Стандартная терапия метформином была недостаточно эффективна.

Включение дапаглифлозина, вилдаглипина, эналаприла и аторвастатина в лекарственную терапию вызвало значительное ингибирование ПОЛ у пациентов с СД 2-го типа:

снижение уровня МДА на 31%, повышение активности СОД на 18,4%, снижение уровня ЛПНП на 31,5%. Улучшение функции эндотелия, повышение NOx на 37,4% сопровождалось снижением артериального давления (АД) и положительной динамикой функциональных показателей почек: скорость клубочковой фильтрации повысилась на 15,6%, сократились диурез, экскреция Na и белка соответственно на 7,36%, 12,82% и 45,3% сравнительно с показателями пациентов до лечения, $p \leq 0,05$. Улучшилась динамика показателей АД: систолическое АД снизилось на 19,05%, а диастолическое — на 14,9%.

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К НАРУШЕНИЮ МИНЕРАЛЬНОЙ ПЛОТНОСТИ КОСТНОЙ ТКАНИ У ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ СПОРТСМЕНОВ

Жур Н.В.¹, Лебедь Т.Л.¹, Маринич Т.В.¹, Кручинский Н.Г.¹, Евдолюк С.В.²

¹Учреждение образования «Полесский государственный университет», Пинск, Республика Беларусь

²Брестский областной диспансер спортивной медицины, Брест, Республика Беларусь

Оптимальное функциональное состояние опорно-двигательного аппарата (ОДА) является одной из главных составляющих обеспечения высоких спортивных результатов. Известно, что околопредельные и предельные физические нагрузки в профессиональном спорте могут приводить к дезинтеграции структуры костной ткани и избыточному травматизму, особенно у спортсменов юниорского и молодёжного возраста, когда на фоне интенсивного роста как самого атлета, так и тренировочных и соревновательных нагрузок возникает несоответствие между темпами роста и нормальным функционированием ОДА. С учетом современных требований, анализ возможных факторов риска травматических осложнений спортивной деятельности показывает, что эти процессы обязательно должны приниматься во внимание уже в детском спорте, чтобы минимизировать потенциальные «потери» спортивного резерва.

Одним из перспективных направлений в решении вышеперечисленных проблем является внедрение параллельно с остеоденситометрией и биохимической индикацией костного ремоделирования комплексного молекулярно-генетического и биохимического обследования молодых спортсменов.

С целью апробации предлагаемого методического подхода проведено предварительное обследование 60 спортсменов (30 из Брестского областного училища олимпийского резерва (БрУОР) и 30 спортсменов из спортивного класса лица ПолесГУ). Стаж занятий спортом составлял не менее 5 лет.

Клинико-лабораторные исследования проводились на базе Отраслевой лаборатории

«Лонгитудинальные исследования» ПолесГУ по следующим полиморфизмам: ACTN3 (rs1815739), EPAS1 (rs1867785), PPARD (rs4253778), PPARGC1A (rs2016520), VDR (rs731236), COL1A (rs1800012). Биохимическое и ультразвуковое обследования минеральной плотности костной ткани (МПК) проводились в подготовительном и предсоревновательном периодах годового цикла подготовки.

Полученные результаты показали, что данные УЗ-денситометрии МПК спортсменов имели значительные различия между учащимися БрУОР и спорткласса: число спортсменов с УЗ-признаками снижения и нарушения МПК в БрУОР значительно выше (12 человек), чем в спортклассе (3 человека). Результаты же молекулярно-генетического обследования продемонстрировали накопление генетических факторов риска нарушений развития ОДА среди спортсменов с нарушениями МПК; $RR=3,163$.

Полученные результаты показывают важность комплексного молекулярно-генетического тестирования для выявления молодых спортсменов с высокими рисками развития нарушений МПК и принятия мер по минимизации риска.

ПРИМЕНЕНИЕ ТРИТЕРПЕНОИДА 3-В-МЕТОКСИ-D18-ОЛЕАНАНА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Золина Л.В., Шарапова Н.В., Лебедева Е.Н.

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России, Оренбург

Профилактика и снижение инсулинорезистентности, а впоследствии и сахарного диабета, метаболического синдрома, атеросклероза требует поиска новых соединений, обладающих антидиабетической активностью, характеризующихся наряду с гипогликемическим эффектом низкой токсичностью. К числу таких соединений, нашедших практическое применение в медицине, относится тритерпеноид 3-б-метокси-d18-олеанона — миллиацин (МЛ), входящий в состав просяного масла, используемого для лечения и профилактики целого ряда патологических состояний.

Материалы и методы. В эксперимент были введены крысы Vistar в количестве 260 животных. В соответствии с программой испытаний животные были разбиты на группы. Первая группа служила контролем. Животные второй группы получали МЛ в количестве 0,2 мг на 1 кг массы тела. Животные третьей группы получали с целью создания у них ИР маргарин, содержащий насыщенные липиды. Животные четвертой группы получали МЛ в количестве 0,2 мг на кг массы тела одновременно с насыщенными липидами. Общая продолжительность опыта составляла 8 нед. Развитие инсулинорезистентности оценивалось по уровню инсулина в крови (нмоль/л) и по результатам глюкозотолерантного теста.

Результаты и обсуждение. Сравнение концентраций глюкозы и инсулина в группах крыс, получавших насыщенные липиды дополнительно к стандартному рациону, и группой животных, получавших МЛ, показало достоверное повышение уровней исследуемых показателей в группе крыс, получавших диету повышенной калорийности. Повышение составляло 75% и 135%, соответственно для глюкозы и инсулина. В группе крыс, получавших МЛ в сочетании с диетой повышенной калорийности, уровень глюкозы и инсулина в сыворотке крови не

имел достоверных различий с показателями контрольной группы и группы крыс, получавших МЛ. Вместе с тем, концентрация глюкозы и инсулина у животных этой группы была, в среднем, на 30% ниже, чем в группе крыс, получавших насыщенные липиды. В итоге, индекс инсулинорезистентности HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance) в группе животных, получавших МЛ, был в 1,7 ниже, чем в контрольной группе; в группе крыс, содержащихся на диете повышенной калорийности (ДПК), был в 2,5 выше, чем в контрольной группе. Сравнения HOMA-IR для групп «ДПК» и «ДПК и МЛ» показали, что потребление МЛ в сочетании с насыщенными липидами приводило к достоверному снижению индекса инсулинорезистентности в 2 раза.

Таким образом, экспериментально установлено, что применение МЛ в эксперименте на животных снижает инсулинорезистентность.

Источники финансирования: ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава РФ.

СВИДЕТЕЛЬСТВА ЭФФЕКТИВНОСТИ ОТСРОЧЕННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ИНТРАНАЗАЛЬНО ВВОДИМОГО ИНСУЛИНА ПОСЛЕ ИНДУКЦИИ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ПЕРЕДНЕГО МОЗГА КРЫСЫ

Зорина И.И., Черненко Е.Е., Печальнова А.С., Шпаков А.О.

ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» РАН, Санкт-Петербург

Эффективность применения интраназально вводимого инсулина (ИВИ) обоснована клиническими испытаниями при лечении когнитивного дефицита у пациентов с болезнью Альцгеймера, мягким когнитивным дефицитом и сахарным диабетом 2-го типа. В то же время данные об использовании ИВИ для коррекции последствий ишемии головного мозга крайне ограничены. В экспериментах *in vivo* оценивались эффекты ИВИ в основном при его превентивном введении.

В рамках проведенного исследования нами оценивалась эффективность ИВИ, используемого через 2 и 4 ч после индукции церебральной ишемии у крыс в условиях длительной реперфузии (ИР).

В качестве модели церебральной ишемии использовали двухсосудистую модель с гипотензией, для чего проводили окклюзию обеих общих сонных артерий в течение 10 мин с помощью сосудистых зажимов в сочетании с контролируемой гиповолюметрической гипотензией. По окончании ишемии восстанавливали мозговой кровоток, реперфузия длилась в течение 7 дней. В качестве контроля использовали ложно-оперированных крыс (ЛО), которым не делали гипотензию и окклюзию. Обработку ИВИ (0,5 МЕ/крыса) проводили через 2 и 4 ч после окончания ишемии и затем ежедневно 1 раз/сут до конца эксперимента. По окончании эксперимента выделяли гиппокамп для оценки экспрессии генов методом РТ-ПЦР и гистологического анализа количества клеток окрашиванием по Нисслю.

В гиппокампе ИР-крыс обнаружили повышение экспрессии генов глиального фибриллярного кислого белка GFAP, маркера астроцитов, и белка IBA-1, маркера микроглии, что может свидетельствовать о патологическом развитии астроглиоза и микроглиоза. ИВИ через 2 ч (но не через 4 ч) после окончания ишемии снижал экспрессию этих генов. С по-

мощью окрашивания по Нисслю продемонстрирована более выраженная гибель клеток в СА1-области гиппокампа через 7 дней реперфузии после индукции церебральной ишемии ($20,9 \pm 0,8$; $p < 0,01$) по сравнению с ЛО-крысами ($27,6 \pm 0,7$ ед.). ИВИ через 2 ч после окончания ишемии препятствовал гибели клеток в СА1-области гиппокампа ($30,6 \pm 1,6$; $p < 0,01$), более эффективно, чем через 4 ч ($19,2 \pm 2,7$). ИВИ также повышал количество Ниссл-позитивных клеток до их уровня у ЛО-крыс.

Таким образом, нами впервые исследована эффективность ИВИ через 2 и 4 ч после индукции двухсосудистой ишемии переднего мозга у крыс с длительной реперфузией, и более эффективным оказалось введение ИВИ через 2 ч после ишемии.

Источники финансирования. Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 23-75-01083).

ТРОМБОПОЭЗ И БИОСИНТЕЗ АНДРОГЕНОВ У БОЛЬНЫХ С ОБЪЕМНЫМИ ОБРАЗОВАНИЯМИ КОРКОВОГО ВЕЩЕСТВА НАДПОЧЕЧНИКОВ

Калугина В.В., Ворохобина Н.В., Великанова Л.И., Шафигуллина З.Р., Малеваная Е.В., Лисицын А.А.

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Цель. Изучить взаимосвязь количества тромбоцитов крови и особенностей стероидного метаболома мочи больных в зависимости от злокачественности опухолей коры надпочечников.

Материалы и методы. Обследованы 20 больных с новообразованиями надпочечников: 10 человек с аденокортикальным раком (АКР) и 10 — с аденомами (АКА). Диагноз подтверждался на основании результатов гистологического исследования по шкале L.M. Weiss. Возраст больных составил 58 [49–63] лет, в исследование включены 5 (25%) мужчин. Различий по возрасту, полу и величине индекса массы тела между обследованными с АКР и АКА не было. Всем больным в дооперационном периоде выполнен клинический анализ крови (КАК) с определением лейкоцитарной формулы, подсчетом индекса системного иммунного воспаления (SII) по формуле: $SII = \frac{\text{количество тромбоцитов крови} \times (\text{количество нейтрофилов} / \text{количество лимфоцитов крови})}{\text{количество лимфоцитов крови}}$. Исключена гормональная активность клеток опухолей надпочечников с помощью иммунохимических методов, изучены стероидные профили мочи (СПМ) методом газовой хромато-масс-спектрометрии. Исследование проводилось на хромато-масс-спектрометре «GCMS-TQ8050» фирмы «SHIMADZU» в НИЛ хроматографии СЗГМУ им. И.И. Мечникова.

Результаты. Определены показатели КАК у больных в зависимости от злокачественности опухоли надпочечника. Получено большее количество тромбоцитов у больных АКР в сравнении с обследованными с АКА: $279 [257–324] \times 10^9$ и $227 [207–253] \times 10^9$, $p=0,02$. Выявлено меньшее значение SII у больных с АКА в отличие от больных с АКР: $224 [194–422]$ и $661 [449–1246]$, $p=0,02$. Исследованы СПМ больных в зависимости от злокачественности опухоли, установлена

более высокая экскреция с мочой метаболита глюкокортикоида тетрагидро-11-дезоксикортизола, а также метаболитов андрогенов — 11 β -ОН-андростерона, этиохоланолона (Et), дегидроэпиандростерона (DHEA), прогестенов — 17-ОН-прегнанолона, прегнандиола, прегнантриола, прегнендиола у больных АКР по сравнению с другими больными. Показана линейная зависимость количества тромбоцитов крови от экскреции с мочой Et ($r=0,86$, $p=0,001$) и DHEA ($r=0,98$, $p<0,001$), а также SII от экскреции с мочой DHEA ($r=0,82$, $p=0,007$) у всех обследованных.

Выводы. Избыточная продукция андрогенов клетками опухоли, определенная методом газовой хромато-масс-спектрометрии, стимулирует тромбопоэз у больных АКР.

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках Госзадания Минздрава России, рег. № НИОКТР АААА-А19-119053190034-0.

ИЗМЕНЕНИЯ МИНЕРАЛЬНОЙ ПЛОТНОСТИ И МЕТАБОЛИЗМА КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ ЙОДНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Камилов Ф.Х., Ганеев Т.И., Иванова Г.В., Шаймарданов А.Т.

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа

Результаты ранее проведенных исследований концентрации йода в моче для определения тиреоидного статуса жителей Республики Башкортостан не позволяют считать йодную обеспеченность населения адекватной. Йодная недостаточность и развивающийся на этом фоне гипотиреоз сохраняются у более половины детей и лиц зрелого возраста (33–45 лет); при этом выявляется снижение минеральной плотности костей с превалированием у взрослых процессов остеорезорбции и снижением интенсивности процессов костеобразования у детей.

Цель работы — характеристика метаболизма костной ткани при экспериментальном мерказолиловом гипотиреозе.

Исследования выполнены на беспородных белых крысах-самцах массой 180–220 г. Моделирование гипотиреоза в подопытной группе животных осуществляли ежедневным внутрижелудочным введением мерказолила из расчета 25 мг/кг массы тела в течение 21 сут. Крысы контрольной группы получали физиологический раствор. У животных в сыворотке крови определяли содержание С-концевых телопептидов коллагена типа I (CTX), растворимого лиганда рецептора, активатора ядерного фактора каппа В (sRANKL), остеопротегерина (OPG), склеротина, активность костной щелочной фосфатазы (КЩФ), содержание Са, Mg, фосфора, тиреотропного гормона и свободного тироксина (сТ4). В костной ткани изучали содержание свободного и связанного с белком оксипролина, уровень вторичных продуктов липопероксидации (ТБК-активные соединения), активность супероксиддисмутазы, глутатитонпероксидазы и каталазы.

Введение мерказолила приводило к статистически значимому повышению в сыворотке крови содержания ТТГ и снижению сТ4, что характеризует развитие гипотиреоза. У животных с гипотиреозом наблюдалось в сыворотке крови снижение уровней маркера костной резорбции — CTX с $0,91 \pm 0,061$

пг/мл до $0,79 \pm 0,052$ пг/мл ($p < 0,05$) и маркера костеобразования — КЩФ с $6,7 \pm 0,34$ Е/л до $4,7 \pm 0,46$ Е/л ($p < 0,05$). Уровень негативного регулятора остеобластогенеза — склеротина повышался с $11,6 \pm 0,92$ пмоль/л до $15,8 \pm 1,12$ пмоль/л ($p < 0,05$). Концентрация sRANKL у животных подопытной группы существенно не отличалась от таковой в группе контроля, составляя $0,58 \pm 0,094$ пмоль/л (контроль — $0,61 \pm 0,074$ пмоль/л), содержание OPG было статистически значимо выше — $0,58 \pm 0,31$ пмоль/л против $0,37 \pm 0,026$ пмоль/л ($p < 0,05$). Содержание общего кальция, магния и фосфора при этом существенных изменений не претерпевало.

Изменения уровней sRANKL и OPG свидетельствует о снижении активности остеокластной дифференцировки и апоптоза остеокластов при гипотиреозе.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПАРАТИРЕОИДНОГО ГОРМОНА НА ДИФФЕРЕНЦИРОВОЧНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ КУЛЬТУРЫ МЕЗЕНХИМНЫХ СТЕЛОВОХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ В УСЛОВИЯХ НЕКОНТАКТНОГО СОКУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Комашко К.Ю., Усачёв В.А., Кулебякин К.Ю., Воронцова М.В.

ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Факультет фундаментальной медицины, Москва

Одной из главных особенностей костной ткани является ее способность к обновлению и регенерации в течение всей жизни человека. Контролируются данные процессы с помощью соблюдения баланса между резорбцией и формированием новой ткани. Межклеточная коммуникация, осуществляемая эндокринными и паракринными сигналами, играет ключевую роль в синхронизации этих процессов. Паратиреоидный гормон (ПТГ) является важным регулятором обмена костной ткани. Стимуляция ПТГ вызывает два типа ответов в культуре мезенхимных стеловых клеток (МСК): плавное увеличение содержания кальция или появление кальциевых осцилляций. Преобладание клеток с плавным приростом содержания кальция среди всех отвечающих на данный стимул клеток приводит к усилению остеогенной дифференцировки, в то время как преобладание клеток с осциллирующим ответом — к её ослаблению. Как именно работает обнаруженный механизм межклеточной коммуникации, на данный момент неясно.

В нашей работе мы оценили вклад паракринной сигнализации ПТГ на дифференцировку МСК при помощи модели неконтактного сокультивирования.

Исследование проводилось на культуре МСК жировой ткани, а также модельной линии ASC52telo в условиях неконтактного сокультивирования с добавлением ПТГ. Успешность дифференцировки клеточной культуры в остеогенном направлении оценивали с помощью цитохимического окрашивания алizarиновым красным, а также путем анализа уровня экспрессии генов остеогенеза (RunX и остеокальцин) при помощи ПЦР в реальном времени. Дифференцировка в адипогенном направлении определялась с использованием флуоресцентного красителя Nile

Red и Segment.ai нейронной сети из NIS.ai. Дополнительно был проведен анализ с использованием ингибиторов аданилатциклазного (SQ 22536) и фосфолипазного (U-73122) сигнальных каскадов для проверки вклада данных систем в эффективность остеогенеза. В ходе отработки нового метода неконтактного сокультивирования мы выявили, что ПТГ при добавлении к МСК, выделенным из жировой ткани, оказывает проостеогенный и антиадипогенный эффект. При добавлении гормона к модельной линии ASC52telo наблюдается противоположное антиостеогенное и проадипогенное действие. Анализ экспрессии генов у ASC52telo, связанных с остеогенезом, показал, что она была снижена в исследуемых лунках. По итогам ингибиторного анализа проостеогенный эффект был выявлен при добавлении ингибитора фосфолипазы C.

Данные результаты открывают перспективы для более детального исследования регуляторных механизмов паратиреоидного гормона.

Источники финансирования. Работа поддержана в рамках программы НОШ МГУ имени М.В.Ломоносова, номер проекта 23-SCH04-11.

ИЗУЧЕНИЕ ПОДВИЖНОСТИ МОЛЕКУЛ ПРЕСИНАПТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ В МЕМБРАНЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОСКОПИИ СВЕРХВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ

Коркунов Р.Ю.¹, Айтмухамбетова И.Р.²

¹ФГБОУ ВО «Тюменский государственный университет», Тюмень

²ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России, Тюмень

Синапсы — специализированные структуры, которые обеспечивают передачу возбуждения и функциональную связь между отдельными клетками. Перспективным методом микроскопии (SR) для наблюдения за движением молекул *in vivo* является микроскопия локализации фотоактивации с отслеживанием одной частицы sptPALM. SptPALM позволяет отслеживать отдельные объекты в живых клетках с нанометровой (~40 нм) точностью и миллисекундным (~10 мс) временным разрешением. Благодаря этим методам появилась возможность характеризовать кинетику и динамику одиночных белков в реальном времени.

Целью работы — изучить поведение молекул в мембране и клетке и разработать программные алгоритмы, позволяющие проводить первичную обработку данных, полученных с использованием микроскопии сверхвысокого разрешения.

Материалы и методы. В работе использованы данные, полученные с применением методики TIRF-PALM клеточной мембраны клеток эндотелия пупочной вены человека (HUVEC). В качестве исходных данных использовалась серия изображений. Траектории молекул АТ-Фазы рассчитывались с помощью программы Fiji (ImageJ) и плагина TrackMate. Анализ траекторий проводился с помощью библиотек `scipy`, `pandas`, `numpy`, `matplotlib` языка программирования Python. Для дальнейшего анализа были использованы траектории с количеством кадров не менее 10. Для каждой траектории молекулы рассчитывалось среднее квадратичное смещение (MSD). MSD рассчитывалось для промежутков 6 промежутков времени. Программное обеспечение Fiji (версия 1.54f; ImageJ) использовалось для анализа движения молекул. Расчет диффузий отдельных молекул производился с помощью Single Particle Tracking. При помощи

библиотек `scipy`, `pandas`, `numpy`, `matplotlib` языка программирования Python и бесплатной среды для разработки и выполнения программного кода в облаке Google Colab были загружены и заданы дополнительные параметры. В дополнение были рассчитаны длины смещений молекул для всех траекторий.

Результатом работы являются работоспособные скрипты. С их помощью можно изучить поведение молекул и клеток в мембране, используя современные методы флуоресцентной микроскопии. Исследования отдельных молекул АТФазы на поверхности клеточной мембраны клеток эндотелия пупочной вены человека (HUVEC) показало зависимость коэффициентов диффузии от плотности, выполнен расчет коэффициента неопределенности и получены средние значения длин смещения, необходимые для понимания движения молекул в мембране.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИКРО-РНК В ДИАГНОСТИКЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2-ГО ТИПА

Краснобаева А.В., Дугина В.А.

ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Волгоград

Введение. По данным Федерального регистра РФ больных сахарным диабетом (СД), численность пациентов с СД2 относительно общей численности пациентов с СД на 1 января 2022 года составляла 92,3% (4,5 млн человек). В ряде случаев клиническая картина СД2 может быть атипичной, поэтому для постановки диагноза требуется более детальное обследование и рассмотрение других возможных причин развития гипергликемии. Маркеры могут помочь выявить заболевание на ранних стадиях, когда клинические проявления еще отсутствуют или мало выражены.

Цель. Выявить потенциальные микроРНК, связанные с СД2, и их роль в развитии заболевания, рассмотреть существующие методы измерения уровней экспрессии микроРНК.

Материалы и методы. Анализ потенциальных биомаркеров и методов измерения экспрессии осуществлялся путем изучения данных из зарубежных и отечественных источников, таких как Pubmed, Google Scholar, Elibrary и Medline.

Результаты и обсуждение. МикроРНК играют важную роль в метаболизме глюкозы, в первую очередь имеет значение участие микроРНК в регуляции основных ферментов катаболизма глюкозы и транскрипции генов инсулина. В качестве потенциальных биомаркеров могут выступать микроРНК, уровень экспрессии которых снижен относительно здорового состояния (miR-155, -15a, -496) или повышен (miR-720, -222, -125b-2-3p, -375, -34a). Также существуют микроРНК с неоднозначной специфичностью (miR-126, -146a), уровень которых варьирует в зависимости от вида лечения, возраста, пола и участия в регуляции других заболеваний. В настоящее время существует несколько способов для определения уровней экспрессии микроРНК: нозерн-блоттинг, микрочипы, NGS-секвенирование, ОТ-ПЦР и ПЦР, основанная на лигировании. Для исследования микроРНК используют плазму венозной крови, мочу и биопсийный материал.

Выводы. МикроРНК обладают высокой стабильностью и содержатся в различных биологических образцах, но применение их в ранней диагностике остается ограниченным вследствие изменения уровня отдельных микроРНК во время сторонних болезней, патологий и естественных физиологических процессов, а также относительно высокой стоимости отдельных методов измерения уровня экспрессии. Таким образом, возможность применения микроРНК в диагностике СД2 до сих пор остается актуальным направлением исследований, сопряженных с поиском универсальных маркеров заболевания.

Источники финансирования: Без финансирования.

ВЛИЯНИЕ ГИПЕРТИРЕОЗА НА УРОВЕНЬ ПАРАТИРЕОИДНОГО ГОРМОНА В ОРГАНИЗМЕ ЖИВОТНЫХ СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМ ПРОЦЕССОМ

Нескубина И.В., Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Васильева Е.О., Черярина Н.Д., Гусарева М.А., Трепитаки Л.К., Бандовкина В.А., Фаткина Н.Б., Солнцева А.А., Павлятенко И.В.
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава РФ, Ростов-на-Дону

Введение. Гипертиреоз обусловлен повышенным синтезом и секрецией гормонов щитовидной железы и увеличивает риск возникновения некоторых злокачественных новообразований. Щитовидная железа и паращитовидные железы имеют общее эмбриологическое происхождение. Паратиреоидный гормон (ПТГ) секретируется клетками паращитовидных желез.

Цель. Определить уровень ПТГ в сыворотке крови, опухоли, коже и органо-комплексе щитовидная железа/паращитовидные железы у мышей обоего пола с карциномой легкого Льюис, растущей на фоне индуцированного гипертиреоза.

Материалы и методы. Использовали мышей линии C57BL/6 обоего пола (n=112). Экспериментальные группы: интактная (n=16); контрольная (n=32) — гипертиреоз, индуцированный препаратом «Тиромель»; группа сравнения (n=32) — подкожный рост карциномы легкого Льюис (LLC); основная группа (n=32) — подкожный рост LLC на фоне индуцированного гипертиреоза. Определяли уровень ПТГ мМЕ/л, а также мМЕ/г тк в коже и в сыворотке крови, коже, опухоли и органо-комплексе щитовидная железа/паращитовидные железы с использованием ИФА наборов (ХЕМА, Россия).

Результаты. В сыворотке крови основной группы самок уровень ПТГ был в 1,5 раза выше значений в интактной группе и в группе сравнения, а также в 1,4 раза выше, чем у самок контрольной группы. В сыворотке крови самцов основной группы уровень ПТГ превышал значения в интактной группе в 2,6 раза, контрольные величины в 1,6 раза и показатели группы сравнения — в 2,7 раза. В коже у самок основной группы уровень ПТГ превышал значения в интактной группе в 9,0 раз, у самцов в 2,8 раза. По сравнению со значениями ПТГ у животных группы сравне-

ния: у самок основной группы ПТГ повысился в 6,0 раз, а у самцов в 4,0 раза. Сочетание LLC и гипертиреоза в организме животных затрагивало органо-комплекс щитовидная железа/паращитовидные железы: у самок ПТГ превышал величины в интактной группе в 1,7 раза, у самцов в 3,6 раза, а относительно значений в группе сравнения — в 1,5 раза и 5,8 раза. Определено повышение уровня ПТГ только у самцов основной группы — в 1,5 раза относительно значений в контрольной группе. В ткани опухоли у животных обоего пола группы сравнения и основной группы изменений уровня ПТГ не установлено.

Заключение. Гипертиреоидное состояние в организме вызывает гиперпаратиреогеению, усиливающуюся при злокачественном процессе не только в дестабилизированном органе — комплексе щитовидная железа/паращитовидные железы, а также в крови и органе-опухоленосителе — коже. В опухолевом очаге вне зависимости от наличия или отсутствия гипертиреоза паратиреоидный статус не затронут.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ИНСУЛИНА ПРИ РАЗВИТИИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ

Саатов Т.С., Ибрагимов З.З.

Институт биофизики и биохимии при Национальном Университете Узбекистана им. Мирзо Улугбека, Ташкент, Узбекистан

Диабетическая нейропатия (ДН) представляет собой сложное состояние, вызванное отсутствием лечения или поздней диагностикой сахарного диабета, которое приводит к дегенеративному поражению сенсорных, двигательных и вегетативных элементов нервной системы. В настоящее время исследовательские центры изучают влияние факторов окружающей среды и генетических факторов риска на патогенез ДН. Например, генетические факторы, как и факторы окружающей среды могут способствовать развитию этого заболевания, нарушая различные метаболические и эндотелиальные функции сосудов, которые влияют на патогенез ДН. В частности, в этих процессах большое значение имеет роль метаболического контроля и вариабельности гликемии. Было обнаружено, что ряд генов-кандидатов, включая *AKR1B1*, *VEGF*, *MTHFR*, *APOE* и *ACE*, играют важную роль в развитии ДН. Кроме того, недавние исследования были сосредоточены на гомеостазе глюкозы и энергии в нервной системе, и в этих исследованиях изучалась связь гена инсулина (*INS*) с развитием ДН, потому что снижение инсулина в крови и возможные мутационные изменения могут приводить к развитию ДН.

В связи с этим, целью работы было исследование полиморфизма rs689 гена *INS* у больных сахарным диабетом с риском развития нейропатии.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования были сформированы две группы: основная и контрольная. Основную группу составили 33 пациента узбекской национальности, обратившихся в Республиканский центр специализированной эндокринологической научно-практической медицины, а контрольную — 39 лиц без признаков ДН. Выделение ДНК проводили с использованием набора Amply-Prime-RIBO-prep производства ООО «NextBio», Россия. Для тестирования

полиморфизма rs689 гена *INS* были синтезированы специальные праймеры и протестированы с использованием усилителя Step One фирмы «Applied Biosystems» (США) по протоколу аллель-специфичной ПЦР. Результаты исследования были статистически обработаны с использованием программы DoctorStat 2013 версии 1.9.

Результаты. В этих исследованных группах сравнивались частоты аллелей А и Т. Было обнаружено, что аллель А более распространен в контрольной группе (83,3%) по сравнению с группой ДН (75,8%), в то время как аллель Т продемонстрировал противоположную тенденцию, будучи более распространенным в группе ДН (24,2%), чем в контрольной группе (16,7%). Частота генотипа А/А была выше в контрольной группе, составив 69,2% по сравнению с 57,6% в группе ДН. И наоборот, гетерозиготный генотип А/Т встречался чаще в группе ДН (36,3%), чем в контрольной группе (28,2%). Частота встречаемости гетерозиготы А/Т была в 1,29 раза выше у пациентов с ДН по сравнению с контрольной группой.

В целом, полученные данные свидетельствуют о том, что аллель Т и генотип Т/Т полиморфизма rs689 гена *INS* могут служить потенциальными генетическими маркерами для прогнозирования развития диабетической нейропатии.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВЫБОРА НАПРАВЛЕНИЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Тюрин-Кузьмин П.А., Чечехин В.И., Кулебякин К.Ю., Калинина Н.И., Попов В.С., Ткачук В.А.
ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Факультет фундаментальной медицины, Москва

Метаболические болезни, связанные с нарушениями функционирования жировой ткани, приобрели в настоящее время всеобъемлющий характер. Сахарный диабет, метаболический синдром и сердечно-сосудистые заболевания являются одними из ведущих причин инвалидизации и потери трудоспособности людей. Ключевой причиной развития ожирения является нарушение процессов обновления жировой ткани, в основе которого лежит особый подтип стволовых клеток взрослого организма, мультипотентные мезенхимные стромальные клетки (МСК). МСК обеспечивают постоянное обновление жировой ткани, превращаясь в различные типы клеток жировой ткани, такие как белые адипоциты, бежевые адипоциты, регуляторные клетки, клетки, формирующие внеклеточный матрикс. МСК проявляют функциональную гетерогенность, которая проявляется в различной чувствительности отдельных клеток к гормонам-регуляторам функционирования жировой ткани. В данной работе мы использовали методы анализа внутриклеточных сигнальных каскадов на уровне одиночных клеток для регистрации функциональной гетерогенности МСК и стандартные протоколы дифференцировки клеток, совмещенные с протоколами наблюдения за дифференцировочной судьбой единичных клеток. Мы обнаружили, что большинство клеток в популяции МСК несут на своей поверхности рецепторы ко множеству гормонов. Несмотря на это, на конкретный индивидуальный гормон способна отвечать лишь небольшая доля клеток в популяции. При этом группы клеток, воспринимающие определенный гормон, характеризуются определенной функцией, которую они выполняют в рамках функционирования целостной ткани. Мы показали функциональные субпопуляции МСК, в рамках которых клетки

отвечают на действие гормона единообразно и обладают сходным дифференцировочным потенциалом. Мы показали уникальную способность серотонина и норадреналина к перmissive действию на альфа1А-адренорецепторы в МСК. Стимуляция HTR6 рецепторов и бета3-адренорецепторов, соответственно, через 6-9 часов повышает экспрессию альфа1А-адренорецепторов в МСК. Этот феномен связан с выбором направления дифференцировки МСК между контрактильным фенотипом и теплопродуцирующими бежевыми адипоцитами. Таким образом, МСК проявляют функциональную гетерогенность, которая связана с дифференцировочным потенциалом отдельных клеток популяции МСК.

Источники финансирования. Работа поддержана грантом Российского Научного Фонда №19-75-30007 (<https://rscf.ru/project/19-75-30007/>).

ОЦЕНКА АНТИГЛИКИРУЮЩИХ И АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ АЗОПРОИЗВОДНЫХ ПИРИДОКСИНА

Фафанова Е.М., Агафонова М.Н., Васильева О.С., Белова М.А., Стрельник А.Д., Штырлин Ю.Г.
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Научно-образовательный центр фармацевтики, Казань

К числу важнейших факторов патогенеза сахарного диабета относят внутри- и внеклеточное накопление конечных продуктов гликирования (КПГ), образование которых является сложным процессом, включающим несколько различных путей: аутоокисление глюкозы, перекисное окисление липидов (ПОЛ) и др. В связи с этим при создании соединений с потенциальной противодиабетической активностью необходимо воздействовать как на процессы гликирования, так и на процессы окисления.

Целью данной работы было исследование антигликирующей и антиоксидантной активности *in vitro* ряда новых азопроизводных пиридоксина с мета- и пара-аминофенольными фрагментами, а также исследование их цитотоксичности.

Способность ингибировать образование КПГ изучали на модели гликирования бычьего сывороточного альбумина в присутствии глюкозы. Антиоксидантные свойства оценивали в тесте нейтрализации радикала ABTS (2,2'-азино-бис(3-этилбензтиазолин-6-сульфоновой кислоты) и на модели ингибирования процесса ПОЛ. Анализ цитотоксических свойств проводили с помощью метаболического МТТ-теста в отношении условно-нормальных клеток человека (HSF, MSC).

Все соединения продемонстрировали антигликирующую активность (IC₅₀ от 18,72 до 420,20 мкМ), превосходящую таковую для препарата сравнения — амингуанидина (IC₅₀ от 18,72 до 420,20 мкМ). В ABTS-тесте активность большинства изученных азопроизводных пиридоксина статистически не отличалась от активности препаратов сравнения (аскорбиновая кислота (EC₅₀=15,20 мкМ) и кверцетин (EC₅₀=15,45 мкМ)). При оценке ингибирования ПОЛ было показано, что активность исследуемых соединений превосходит либо сопоставима с активностью препарата сравнения — тролокса (значения

EC₅₀ находятся в диапазоне от 4,46 до 16,29 мкМ). По данным МТТ-теста все исследуемые соединения имеют низкую цитотоксичность (CC₅₀ превышает 100 мкМ).

Полученные данные демонстрируют наличие у изучаемых соединений одновременно высокой антигликирующей и антиоксидантной активности, что, в сочетании с высоким уровнем безопасности, указывает на перспективность дальнейших исследований азопроизводных пиридоксина в качестве инновационных противодиабетических лекарственных средств.

Источники финансирования: Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности №FZSM-2023-0010.

АЛЛОСТЕРИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ G-БЕЛОК-СОПРЯЖЕННЫХ РЕЦЕПТОРОВ — НОВЫЕ ГОРИЗОНТЫ И НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ

Шпаков А.О.

ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» РАН, Санкт-Петербург

Сопряженные с G-белками рецепторы (GPCR) — основная группа сенсорных белков, опознающих различные внешние сигналы и передающие их к внутриклеточным эффекторам в клетках низших и высших эукариот. Среди применяемых в медицине препаратов от 30 до 40% действуют на GPCR и на сопряженные с ними звенья сигнальной трансдукции. Уже со середины XX в. в центре внимания находятся как эндогенные, так и синтетические лиганды GPCR, которые с высоким сродством связываются с ортостерическим сайтом рецепторов, локализованным либо в их внеклеточном домене, либо во внешнем вестибуле и внутри трансмембранного канала, образованного 7 трансмембранными спиралями.

Для многих GPCR создана и внедрена в клинику широкая линейка лигандов ортостерического сайта с агонистической и антагонистической активностью, специфичных к определенным типам рецепторов. Однако, часто эти препараты характеризуются низкой селективностью по отношению к внутриклеточным каскадам, могут приводить к гиперактивации GPCR или полностью блокируют их активность, что неизбежно приводит к побочным эффектам.

В связи с этим взоры исследователей обращены в сторону разработки лигандов аллостерических сайтов GPCR, чему способствуют фундаментальные открытия в области расшифровки принципов и механизмов аллостерической регуляции GPCR. В отличие от одного ортостерического сайта в GPCR имеются до десяти и более аллостерических сайтов. Они могут быть локализованы в различных локусах GPCR — во внеклеточных и цитоплазматических петлях, внутри трансмембранного канала, на боковой поверхности трансмембранного домена. Эндогенными регуляторами аллостерических сайтов могут быть простые ионы, липиды, аминокислоты, небольшие пептиды, изменения мембран-

ного потенциала. Аллостерические влияния может оказывать образование комплексов GPCR с другими рецепторами и с большим числом регуляторных белков. Аллостерические регуляторы имеют широкий профиль активности, будучи наделены свойствами модуляторов GPCR-сигналинга (PAM, NAM, SAM, BAM), собственной (полные и инверсионные агонисты, нейтральные антагонисты) или комбинированной активностью (аго-PAM, аго-NAM, PAM-антагонист).

Все это указывают на неисчерпаемые возможности создания на их основе высоко-селективных регуляторов GPCR, способных целенаправленно модулировать эффекты ортостерических агонистов, перенаправлять их на определенные сигнальные пути, мягко стимулировать или, напротив, ингибировать GPCR-опосредуемые каскады.

Источники финансирования. Работа поддержана грантом Российского Научного Фонда (проект № 19-75-20122).

ПЕПДУЦИНЫ, ПРОИЗВОДНЫЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ УЧАСТКОВ СЕРТОНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ, КАК РЕГУЛЯТОРЫ СЕРТОНИН-ЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНОЙ СИСТЕМЫ В МОЗГЕ *IN VITRO* И *IN VIVO*

Шпаков А.О., Деркач К.В., Шпакова Е.А.

ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» РАН, Санкт-Петербург

Серотониновые рецепторы 1В-подтипа (5-HT_{1B}-R) и 6-го типа (5-HT₆-R) играют ведущую роль в функционировании ЦНС, снижение их активности приводит к когнитивному дефициту и другим неврологическим расстройствам. Для активации 5-HT_{1B}-R и 5-HT₆-R и предотвращения этих расстройств используют агонисты ортостерического сайта, но они имеют множество побочных эффектов и вызывают десенситизацию рецепторов.

Альтернативой им являются аллостерические регуляторы, в том числе активирующие внутриклеточные аллостерические сайты рецепторов. В качестве них могут быть использованы разработанные нами пепдуцины — пальмитилированные пептиды ARERKATKTL(307–316)K(Pal) и KHSRKALKASL(258–268)K(Pal)A, соответствующие третьей цитоплазматической петле 5-HT_{1B}-R и 5-HT₆-R. Ранее *in vitro* нами было изучено их влияние на активность аденилатциклазы (АЦ) в синапсомембранных мозга крыс, но эффекты пепдуцинов на активность АЦ *in vivo* исследованы не были.

Целью работы было изучить влияние интраназально вводимых пептидов 307–316(Pal) 5-HT_{1B}-R и 258–268(Pal) 5-HT₆-R на чувствительность АЦ во фракциях синапсомембранных мозга крыс к ортостерическим и аллостерическим агонистам 5-HT_{1B}-R и 5-HT₆-R.

Изучали однократное и трехдневное введение пепдуцинов (50 мкг/крысу) в сравнении с таковым 5-HT_{1B}-R-агониста CP93129 и 5-HT₆-R-агониста EMD-386088 (интраназально, 10 мкг/крысу). Активность АЦ в мембранных фракциях стриатума оценивали с помощью радиоактивно меченого субстрата — [α -³²P]-АТФ.

Однократное введение пепдуцинов сохраняло способность пепдуцинов и ортостериче-

ских агонистов регулировать АЦ в стриатуме, либо через посредство Gi-сопряженного 5-HT_{1B}-R, ингибируя ее форсколин-стимулированную активность [307–316(Pal), CP93129], либо через посредство Gs-сопряженного 5-HT₆-R, повышая базовую активность АЦ [258–268(Pal), EMD-386088]. В то же время, даже однократное введение CP93129 и EMD-386088 заметно снижало АЦ эффекты пепдуцинов и ортостерических агонистов. Трехдневное введение оказывало более значимый эффект на АЦ сигналинг, но и в этом случае ослабление АЦ эффектов при использовании пепдуцинов было менее выраженным.

Таким образом, пепдуцины, производные 5-HT_{1B}-R и 5-HT₆-R, оказывают слабое воздействие на АЦ систему в стриатуме мозга крыс, что обусловлено умеренным их влиянием на рецепторы 5-HT_{1B}-R и 5-HT₆-R. Тем самым, они могут стать прототипами лекарственных препаратов для коррекции неврологических расстройств при ослаблении функций этих рецепторов.

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках госзадания ИЭФБ РАН № 075-00264-24-00.

ИЗМЕНЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ И МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЕ ПРИ СДВИГЕ БАЛАНСА СТАБИЛЬНЫХ ИЗОТОПОВ ВОДОРОДА В ОРГАНИЗМЕ

Яглова Н.В., Обернихин С.С., Тимохина Е.П., Назимова С.В., Яглов В.В.

ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына, Москва

Моему учителю академику РАН
Т.Т. Березову посвящается.

Изменения в содержании стабильных изотопов водорода в организме оказывают различные метаболические и клеточные эффекты, механизмы которых мало изучены.

Цель исследования — выявить изменения синтеза тироидных и гипофизарных тиреотропных гормонов и Na^+/I^- -симпортера (NIS) — основного переносчика йода, и оценить морфологические изменения в щитовидной железе при двусторонних сдвигах в содержании дейтерия в организме. Эксперимент проведен на взрослых крысах-самцах линии Вистар, которые потребляли воду с различным содержанием дейтерия ($[\text{D}] = 10, 150, 500\ 000\ \text{ppm}$) в течение 3 нед.

Оценка общего тироксина и трийодтиронина и их свободных фракций, а также тиреотропного гормона в сыворотке крови выявила быструю реакцию щитовидной железы на изменения баланса дейтерия/протия. Результаты исследования показывают, что щитовидная железа чувствительна к даже к небольшим изменениям в содержании дейтерия в потребляемой организмом воде. При этом она более чувствительна, чем гипоталамо-гипофизарный комплекс, который реагировал позже, и реагирует она аналогично в случае дейтерирования или уменьшения содержания дейтерия в организме. Оценка уровней NIS в сыворотке крыс выявила постепенное увеличение, что показывает, что дейтерирование стимулирует его продукцию, поскольку отмечался неуклонный рост его концентрации, которая не коррелировала с уровнем гормонов щитовидной железы и выработкой гипофизом тиреотропного гормона, считавшегося основным регулятором синтеза NIS. Полученные данные позволяют предположить, что скорость продукции гормонов щитовидной железы может зависеть от

градиентов дейтерия в крови/тканях и цитоплазме/органеллах, которые, возможно, стимулируют секреторный процесс независимо от NIS. Ввиду множественности механизмов регуляции секреторных и морфогенетических процессов в щитовидной железе, из которых главным является тиреотропный гормон гипофиза, уменьшение содержания дейтерия не оказывает выраженного воздействия на морфофункциональное состояние по мере уменьшения его содержания в клетках. Повышение содержания дейтерия оказывает мощное стимулирующее воздействие на секреторные и морфогенетические процессы, что позволяет считать дейтерий одним из элементов регуляции деятельности щитовидной железы.

Источники финансирования: Исследование выполнено по государственному заданию № FGFZ-2022-0035.

ИНКАПСУЛЯЦИЯ НАНОЧАСТИЦ КАК МАРКЕР ВЕДУЩИХ КЛЕТОК ПРИ КОЛЛЕКТИВНОЙ МИГРАЦИИ

Александрова А.В.¹, Контарева Е.Г.¹, Пустовалова М.В.¹, Леонов С.В.¹, Мерхер Ю.Б.^{1,2}

¹ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)», Москва

²Израильский технологический институт (Технион), Хайфа, Израиль

Смерти, связанные с раком, происходят из-за неконтролируемой прогрессии опухоли, приводящей к метастазированию. Твердые опухоли распространяются с помощью коллективной миграции, т.е. группа клеток движется вместе, направляемая «клеточными лидерами». Процессы, происходящие с цитоскелетом во время клеточной миграции, схожи с процессами при эндоцитозе. Ранее в нашей лаборатории было показано, что наночастицы размером 200 нм инкапсулируются более эффективно клетками с высоким метастатическим потенциалом (МП), чем клетками с низким МП.

Цель данного исследования заключается в количественном сравнении способности к инкапсуляции наночастиц клетками, находящимися на периферии и в центре раны.

Данное исследование проводилось на клеточных линиях рака молочной железы (РМЖ) с высоким (MDA-MB-231) и низким (MCF-7) МП. Клеточная миграция изучалась с помощью скрэтч-теста. На первом этапе проводились калибровочные эксперименты для поиска оптимального времени движения. На основе полученных данных для клеточных линий MCF-7 и MDA-MB-231 было установлено время, при котором достигается максимальная скорость закрытия раны. Были проведены эксперименты с добавлением флуоресцентных наночастиц в рассчитанное ранее время. Для каждого эксперимента производилась визуализация с помощью флуоресцентного микроскопа. Цифровые изображения обрабатывали с помощью программного обеспечения Fiji. Колокализация наночастиц с клетками рассчитывалась с помощью коэффициентов корреляции Пирсона. Для оценки статистической разницы производился анализ ANOVA.

Максимальная скорость закрытия раны была достигнута через 2,6 ч для клеток с низким МП, с высоким МП — через 3,9 ч (при этом

было достигнуто 8 и 11% площади закрытия раны соответственно). Коэффициенты инкапсуляции наночастиц составили $0,063 \pm 0,005$ на краю раны и $0,046 \pm 0,004$ в периферической области для клеток с высоким МП; $0,039 \pm 0,003$ и $0,027 \pm 0,002$ для клеток с низким МП. Мы наблюдали значительную разницу в эффективности поглощения наночастиц между ведущими и периферическими клетками для клеточных линий с высоким и низким МП ($p < 0,013$). Мы обнаружили, что существует «оптимальное время» закрытия раны с повышенной миграционной активностью для каждой клеточной линии. Также мы продемонстрировали, что эффективность инкапсуляции лидирующих клеток значительно выше, чем периферических клеток.

Таким образом, инкапсуляция наночастиц может быть использована в качестве потенциального маркера для наиболее агрессивных клеток, ведущих в коллективной миграции.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (грант 23-24-00601).

ИССЛЕДОВАНИЕ ИНТЕРНАЛИЗАЦИИ МИЦЕЛЛ ОЛЕИЛ-ГИАЛУРОНАНА В ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ МЕТОДОМ КОНФОКАЛЬНОЙ СКАНИРУЮЩЕЙ ЛАЗЕРНОЙ МИКРОСКОПИИ

Антонова М.М.¹, Малиновская Ю.А.¹, Бейгуленко Д.В.¹, Калачева Е.А.², Ермоленко Ю.В.¹, Ковшова Т.С.¹, Гельперина С.Э.¹

¹ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева», Москва

²ФГБУ «НМИЦ психиатрии и наркологии им В.П. Сербского» Минздрава России, Москва

Введение. Гиалуриновая кислота, гидрофобизированная олеиновой кислотой (олеил-гиалуранан, ГК-С18), является перспективным наноносителем для амфифильных и гидрофобных лекарственных веществ (ЛВ). Такие полимерные структуры биосовместимы и биodeградируемы, а также обладают сродством к рецептору CD44, экспрессия которого повышена в ряде опухолей. Несмотря на то, что интернализация мицелл гиалуриновой кислоты и её производных в клетки доказана, вопрос о стабильности таких наносистем и механизме доставки гидрофобного ЛВ в клетки остается актуальным.

Цель работы — провести сравнительное исследование интернализации двух типов мицелл ГК-С18, нагруженных модельным ЛВ (флуоресцентным красителем Cyanine5) путем физического включения (ГК-С18/Су5) или конъюгации ГК-С18 с данным красителем (ГК-С18-Су5-conj).

Материалы и методы. Конъюгат ГК-С18 с Су5 (ГК-С18/Су5) синтезировали карбодиимидным методом. Мицеллы получали методом гидратации тонкой пленки. Гидродинамический диаметр мицелл и ζ -потенциал поверхности определяли с помощью наносайзера NanoZS; критическую концентрацию мицеллообразования определяли флуоресцентным методом. Для исследования интернализации лиофилизаты мицелл ГК-С18/Су5 и ГК-С18-Су5-conj ресуспендировали в культуральной среде, добавляли к клеткам глиомы крысы C6 и инкубировали в течение 40 мин, после чего среду отбирали и клетки трижды промывали фосфатно-солевым буфером. Изображения получали с помощью конфокальной сканирующей лазерной микроскопии, в исследовании использовали лазеры с эмиссией 561 нм. Скорость и эффективность интернализации оценивали путём анализа флуоресцентных

сигналов от мицелл, нагруженных или конъюгированных с Су5.

Результаты. Получены мицеллярные формы ГК-С18/Су5 и ГК-С18-Су5-conj со средним размером ~600 нм и ~410 нм, соответственно, и ζ -потенциалом поверхности ~ -50 мВ для обеих структур. Сравнение изображений показало, что обе исследованные мицеллярные формы проникают через мембрану клеток, не сорбируясь на ней, равномерно распределяются в цитоплазме. Значимых различий в распределении мицелл обоих типов в клетках глиомы не установлено.

Закключение. Методом конфокальной сканирующей лазерной микроскопии показано, что оба типа мицелл ГК-С18, нагруженных гидрофобным ЛВ, сохраняют мицеллярную структуру в процессе интернализации в опухолевые клетки и доставляют в клетки связанный с ними краситель. Таким образом, разработанные мицеллярные формы являются перспективным средством внутриклеточной доставки ЛВ.

Источники финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках научного проекта № 23-25-00194.

НАНОЧАСТИЦЫ Ag^0 И CdS , СИНТЕЗИРОВАННЫЕ В ФИКОЭРИТРИНЕ, — КАНДИДАТЫ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ РАКА

Бекасова О.Д.

Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва

Прогресс в терапии рака обусловлен применением новых лекарственных препаратов в традиционных методах лечения и внедрением нанотехнологий в клиническую практику. Зеленый синтез наночастиц способствует созданию новых стратегий, повышающих эффективность диагностики и терапии рака благодаря высокой чувствительности, обеспечивающей раннее выявление рака, снижению концентрации лекарственных препаратов и соответственно уменьшению цитотоксичности, возможности комбинирования доставки противораковых лекарств с функциональными объектами, такими как опухолеспецифические лиганды, антитела, зонды для визуализации. Потребность в новых нанопрепаратах для тераностики рака сохраняется. Нами получены и охарактеризованы наночастицы Ag^0 и CdS в фикоэритрине, фотосинтетическом пигменте красных водорослей. Фикоэритрин (ФЭ) — водорастворимый белок, 290 кДа, в форме гексамера имеет кольцевую структуру с туннельной полостью (3,5×6,0 нм) в центре молекул. Он сильно поглощает (λ_{max} 498, 540, 568 нм), интенсивно флуоресцирует (λ_{max} 578 нм), нетоксичен для человека. Фикоэритрин и его субъединицы при освещении генерируют активные формы кислорода и используются в фотодинамической терапии (ФДТ). Биоконъюгат Ag^0 -ФЭ может быть эффективней фикоэритрина в ФДТ в силу синергетического эффекта, так как наночастицы Ag^0 тоже образуют активные формы кислорода. Биоконъюгат CdS -ФЭ также может оказаться новым эффективным фотосенсибилизатором в ФДТ, т.к. наночастицы CdS усиливают фотохимическую активность фикоэритрина и стабилизируют его в форме гексамера. Наночастицы Ag^0 и CdS в фикоэритрине гомогенные, малых размеров. Растворимость в воде, интенсивная флуоресценция, термальная стабильность и высокая электропроводимость обеспечивают возможность создания новых биосенсорных систем и флуорофоров. Анализ ли-

тературы и результаты наших исследований показали, что биоконъюгаты Ag^0 -ФЭ и CdS -ФЭ могут найти применение в разработке новых стратегий для одновременной диагностики, терапии и мониторинга опухолей.

Источник финансирования: Министерство науки и высшего образования

ПОЛИМЕРНЫЕ НАНОРАЗМЕРНЫЕ ФОРМЫ ПАКЛИТАКСЕЛА: ПОЛУЧЕНИЕ И *IN VITRO/IN VIVO* ИССЛЕДОВАНИЯ

Бойко С.А.¹, Есефьева Т.Ю.¹, Ковшова Т.С.¹, Малиновская Ю.А.¹, Валихов М.П.², Гельперина С.Э.¹

¹ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева», Москва

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России, Москва

Актуальность. Парентеральные формы противоопухолевого агента паклитаксела на основе наноразмерных носителей (Генексол-ПМ®, Абраксан®, Пакликал®) обладают улучшенным профилем токсичности по сравнению с формами, содержащими Cremophor EL® (Taxol® и др.), и используются в клинической химиотерапии в ряде стран.

Цель исследования — разработка новых инъекционных наноразмерных форм паклитаксела на основе биосовместимых полимеров и исследование их физико-химических и биологических свойств.

Методы. Инъекционные формы паклитаксела на основе природных (человеческий сывороточный альбумин, казеинат натрия) и синтетических (сополимеры молочной и гликолевой кислот) полимеров получены с использованием нанотехнологических подходов. Определены ключевые физико-химические параметры наночастиц (размер частиц, ζ -потенциал и морфология поверхности, содержание паклитаксела, родственных примесей и полимера-носителя), а также степень включения и параметры высвобождения паклитаксела в модельных условиях. Цитотоксическое действие наночастиц (IC_{50}) в сравнении с субстанцией паклитаксела оценивали с помощью колориметрических MTT/MTS тестов на линиях клеток рака молочной железы (MCF-7, MDA-MB-231, 4T1). Исследованы гемосовместимость форм в отношении эритроцитов человека, острая токсичность на здоровых мышах (LD_{50} , МПД) и фармакокинетика при внутривенном введении крысам в дозе 10 мг/кг. Изучена возможность комбинированной нанотерапии в экспериментах *in vitro/in vivo*.

Результаты. Разработанные наночастицы паклитаксела с оптимальными физико-химическими параметрами продемонстрировали дозозависимое снижение пролиферации

опухолевых клеток (в том числе синергетический эффект при комбинации с другими цитостатиками), отсутствие гемолитической активности и снижение острой токсичности по сравнению с препаратом Целиксел®. Комбинация с ритонавиром (ингибитор Р-гликопротеина) позволяет увеличить экспозицию паклитаксела при одновременном введении наночастиц. Синергетический эффект паклитаксела и гидрофобного 4'-О-бензилоксикарбонильного производного этопозида в составе системы со-доставки продемонстрирован *in vitro* на клетках человеческих и животных глиом.

Заключение. Полученные результаты подтверждают перспективность дальнейшего исследования разработанных наноразмерных форм паклитаксела на основе природных и синтетических полимеров.

Источники финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (ГЗ, проект FSSM-2022-0003).

МАГНИТНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ В КАЧЕСТВЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ АГЕНТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Колесникова О.А., Комедчикова Е.Н., Шипунова В.О.

ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)»,
Институт биофизики будущего, Долгопрудный

Онкологические заболевания занимают второе место по уровню смертности во всем мире, при этом для их лечения используются традиционные методы, обладающие низкой селективностью по отношению к трансформированным тканям, в результате чего при терапии возникает ряд побочных эффектов. На данный момент в биомедицине активно разрабатываются новые подходы к лечению онкологических заболеваний, наиболее перспективным направлением является тераностика, сочетающая в себе комбинирование терапевтических и диагностических свойств в одной лекарственной формуляции. Магнитные наночастицы служат эффективными агентами для онкотераностики ввиду своих уникальных свойств, таких как низкая токсичность, высокая биосовместимость, наличие магнитного момента и возможности управления внешним магнитным полем.

Одним из значимых клинических онкомаркеров на данный момент является рецептор эпидермального фактора роста человека 2 (HER2), присутствующий на поверхности клеток человека. Повышенная экспрессия рецептора HER2 характерна для ряда онкологических заболеваний, в том числе для рака молочных желез, желудка, яичников и др. При этом сверхэкспрессия HER2 зачастую коррелирует с высокой агрессивностью опухолей, риском метастазирования, а также устойчивостью к химиотерапии.

Целью нашего исследования была разработка адресных магнитных наночастиц, нацеленных на HER2-положительные раковые клетки. Среди широкого разнообразия HER2-распознающих молекул, таких как полноразмерные антитела IgG, дарпины, ободы, в данной работе был выбран скаффолдовый полипептид аффибоди Z_{HER2:342} ввиду малого размера, высокой устойчивости к широкому диапазону температур и pH. Были получены адресные магнитные наночастицы, которые продемонстрировали свою эф-

фективность *in vitro*: связывание данных частиц с HER2-положительными раковыми клетками в 40 раз превышало взаимодействие с контрольными клетками. Наночастицы магнетита использовались для механоиндуцированного разрушения раковых клеток под воздействием низкочастотного магнитного поля. Анализ флуоресцентной микроскопии подтвердил разрушение клеточных органелл, а методом проточной цитометрии был установлен апоптотический механизм клеточной гибели.

Затем нами были подобраны условия модификации поверхности наночастиц для нацеливания не только на клеточный рецептор, но и на слабокислые значения pH, характерные для опухолевого микроокружения. Нами было показано, что использование альбумина в правильном соотношении с молекулами аффибоди на поверхности частиц приводит к колоколообразной кривой связывания частиц с раковыми клетками в диапазоне значений 5,6–8,0 с максимумом поглощения при pH 6,4. Полученные результаты были подтверждены *in vivo*, продемонстрировано увеличение накопления наночастиц с альбумином в 2 раза в сравнении с контрольными частицами.

Таким образом, нами были получены HER2-распознающие магнитные наночастицы, которые продемонстрировали свою эффективность как *in vitro*, так и *in vivo*. Данные наночастицы являются перспективными агентами для биомедицинского применения ввиду возможности использования для диагностики и терапии опухолей, а также возможности внешнего управления магнитным полем.

Исследование поддержано Минобрнауки России: Т 1366, соглашение 075-03-2024-117 проект FSMG-2023-0017 (флуоресцентные исследования); Т 118, соглашение 075-03-2024-117, проект FSMG-2022-0016 (разработка наноформуляций); Т 1276, соглашение 075-03-2024-117, проект FSMG-2023-0015.

БИОСОВМЕСТИМЫЕ МУЛЬТИФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОЛИМЕРНЫЕ НАНОСТРУКТУРЫ КАК ОСНОВА ДЛЯ РАЗВИТИЯ БИМЕДИЦИНЫ

Комедчикова Е.Н., Шипунова В.О.

ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)», Институт биофизики будущего, Долгопрудный

Онкологические заболевания остаются одной из основных угроз для здоровья людей по всему миру, несмотря на значительный успех в области разработки противораковых препаратов. Успех лечения заболевания определяется соотношением между эффективностью уничтожения раковых клеток и негативным воздействием на нетрансформированные органы и ткани. Основными методами лечения служат химиотерапия, радиотерапия и хирургическое вмешательство, однако они все имеют ряд существенных недостатков. Так, из-за недостаточной специфичности действия химиотерапевтических лекарств они влияют и на нормальные клетки, что приводит к развитию таких жизнеугрожающих побочных эффектов, как кардиотоксичность, гематотоксичность и др. Кроме того, раковые клетки способны развить устойчивость к действию препаратов, из-за чего возникает необходимость в повышении дозы лекарств, а также к применению их комбинаций, что ещё больше усиливает негативное воздействие на организм пациента. Применение радиотерапии ограничено общей дозой радиации, которую получает пациент, а хирургическое вмешательство не позволяет со 100-процентной эффективностью удалить все раковые клетки и применяется в комбинации с другими методами. Таким образом, необходимо разрабатывать новые подходы к терапии онкологических заболеваний.

Нanomатериалы представляют собой передовой класс технологий, которые произвели революцию в области биомедицины. Особый интерес вызывают полимерные наноструктуры благодаря их высокой биосовместимости. Ещё одним несомненным преимуществом является возможность создания на их основе мультифункциональных агентов для терапии и диагностики заболеваний благодаря одновременному включению в состав наночастиц терапевтических и диагностических соединений. Возможна также реализация концепции комбинированной терапии в одном препарате. Например, включение в состав наночастиц фототермического агента и химиотерапевтического препарата позволяет осуществить комбинированную фото-химиотерапию, эффективность которой выше благодаря синергическому эффекту, возникающему при сочетании этих двух воздействий. Возможность эффективной одновременной загрузки веществ различной природы

в полимерные наночастицы открывает широкие возможности для создания действенных лекарственных препаратов. Кроме того, применение наночастиц в качестве посредников для доставки лекарственных веществ позволяет улучшить распределение инкапсулированного препарата в организме. Это возможно благодаря особым свойствам опухолей: было показано, что во многих опухолях из-за особой архитектуры сосудистой сети могут накапливаться достаточно крупные агенты, такие как наночастицы, что в сочетании с плохим лимфооттоком приводит к накоплению и задержке наночастиц. Такое явление получило название эффекта повышенной проницаемости и задержки. Широкие возможности модификации поверхности полимерных наночастиц адресными молекулами позволяют дополнительно влиять на биораспределение наночастиц и улучшить адресность доставки.

На данный момент препараты на основе наночастиц играют одну из главенствующих ролей среди одобренных и проходящих одобрение препаратов. Было показано значительное снижение системной токсичности при применении наноформуляций. Так, липосомальная формуляция доксорубина (Келикс) показала значительное снижение кардиотоксичности по сравнению со свободной формой препарата, а Абраксан (связанный с альбумином паклитаксел) продемонстрировал снижение гепатотоксичности и реакции гиперчувствительности. Хотя одобренные на данный момент препараты не мультифункциональны, множество наноформуляций находятся на различных стадиях клинических испытаний, что представляет основу для развития медицины будущего.

В заключение, биосовместимые мультифункциональные полимерные наноструктуры открывают новые горизонты в биомедицине. Их уникальные свойства позволяют разрабатывать инновационные терапевтические и диагностические подходы, улучшая результаты лечения пациентов и развивая персонализированную медицину.

Различные аспекты данного исследования были частично поддержаны Минобрнауки РФ, соглашение 075-03-2024-117, проект FSMG-2023-0017 (регистрация флуоресценции, доставка малых молекул), FSMG-2022-0016 (разработка наноформуляций) и 075-10-2021-093, проект NMB-RND-2120 (характеристика наноформуляций).

МАГНИТНЫЕ МИКРОДИСКИ С ЗОЛОТОМ В КАЧЕСТВЕ АГЕНТА ДЛЯ ФОТОТЕРМИЧЕСКОЙ И МАГНИТОМЕХАНИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Моторжина А.В.¹, Аникин А.А.¹, Панина Л.В.^{1,2}, Родионова В.В.¹, Левада Е.В.¹

¹ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет им. И. Канта», НОЦ Умные материалы и биомедицинские приложения, Калининград

²ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС», Институт новых материалов, Москва

Фототермическая терапия (ФТТ) имеет значительные перспективы в качестве потенциального противоракового лечения из-за ее низкой инвазивности и минимальных побочных эффектов по сравнению с традиционными методами лечения, такими как химиотерапия, хирургия и лучевая терапия. Для ФТТ чаще всего применяются наночастицы (НЧ) благородных металлов, демонстрирующие превосходные фототермические характеристики. При лазерном облучении участков опухоли, где присутствуют такие частицы, происходит локализованная гипертермия, превышающая порог повреждения клетки, что приводит к разрушению клеточных структур и термической гибели клеток. В контексте сложных заболеваний, таких как рак, ФТТ часто выбирается в качестве одного из компонентов комбинированной стратегии лечения, а не как отдельная универсальная терапия.

Мы предлагаем ФТТ в сочетании с магнитомеханической терапией для достижения большей эффективности воздействия на раковые клетки с помощью композитных магнитных наноматериалов, имеющих в своем составе золото. Магнитомеханическая терапия представляет собой механическое воздействие на клеточную мембрану посредством вращения магнитных НЧ в переменном магнитном поле низкой частоты, что может запускать апоптотические процессы в клетке, подвергавшейся воздействию магнитных НЧ.

В качестве исследуемых архитектур магнитных нанокомпозитов методом электронно-лучевой литографии и магнетронного распыления были изготовлены микродиски, состоящие из слоев золота и железа. В сравнении с наночастицами сферической формы, частицы в виде микродисков имеют

большой механический момент и могут быть эффективно использованы для магнитомеханического разрушения клеток, в сочетании с ФТТ.

Исследовалось влияние микродисков состава золото-железо-золото (АFA) и железо-золото-железо (FAF) на клетки гепатокарциномы человека (Huh7) до и после ФТТ и магнитомеханической терапии. Жизнеспособность оценивали с помощью теста WST-1.

Относительная жизнеспособность клеток Huh7 после 24 ч выдержки с микродисками АFA в концентрациях от 10 до 100 мкг/мл не показывает снижения, в то время как микродиски FAF показывают 10% ($p < 0,01$) цитотоксический эффект на концентрации 100 мкг/мл. После ФТТ микродисками обоих составов относительная жизнеспособность культуры снижается. Температура клеточной среды при проведении ФТТ составляет в среднем от 43 до 45°C.

Источники финансирования. Проект РНФ № 21-72-20158.

ГЕНЕТИЧЕСКИ КОДИРУЕМЫЕ БЕЛКОВЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Обозина А.С., Зверева С.Д., Сизиков А.А., Шипунова В.О.

ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)»,
Институт биофизики будущего, Долгопрудный

Разработка высокоспецифичных наночастиц для адресной доставки химиотерапевтических препаратов к опухолям является активно развивающейся отраслью современной онкотераностики. Однако трансляция адресных наночастиц в клиническую практику затруднена ввиду следующих проблем: низкая воспроизводимость химического синтеза таких наночастиц, недостаточная эффективность и высокая системная токсичность лечения. Для преодоления всех перечисленных трудностей предлагается использование адресной двухстадийной доставки химиопрепарата в составе самособирающихся белковых наночастиц. Генетически кодируемые самособирающиеся белковые наночастицы, такие как инкапсулин, способны воспроизводимо формироваться за счёт взаимодействия соответствующих белковых субъединиц. Инкапсулин представляет собой белковые наночастицы со средним диаметром 24 нм, которые были найдены у термофильных бактерий *Thermotoga maritima* [1].

Целью данной работы является разработка генетически кодируемой двухстадийной адресной доставки инкапсулина, загруженного химиопрепаратом, к раковым клеткам, характеризующимся сверхэкспрессией рецептора HER2. В данной работе стратегия двухстадийной доставки осуществлялась за счёт взаимодействия между белком SpyCatcher и пептидом SpyTag, которые с помощью инструментов геной инженерии были вставлены в следующие конструкции: 1) слитый белок на основе SpyCatcher, флуоресцентного белка mKate2 и скаффолдового распознающего полипептида Z_{HER2:342}; 2) рекомбинантный инкапсулин, выставляющей на своей поверхности пептид SpyTag. Перечисленные белки были наработаны в клетках *E. coli* и очищены с использованием гель-фильтрации и никель-аффинной хроматографии. Инкапсулиновые наночастицы, загруженные

химиопрепаратом доксорубицином, были охарактеризованы с использованием сканирующего электронного микроскопа и метода динамического светорассеяния.

С помощью проточной цитометрии и флуоресцентной микроскопии было продемонстрировано эффективное двухстадийное мечение HER2-сверхэкспрессирующих клеток. Вдобавок, были продемонстрированы визуализирующие и терапевтические свойства разработанной белковой платформы и показано её преимущество по сравнению с лечением свободным доксорубицином.

Таким образом, результаты, полученные в данном исследовании, свидетельствуют о том, что двухстадийная доставка инкапсулина, загруженного доксорубицином, является перспективной стратегией для лечения рака. Благодаря своей доказанной высокой эффективности эта технология может открыть новые возможности для диагностики и терапии онкологических заболеваний.

Различные аспекты данного исследования были поддержаны Минобрнауки России, № 075-03-2024-117, проект FSMG-2023-0015 (*in vivo* исследования) и РНФ № 22-73-10141 (*синтез наночастиц*).

Литература

1. Obozina, A.S. [et al.] Genetically Encoded Self-Assembling Protein Nanoparticles for the Targeted Delivery *In Vitro* and *In Vivo* // *Pharmaceutics*. 2023. V. 15. P. 231. DOI: 10.3390/pharmaceutics15010231

РАЗРАБОТКА ТАРГЕТНЫХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ НИТРИДА БОРА (H-BN) ДЛЯ БОР-НЕЙТРОН ЗАХВАТНОЙ ТЕРАПИИ

Пермякова Е.С., Макарец Ю.А., Каршиева С.Ш., Штанский Д.В.

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС», Москва

При анализе нерешенных проблем, стоящих перед современной медициной, стоит отметить лечение онкологических заболеваний, которые до сих пор занимают одну из лидирующих позиций среди причин смертности среди населения. Классические подходы к лечению злокачественных новообразований включают применение химиопрепаратов (например, цисплатина, доксорубицина), однако их эффективность ограничена серьезными побочными эффектами, обусловленными высокими дозами и неспецифическими взаимодействиями терапевтических агентов со здоровыми клетками и биоактивными соединениями в кровотоке при внутривенном введении. Таким образом, важно сосредоточиться на разработке новых подходов к терапии онкологических заболеваний.

На настоящий момент научная группа Таскаева (ИЯФ СО РАН) разработали коммерческие установки для облучения эпителиковыми нейтронами и уже поставили их в ряд клиник за рубежом (США, Китай). Однако данный вид лучевой терапии на настоящий момент не применяется в клинике на территории России в связи с отсутствием отечественных препаратов для бор-нейтрон захватной терапии и крайне высокой стоимостью импортных препаратов (боркапнат, производство Interpharma Praha, Чехия; борфенилаланин Stella Pharma; Sumitomo Heavy Industries, Япония) и рядом серьезных побочных эффектов при применении в эффективных дозах (100–290 и 700–900 мг/кг массы тела для боркапната и борфенилаланина, что при средней массе 60 кг составляет 6–17,4 и 42–54 г препарата).

В данной работе были получены препараты на основе наночастиц нитрида бора с высоким содержанием бора¹⁰, системы были стабилизированы хитозаном, в качестве таргетной молекулы была пришта фолиевая кислота. Полученные системы показали высокую стабильность в физрастворе — более 72 ч при концентрации 5 мг/мл и полную без-

опасность для введения (300 мкл в хвостовую вену мыши). В качестве метки для оценки накопления частиц был введен сульфогаллий 7.5, одобренный для клинического применения. Анализ распределения по органам *ex vivo* через 24 ч после введения показал селективное накопление разрабатываемых систем в опухоли: интенсивность сигнала в опухоли в 2,5 раза выше, чем в печени, и значительно превышает содержание флуоресцентной метки в других органах.

Полученные результаты свидетельствуют о высоком потенциале разрабатываемого препарата для применения в бор-нейтрон захватной терапии.

Источники финансирования: в рамках реализации программы стратегического академического лидерства «Приоритет-2030» (стратегический проект «Биомедицинские материалы и биоинженерия»).

ГЕНЕРАЦИЯ БИОГЕННЫХ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ *DE NOVO* КАК НОВЫЙ ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ОЦЕНКИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СТАТУСА ОПУХОЛЕЙ

Саакян С.В.¹, Сорокин В.В.², Складнев Д.А.²

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, Москва

²ФГУ ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Москва

Одним из проявлений метаболической активности живых клеток является активное потребление ростовых субстратов и, соответственно, выброс секретируемых продуктов. Некоторые из этих продуктов могут служить донорами электронов, то есть способны к восстановлению ионов металлов до нуль-валентного состояния (Me^0). Отсутствие заряда у восстановленных атомов металлов мгновенно запускает процесс их агглютинации сначала в нанокластеры размером до ~1,5 нм, а затем их самосборки и генерации более крупных металлических наночастиц.

Нами впервые показано, что динамика восстановления ионов металлов за фиксированное время в присутствии клеток тканей опухолей придаточного аппарата глаза определяет распределение размеров генерируемых биогенных нанокристаллических структур и чётко отражает уровень метаболической активности новообразований (на основании исследования около 200 больных с гистологически верифицированными диагнозами опухолей).

Предложен протокол аналитического нанобиотехнологического метода оценки общего уровня метаболической активности исследуемых клеток, основанный на результатах УФ и *vis*-спектроскопии начальных стадий генерации наночастиц металлов. Регистрация параметров нанокристаллов, генерируемых из источника катионов за первые 5–15 мин восстановления, может быть использована как инструментальный подход для экспресс-диагностики и типирования различных вариантов тканей доброкачественных и злокачественных опухолей.

КОМПЛЕКСНО ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫЙ ОНКОЛИТИЧЕСКИЙ АДЕНОВИРУС ДЛЯ ИММУНОГЕННОЙ ТЕРАПИИ ГЛИОБЛАСТОМЫ

Степаненко А.А.^{1,2}, Сосновцева А.О.^{1,3}, Валихов М.П.¹, Чернышева А.А.¹, Васюкова А.А.¹, Чехонин В.П.^{1,2}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России, Отдел фундаментальной и прикладной нейробиологии, Москва

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Институт трансляционной медицины, Отдел медицинских нанобиотехнологий, Москва

³ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН, Центр прецизионного редактирования генома и генетических технологий для биомедицины, Москва

Для решения такой фундаментальной проблемы, как низкая эффективность радио-/химиотерапии опухолей головного мозга, могут быть адаптированы аденовирусы человека. При внутриопухолевом введении генетически модифицированный аденовирус может воздействовать на опухолевые клетки без системной токсичности и стимулировать противоопухолевый иммунный ответ. Однако опухоль оказывает выраженную иммуносупрессию, и Т-клеточный иммунный инфильтрат не способен эффективно противодействовать опухоли. Поскольку активность лимфоцитов регулируется сложной серией стимулирующих, костимулирующих и ингибирующих сигналов, дисбаланс в сторону ингибирующих сигналов может быть изменен за счет локальной продукции иммуностимулирующих трансгенов, кодируемых онколитическим аденовирусом. Также онколитический вирус, лизируя опухолевые клетки, стимулирует высвобождение ряда молекул, распознавание которых рецепторами на поверхности клеток иммунной системы способствует развитию противоопухолевого иммунного ответа.

Методами генетической инженерии мы сконструировали панель аденовирусов, продуцирующих секреторный эктодомен мыши mPD1 (рецептор программируемой клеточной гибели 1), секреторный эктодомен человека hPD1 и мутантный секреторный эктодомен человека hPD1mut с повышенной аффинностью к лиганду PD-L1 человека и мыши, а также mOX40L (член семейства факторов некроза опухоли) в отдельности и вместе с секреторным эктодоменом mPD1 или hPD1mut.

Мы подтвердили секрецию мутантного и дикого типа эктодоменов hPD1 в супернатанте инфицированных клеток человека и мыши методом иммуноферментного анализа и продукцию mOX40L на поверхности инфицированных клеток человека и мыши методом проточной цитометрии. Мы получили репортерную линию A549_Lucia-mOX40R, продуцирующую рецептор mOX40R, и провели оценку биологической активности лиганда mOX40L. Мы оценили онколитические свойства рекомбинантных аденовирусов на опухолевых культурах клеток в тестах на репродукцию, цитотоксичность и бляшкообразование. Наконец, мы провели оценку терапевтической эффективности аденовирусов, продуцирующих иммуностимулирующий трансген mOX40L в отдельности и вместе с секреторным эктодоменом PD1 мыши или человека в мутантной форме при сравнении с родительским вирусом в ортотопических сингенных моделях глиом GL261 и CT-2A в иммунокомпетентных мышах C57BL/6.

Нами получен комплексно генетически модифицированный онколитический аденовирус с комбинацией трансгенов, направленных на усиление стимулирования противоопухолевого иммунного ответа.

Источники финансирования: РНФ, грант №22-75-10087.

ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ НАНОСЕНСОРЫ ДЛЯ МОНИТОРИНГА АНТРАЦИКЛИНОВЫХ АНТИБИОТИКОВ

Цюпка Д.В., Худина Е.А., Горячева О.А., Горячева И.Ю.

ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского», Саратов

В связи с быстрым ростом области исследований рака важное значение имеет разработка новых аналитических методов чувствительного обнаружения противораковых препаратов. Митоксантрон дигидрохлорид (МИТ) — синтетический цитостатический препарат антрациклинового ряда, разработанный как аналог доксорубицина, но с меньшей кардиотоксичностью. МИТ продемонстрировал высокую эффективность и лучшую переносимость при лечении большинства злокачественных новообразований. Наиболее эффективным методом определения МТХ в биологических объектах является ВЭЖХ с тандемной масс-спектрометрией, однако это удорожает анализ. В последние десятилетия были разработаны и другие методы обнаружения МИТ, основанные на других принципах: хемилюминесцентный; электрохимический; иммуноферментные анализы; методы комбинационного рассеяния света и тушения люминесценции. Люминесцентная спектроскопия считается перспективной стратегией, поскольку она проста, удобна в использовании и не требует сложной предварительной обработки. Разработка простого и быстрого метода обнаружения МИТ может значительно упростить рутинные лабораторные исследования. Это можно осуществить, используя подход, основанный на тушении люминесценции квантовых точек (КТ). Детальное изучение процесса их взаимодействия позволит оптимизировать анализ.

В качестве детекторных систем были изучены два типа полупроводниковых люминесцентных КТ: (i) серии выбранных по размеру фракций некадмиевых КТ AgInS/ZnS с широким спектром излучения и длительным временем жизни и (ii) легированные CdZnSeS и CdZnSeS. КТ /ZnS с узким спектром излучения и коротким временем жизни. Это позволило оценить влияние состава КТ на эффективность тушения люминесценции

МТХ. Покрытие ZnS исходных КТ (AgInS или CdZnSeS) улучшает пассивацию люминесцентных ядер и квантовый выход. В качестве поверхностных лигандов были выбраны молекулы тиогликолевой кислоты, поскольку они способны образовывать тонкое монослойное гидрофильное покрытие. Для обоих типов КТ исследована зависимость интенсивности и времени жизни люминесценции от концентрации МИТ.

Показано, что процесс тушения происходит преимущественно по статическому механизму. Пределы обнаружения МИТ 3 и 5 нМ были достигнуты для третьей фракции КТ AgInS/ZnS и CdZnSeS/ZnS, соответственно.

Таким образом, применение люминесцентных КТ в качестве системы прямого детектора значительно ускоряет и упрощает обнаружение антрациклинового цитостатического агента МИТ.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект 23-13-00380).

СИНТЕЗ И ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ МЕЗОПОРИСТЫХ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ ДЛЯ ДОСТАВКИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

Шайбакова Ю.Д.¹, Каршиева С.Ш.¹, Пермякова Е.С.², Герштейн А.С.²

¹ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС», Научно-образовательная лаборатория тканевой инженерии и регенеративной медицины, Москва

²ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС», Научно-исследовательский центр «Неорганические наноматериалы», Москва

Мезопористые наночастицы диоксида кремния (MSN) являются перспективной системой доставки лекарств благодаря своей уникальной морфологии, настраиваемым размерам частиц (50–300 нм), контролируемым размерам пор, большой площади поверхности и биосовместимости. Использование MSN в качестве носителей позволяет повысить эффективность противоопухолевых препаратов за счет адресной доставки в опухоль, контролируемого высвобождения и уменьшения побочных эффектов. В настоящее время активно изучается возможность доставки с помощью MSN таких классов противоопухолевых препаратов как цитостатики, фотосенсибилизаторы и радиофармпрепараты.

Цель данной работы — синтез и оценка морфологии MSN. Задачи исследования заключались в получении мезопористых наночастиц, оценке их размеров, измерении удельной поверхности частиц, анализе адсорбционной емкости частиц, эффективности инкапсуляции и кинетике высвобождения препарата.

MSN были синтезированы модифицированным методом Stober, в котором источником кремния является тетраэтоксисилан, а получение наночастиц обеспечивается за счет применения ПАВа СТАВ. Анализ размеров наночастиц был проведен методом сканирующей электронной микроскопии, также была оценена удельная поверхность частиц методом БЭТ. Нагрузка и кинетика высвобождения доксорубина из MSN были исследованы спектрофотометрически с помощью многофункционального планшетного ридера Varioscan LUX ежедневно в течение 20 дней. Флуоресценцию доксорубина измеряли при длине возбуждения 470 нм и длине испускания 590 нм. Кинетику высвобождения

доксорубина изучали при комнатной температуре в фосфатно-солевом буфере (PBS) с pH 7,4. Нагрузка доксорубином проводилась посредством адсорбции из раствора концентрацией 2 мкг/мл.

По результатам исследования, средний размер частиц MSN составил 100 нм, а диаметр пор — 3 нм. Удельная площадь MSN составила 644 м²/г. Эффективность нагрузки доксорубина составила 30%.

Источники финансирования. Работа проводилась при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках программы стратегического академического лидерства «Приоритет 2030».

ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ НАНОБИОТЕХНОЛОГИЙ В ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЕ

Шипунова В.О.^{1,2,3}

¹ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)», Институт биофизики будущего, Москва

²Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Сочи

³ФГБУН ГНЦ РФ «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

Стремительное развитие нанотехнологий привело к значительному прогрессу в современной биомедицине с точки зрения разработки средств направленной доставки терапевтических соединений и снижения системной токсичности химиотерапевтических препаратов. Действительно, более 50 препаратов на основе наноструктур различной природы уже одобрены для диагностики и терапии различного рода заболеваний, при этом данные препараты обладают улучшенной биодоступностью, сниженными побочными эффектами и повышенной терапевтической эффективностью. Такие свойства достигаются за счёт инкапсуляции различных терапевтических соединений (в т.ч. водонерастворимых) в состав наноструктур (липидных, полимерных, белковых и других), что позволяет улучшить биодоступность вещества, реализовать доставку к целевым тканям (например, в область опухоли за счёт эффекта повышенной проницаемости и удержания сосудов опухоли, EPR-эффекта), понизить кардиотоксичность и избежать почечной недостаточности за счёт изменения биораспределения веществ.

Однако на сегодняшний день весь потенциал доставки наноформуляций, в особенности адресной доставки, к целевым тканям не реализован в полной мере. Возник значительный скепсис исследователей в области использования адресной доставки нано соединений к области опухолевой ткани и заявления о том, что адресная доставка соединений (за счёт специфичных взаимодействия рецепторов с лигандами) эффективна только в случае быстроразвивающихся опухолей грызунов, но не медленно растущих опухолей человека, когда EPR-эффект практически не выражен.

В настоящем докладе представлен цикл работ, направленный на развитие методов усиления эффективности наноформуляций в области диагностики и терапии онкологических заболеваний. Представлена серия исследований, направленных на то, чтобы достичь максимальной эффективности наноструктур, в том числе адресных и минимизировать побочные эффекты стандартных методов терапии. Значительное внимание уделено разработке адресных полимерных наноформуляций и разработке методов их системной доставки с целью реализации концепции магической пули — идеального агента для терапии, селективно воздействующего только на определенные ткани, при этом не обладающего побочными эффектами.

Источники финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФ № 22-73-10141 (in vitro исследования) и Минобрнауки России, № 075-03-2023-117, проект FSMG-2023-0015 (in vivo исследования).

ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РОЛИ УБИКВИТИНЛИГАЗЫ MKRN3, АССОЦИИРОВАННОЙ С ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫМ ПОЛОВЫМ РАЗВИТИЕМ

Гусева Е.А.^{1,2,3}, Згода В.Г.⁴, Донцова О.А.^{1,3}, Сергиев П.В.^{1,2,3}

¹Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Сколковский институт науки и технологий», Центр наук о жизни, Москва

²ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Москва

³ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Химический факультет, Москва

⁴ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва

MKRN3 относится к семейству убиквитинлигаз Makorin RING finger (MKRN), все представители которого имеют в своей структуре мотивы C3H, Cys-His и безымянного пальца (RING finger) [1]. В недавнем исследовании геномных ассоциаций (GWAS) была выявлена взаимосвязь между наследуемыми полиморфизмами и возрастом менархе у девушек, что указывает на важную роль MKRN3 в регуляции времени наступления пубертатного периода [3]. При детальном изучении было показано, что MKRN3 с помощью различных механизмов тормозит выработку гонадотропин-рилизинг-гормона, который в свою очередь непосредственно запускает наступления пубертатного периода [7].

Недавно была обнаружена новая мутация в гене Mkrn3, вызывающая состояние, подобное синдрому Прадера-Вилли без отклонений в половом развитии. Новые данные позволяют предполагать, что функции MKRN3 в организме не ограничены регуляцией полового созревания.

Целью работы является изучение биологической функции и поиск новых мишеней убиквитинлигазы MKRN3.

С помощью иммунопреципитации фьюжна MKRN3 и домена, стабилизирующего комплекс убиквитинлигазы с мишенью, нам удалось существенно расширить спектр предполагаемых партнеров MKRN3. В частности, мы продемонстрировали, что с MKRN3 совыделяется большое число белков, ассоциированных с трансляцией, транспортом в эндоплазматический ретикулум и нонсенс-опосредованным распадом (NMD).

Далее мы показали, что при индукции столкновения рибосом с помощью антибиотика количество полисомов в присутствии MKRN3 снижается.

При исследовании влияния MKRN3 на трансляцию, мы показали, что MKRN3 взаимодействует с большой субъединицей рибосомы в области р-стебля. При изучении состава комплекса MKRN3 и рибосомы мы обнаружили белки, ассоциированные с NMD и процессингом 3'UTR. Взаимодействие MKRN3 с мРНК в области 3'UTR также подтверждают полученные нами данные секвенирования РНК совыделяющихся с MKRN3.

Таким образом, можно предположить, что MKRN3 играет важную роль в процессинге 3'UTR мРНК и процессах, ассоциированных с трансляцией.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 24-14-00048.

АНАЛИЗ МИКРОБИОМОВ МЕТОДОМ УЛЬТРАБЫСТРОЙ ХРОМАТОМАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Казакова Е.М.^{1,2}, Иванов М.В.², Соляникова И.П.^{3,4}, Тарасова И.А.², Горшков М.В.²

¹ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)», Долгопрудный

²ФГБУН «ФИЦ химической физики им. Н.Н. Семёнова» РАН, Институт энергетических проблем химической физики им. В.Л. Тальрозе, Москва

³ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований» РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, Пушкино

⁴ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород

Симбиотические микроорганизмы, населяющие организм человека, оказывают огромное влияние на его состояние. Количественный состав микробиома кишечника и его функциональная активность влияют на развитие и симптоматику различных заболеваний, таких как заболевания желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистые заболевания и нарушения нервно-психического развития. Методика количественной и функциональной характеристики сообществ микроорганизмов открывает возможности для ранней диагностики целого ряда заболеваний.

Данное исследование фокусируется на разработке биоинформатического подхода, позволяющего идентифицировать и характеризовать сообщества микроорганизмов при помощи ультрабыстрой хроматомасс-спектрометрии.

Разработанная методика направлена на решение следующих задач: таксономическая идентификация состава образца, количественное сравнение видового состава различных образцов и анализ функциональной активности организмов сообщества. В работе используются данные, соответствующие 19 различным культурам микроорганизмов, а также образцы модельных микробиомов, пробиотических добавок и микробиомов кишечника модельных животных. Алгоритм идентификации видового состава образца, представляющий из себя двухстадийный («слепой») поиск по белковой базе данных UniProt, был протестирован на различных типах образцов.

При анализе образцов бактериальных культур было корректно идентифицировано 95%

образцов. Точность определения состава модельных микробиомов составила 88% на уровне рода. Составы образцов пробиотических добавок, установленные с использованием алгоритма «слепого» поиска, соответствовали составам, заявленным производителями препаратов. При разработке и тестировании алгоритма количественного сравнения состава образцов были использованы образцы модельных микробиомов. Значения кратных изменений концентраций, рассчитанные с применением алгоритма, совпали с истинными с коэффициентом корреляции Пирсона до 0,97. Метод анализа функциональной активности был протестирован на нескольких моделях бактериальных культур, которые были культивированы при различных условиях. Также при разработке данного алгоритма было проведено сравнение методики ультрабыстрой протеомики с классическими методами количественного протеомного анализа: LFQ и TMT.

Предложенная в данной работе методика открывает возможности для разработки аналитических и диагностических подходов, основывающихся на информации о составе и функциях микробиомов пациентов с различными заболеваниями.

Источники финансирования: РНФ 20-14-00229.

ТРЕХНЕДЕЛЬНАЯ ГИПОКИНЕЗИЯ ПО-РАЗНОМУ ВЛИЯЕТ НА ПРОТЕОМНЫЙ ПРОФИЛЬ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ НОГ С РАЗНЫМИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ ВОЗМОЖНОСТЯМИ

Орлова М.А.¹, Вавилов Н.Э.², Згода В.Г.², Жедяев Р.Ю.¹, Вепхвадзе Т.Ф.¹, Леднев Е.М.¹, Шпаков А.В.¹, Попов Д.В.¹

¹Государственный научный центр РФ «Институт медико-биологических проблем РАН», Москва

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва

Длительная гипокинезия вызывает структурные нарушения мышечных волокон, дисрегуляцию метаболизма, снижение функциональных возможностей и уменьшение массы мышц. Эти эффекты наиболее выражены в позных мышцах туловища и мышцах ног; некоторые исследования обнаружили наибольшие изменения в *m. soleus*, играющем ключевую роль в поддержании вертикальной позы.

Цель работы: сопоставить вызванные трехнедельной гипокинезией изменения функции митохондрий, аэробной работоспособности (выносливости) и силовых возможностей мышц-разгибателей коленного и сгибателей голеностопного сустава с изменениями протеомного профиля *m. vastus lateralis* и *m. soleus*.

Биопсийные пробы из *m. vastus lateralis* и *m. soleus* брали у 12 молодых здоровых мужчин (30 [24–40] лет) за 14 сут до и после 20 сут постельной гипокинезии. Относительное содержание множества высокопредставленных белков оценивали с помощью панорамного количественного (с изобарической изотопной меткой) масс-спектрометрического протеомного анализа. До и после гипокинезии измеряли дыхание митохондрий в пермеабиллизированных мышечных волокнах *m. vastus lateralis* и *m. soleus*, а также аэробную работоспособность и максимальную произвольную силу разгибателей коленного и сгибателей голеностопного сустава.

Гипокинезия вызвала сопоставимое для обеих мышц снижение максимального АДФ-стимулированного дыхания митохондрий (на 40%) и силы разгибателей коленного и сгибателей голеностопного сустава (на 7%); аэробная работоспособность снизилась только в сгибателях голеностопного сустава

(на 12%). Было детектировано 1844 белка (≥ 2 пептида/белок). Гипокинезия не повлияла на относительное содержание белков в *m. vastus lateralis*, но в *m. soleus* 36 белков повысили и 71 белок снизил экспрессию. Повысившие экспрессию белки включали ключевые компоненты внеклеточного матрикса (коллаген 1 и 3) и другие секретируемые белки, а также ферменты углеводного метаболизма (фосфоглюкомутаза, амилоглюкозидаза, гликогенфосфорилаза). Снизили экспрессию белки-регуляторы сборки митохондриальных комплексов и структуры митохондрий, шапероны (в т.ч. митохондриальные), белки митохондриальных и цитоплазматических рибосом и цитоскелета (белки Z-диска). Вызванное трехнедельной гипокинезией снижение силы и максимального дыхания митохондрий в мышцах бедра и голени не связано с изменением относительного содержания сократительных белков и окислительных ферментов. Падение выносливости *m. soleus* коррелирует со снижением относительного содержания некоторых митохондриальных белков.

ФОСФОПРОТЕОМ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЫ НАТОЩАК И ПОСЛЕ ПРИЕМА ПИЩИ ПРИ ОЖИРЕНИИ И САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2-ГО ТИПА

Попов Д.В.¹, Якупова Э.И.¹, Смирнов И.П.², Згода В.Г.³, Вавилов Н.Э.³, Томилова А.О.⁴, Леднев Е.М.^{1,4}, Вепхвадзе Т.Ф.¹, Шестакова М.В.⁴

¹ГНЦ РФ «Институт медико-биологических проблем РАН», Москва

²ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. Ю.М. Лопухина» ФМБА, Москва

³ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва

⁴ГНЦ РФ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России, Москва

Скелетная мускулатура составляет около трети массы тела. Снижение инсулиновой чувствительности скелетных мышц (связанное с дефектами канонического инсулинового каскада) играет ключевую роль в патогенезе ожирения и сахарного диабета 2-го типа (СД2Т); при этом вызванные инсулином изменения в других сигнальных путях и в экспрессии генов остаются малоизученными.

Цель работы — исследовать изменения фосфопротеома скелетной мышцы натошак и после приема пищи при ожирении и сахарном СД2Т.

Пробы *m. vastus lateralis* брали у 8 здоровых добровольцев (индекс массы тела (ИМТ) ~23 кг/м²) и 8 пациентов с ожирением и СД2Т (ИМТ ~40 кг/м²) натошак и через 1 ч после приема смешанной пищи (6 ккал/кг массы тела) для оценки фосфопротеомного профиля (количественный масс-спектрометрический анализ).

У пациентов прием пищи вызвал увеличение содержания глюкозы в крови, несмотря на высокий уровень инсулина (около 100 мМЕ/л в течение 2,5 ч), что свидетельствует о выраженных нарушениях углеводного обмена. У пациентов натошак было обнаружено снижение фосфорилирования около 100 сайтов, которые не относились к каноническому инсулиновому каскаду. Через 1 ч после приема пищи у пациентов наблюдалось увеличение фосфорилирования более 950 сайтов, относящихся как к белкам канонического инсулинового каскада PI3K-AKT и ERK1/2 (менее 10% от всех сайтов), так и к другим белкам (кальциевая сигнализация, саркомерные белки и т.д.). У здоровых

людей пик содержания инсулина был на 30 мин, а через час после приема пищи уровень инсулина был в 3 раза ниже, чем у пациентов с ожирением и СД2Т. При этом через 1 ч после приема пищи не было обнаружено изменений фосфопротеомного профиля, что говорит о транзитном ответе фосфопротеома у здоровых людей. У пациентов с ожирением и СД2Т наблюдаются изменения фосфопротеома в базальном состоянии. В отличие от здоровых людей, у пациентов прием пищи с повышенной калорийностью вызывает выраженные (и по-видимому, продолжительные) изменения фосфопротеомного профиля, которые лишь частично затрагивают каноническую инсулиновую сигнализацию.

Источники финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 21-75-10146).

ХАРАКТЕРИСТИКА ПЛАЗМЕННОГО ГЕМОСТАЗА В ОНТОГЕНЕЗЕ В НОРМЕ И ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОСПАЛЕНИИ

Поповичева А.Н., Мартусевич А.К.

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

Значительную роль в нарушениях микроциркуляции играют изменения функциональной активности системы гемостаза, определение которой особенно важно в препубертатный, пубертатный и постпубертатный период развития организма. Основное значение в этом процессе принадлежит свертыванию крови, в котором, помимо тромбоцитов, принимает участие комплекс плазменных белков.

Цель исследования — изучить состояние плазменного гемостаза в онтогенезе в норме и при патологии (на примере хронического воспаления).

Материалы и методы. В работе использовали кровь практически здоровых людей обоих полов следующих возрастных групп: 30 человек — 5–6 лет, 34 человека — 7–11 лет, 32 человека — 12–17 лет, 36 человек — 18–25 лет. У людей с воспалительными заболеваниями кишечника были сформированы аналогичные возрастные группы: 17 человек — 5–6 лет, 34 человека — 7–11 лет, 67 человек — 12–17 лет, 31 человек — 18–25 лет. В плазме определяли уровень фибриногена, содержание РФМК, активность фактора фон Виллебранда.

Результаты. Уровень фибриногена у здоровых людей всех изучаемых возрастных групп не превышал референсных значений, однако у детей младшего возраста значение этого показателя было ниже, чем в 12–17 лет. Процесс роста и развития сопровождается тенденцией к усилению активности ФВ. Выявлено значительное (более чем в 2 раза; $p < 0,05$) снижение концентрации РФМК у детей по сравнению со взрослыми людьми. Онтогенез пациентов с ВЗК сопровождается возрастанием уровня фибриногена: в 5–6 лет в 1,18 раза и в 7–11 лет в 1,25 раза по сравнению с соответствующими возрастными группами здоровых людей. Активность ФВ снижена — на 35% у пациентов 5–6 лет и на 25% в 18–25 лет; в остальных группах отмечена тенденция

к ее увеличению. Во всех возрастных группах пациентов отмечено значительное повышение содержания РФМК. Также у пациентов в 7–11 лет отмечено достоверное (в 1,5 раза) увеличение уровня РФМК по сравнению с людьми младшей возрастной группы.

Заключение. Процесс роста и развития характеризуется изменениями функциональной активности плазменного звена системы гемостаза. При ВЗК отмечается значительная трансформация белковых компонентов системы свертывания крови.

Ключевые слова: онтогенез, здоровые люди, хроническое воспаление, плазменный гемостаз.

MALDI-TOF-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКОГО ЭКСПРЕСС-ПРОФИЛИРОВАНИЯ СЕКРЕТОМА ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

Рябинин И.А., Фролова Е.В., Учеваткина А.Е., Филиппова Л.В.

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Исследование функциональной активности лейкоцитов, в частности продукции ими биологически активных соединений *in vitro*, является одной из базовых составляющих лабораторной диагностики иммунного статуса. Традиционно для оценки результатов подобных тестов используется иммуноферментный анализ, однако, такой подход является продукт-ориентированным, в то время как современные физико-химические методы позволяют выявлять смеси различных метаболитов за один цикл работы с образцом.

В связи с этим **цель** представленной работы — оценить аналитические возможности линейной MALDI-TOF-масс-спектрометрии для образцов культивированной смеси клеток периферической крови человека.

Материалы и методы. Взвеси клеток периферической крови человека (здорового донора группы контроля и больного аллергическим бронхолегочным аспергиллезом — АБЛА) культивировали в среде RPMI 1640 с сывороткой по стандартной методике в 4 вариантах: без добавления стимуляторов, в присутствии фитогемагглютинаина (ФГА), в присутствии антигена *Aspergillus fumigatus*, в присутствии антигена *Alternaria alternata*. После инкубации супернатант в объеме 1,5 мкл помещали на мишень MALDI-TOF-масс-спектрометра Autoflex speed и исследовали в стандартном режиме «MBT» (матрица — 4-гидроксикоричная кислота).

Результаты. Супернатанты клеток крови здорового донора вне стимуляции при масс-спектрометрии дали «шумовой» сигнал без отчётливых пиков, а в присутствии стимуляторов обнаружены пики предположительно пептидов и легких белков, причем в пробах с антигенами микромицетов масс-спектры отличались очень слабой интенсивностью (несколько сотен условных единиц), 25–39

пиков; а при действии ФГА сигнал по доминантному пику достиг интенсивности чуть менее 3000 у.е. Масс-спектр супернатантов клеток крови включал характерный комплекс пиков 4–6 кДа, 7,2–10,2 кДа и 14,9–16,4 кДа. Образцы от больного АБЛА отличались более интенсивным сигналом и лучшей детализацией масс-спектров. Интересно, что при стимуляции ФГА в этом случае по интенсивности доминировал пик 4962 Да, а при действии грибковых антигенов максимальной интенсивности (на уровне десятков тысяч у.е) достигали пики в комплексах 7,2–10,2 кДа и 14,9–16,4 кДа.

Закключение. Линейная MALDI-TOF-масс-спектрометрия в наиболее распространённом режиме адекватна для профилирования супернатантов лейкоцитов и в дальнейшем может войти в лабораторную диагностику заболеваний, в патогенезе которых участвуют продукты секреции лейкоцитов.

ПРОТЕОМНЫЕ СИГНАТУРЫ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ КАК ИСТОЧНИК ДИАГНОСТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ

Соловьева Н.А., Новикова С.Е., Фарафонова Т.Е., Тихонова О.В., Згода В.Г.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича», Москва

Белки внеклеточных везикул (ВнВ), секретируемые опухолевыми клетками, отражают протеомы клеток-продуцентов, и могут быть обнаружены в биологических жидкостях организма, в том числе в плазме крови. Таким образом, наборы ассоциированных с ВнВ белков или протеомные сигнатуры ВнВ представляют большой интерес для диагностики онкологических заболеваний.

Используя линии клеток рака легких (РЛ) [NCI-H23 и A549] и колоректального рака (КРР) [Caco-2, HCT116 и HT29] в качестве модельных объектов, мы определили универсальную, ткане- и линии-специфичные протеомные сигнатуры ВнВ с помощью панорамного масс-спектрометрического профилирования. На основании биологической аннотации, выявленные протеомные сигнатуры ассоциированы с онкогенезом, опухолевой прогрессией и метастазированием и могут выступать потенциальными диагностическими, прогностическими и предиктивными маркерами РЛ и КРР.

Для верификации полученных белков мы разработали метод направленной протеомики с использованием синтетических изотопно-меченных стандартов (SRM/SIS), позволяющий оценить содержание 28 ВнВ-ассоциированных белков, включая общепринятые маркеры ВнВ — CD9, CD63, CD81, CD82 и HSPA8.

С помощью разработанного SRM/SIS метода мы измерили уровни семи ВнВ-ассоциированных белков (FN1, TLN1, TUBA4A, HSPA8, ITGB3, TSG101 и PACSIN2) в образцах плазмы крови, полученных от 34 больных раком легких и 23 здоровых добровольцев. Содержание белков (TLN1, TUBA4A, HSPA8, ITGB3, TSG101 и PACSIN2) достоверно различалось в плазме крови, полученной от больных с РЛ и от здоровых добровольцев. Аналогичным образом мы определяли содержание целевых белков в образцах ВнВ, полученных от 11 больных колоректальным раком (КРР) и 20 здоровых добровольцев. В результате анализа удалось

измерить содержание 10 белков (FN1, TLN1, ITGB3, HSPA8, TUBA4A, CD9, CD63, HSPG2, ITGB1 и GNAI2), отличающих образцы пациентов с КРР и здоровых добровольцев. Эти наборы белков мы назвали протеомными сигнатурами ВнВ, ассоциированными с раком легких и колоректальным раком, соответственно.

Панорамный масс-спектрометрический анализ позволил получить новые данные о протеоме ВнВ, обогатив представление об их молекулярном составе и выполняемых функциях, связанных с онкогенезом. Сформированные в результате данной работы панели белков, называемые протеомными сигнатурами внеклеточных везикул, ассоциированными с РЛ и КРР, могут быть дополнены и использованы для разработки менее инвазивных методов диагностики этих форм рака и изучения в качестве терапевтических мишеней.

Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ №21-74-20122 и с использованием оборудования ЦКП «Протеом человека».

ИСКУССТВЕННЫЙ ИНТЕЛЛЕКТ В ЗАДАЧАХ БИОХИМИЧЕСКОЙ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ ИНТЕРПРЕТАЦИИ ОМИКСНЫХ ДАННЫХ ЧЕЛОВЕКА

Шлихт А.Г., Краморенко Н.В.

ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», Владивосток

Цель исследования — создание интегрированной интеллектуальной информационной системы (ИИС), позволяющей анализировать всю цепочку омиксных биохимических процессов, включая: геномику, эпигеномику, транскриптомику, экзомику, протеомику, метаболомику, реактомику, нутригенетику, нутригеномику, геномные мутации, генетические заболевания, связанные с питанием, а также осуществлять анализ и оптимальный синтез рационов на основе расширенной модели линейного программирования, учитывающей большое разнообразие норм и ограничений в рационе. ИИС реализована на основе глубоких классических продукционных экспертных систем, что позволяет дать полное объяснение предлагаемых решений. Учет геномного статуса индивида является важной особенностью современной теории и практики наук о жизни. Мутации в генах дают мутации в соответствующих белках. Если этот белок — фермент, то происходит нарушение биохимических реакций, далее нарушение работы метаболических путей и физиологических процессов, в частности, происходит избыточное накопление метаболитов, которые становятся причиной заболевания. Часто сбалансированное питание способно нейтрализовать последствия геномных патологий путем создания соответствующих рационов. Здесь работают нутригенетика, нутригеномика, фудомика, диетология и физиология питания в рамках модели: Генотип — Среда обитания — Фенотип. Основными сущностями ИИС являются: ДНК, РНК, хромосомы, гены, транскрипты, белки, ферменты, метаболиты, реакции, метаболические и сигнальные пути, органеллы, органы, мутации генов, мотивы, заболевания, рационы. Эти сущности связаны многочисленными отношениями, что позволяет формировать базы геном-центрированных знаний. Все это многообразие

сущностей и отношений увязано в рамках единого информационного пространства, что обеспечивает сквозное прохождение информации и построение сложных логических цепочек, отражающих биохимические и физиологические процессы в живом организме, начиная от мутации в гене и заканчивая заболеванием. Отличительной особенностью разработанной ИИС является создание автономного хранилища высокоструктурированных омиксных данных, что исключает потребность в постоянном интерактивном контакте с хранилищами данных на мировых порталах (NCBI, UniProt, KEGG, GO и др.), обеспечивая локальную обработку омиксных данных и более высокое быстродействие при анализе и интерпретации данных конкретного генотипа и фенотипа. При этом ИИС в полной мере обеспечивает выход на мировые порталы для работы и актуализации данных.

ВЗАИМОСВЯЗЬ КИШЕЧНОГО И СЫВОРОТОЧНОГО ПУЛОВ МЕТАБОЛИТОВ КИНУРЕНИНОВОГО ПУТИ У СПОРТСМЕНОВ

Будунова М.В., Шестопалов А.В.

ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Введение. Триптофан является не только незаменимой аминокислотой для организма человека, но и универсальным предшественником множества сигнальных молекул. Остается актуальным вопрос о вовлечении метаболитов триптофана в адаптационные механизмы при повышенных физических нагрузках, изменении их соотношения в макроорганизме и влияния на ключевые регуляторные системы.

Ключевые слова: метаболиты триптофана, кинурениновый путь, физическая нагрузка, механизмы адаптации.

Материалы и методы. Экспериментальную группу составили 16 лиц мужского пола в возрасте 15–19 лет, имеющие спортивную квалификацию кандидата в мастера спорта или мастера спорта по разным видам единоборств. В контрольную группу вошло 17 респондентов, не занимающихся спортом, аналогичного возраста, имеющие индекс массы тела (ИМТ), соответствующий нормальным значениям. Количественный анализ метаболитов обмена триптофана в сыворотке крови и этанольных экстрактах кала проводили методом ВЭЖХ-МС/МС. В обеих средах были изучены: кинуренин и кинуреновая кислоты, триптамин, антраниловая, ксантуреновая и хинолиновая кислоты. Отдельно в сыворотке крови изучали уровни серотонина и 5-гидроксииндолацетата, а в кале — 3-гидроксииндолацетата.

Результаты. В кишечнике наблюдалось устойчивое снижение всех метаболитов ТРИ по сравнению с контрольной группой: кинуренина, хинолиновой кислоты — в 1,2 раза; 3-гидроксииндолуксусной кислоты, ксантуреновой кислоты и триптамина — в 2 раза; кинуреновой кислоты — в 3 раза. В сыворотке крови отмечалось уменьшение продуктов бактериального катаболизма (триптамина — в 7 раз, антраниловой кислоты, как продукта шикиматного пути — в 2 раза), существенное

повышение содержания нейрпротективных молекул — ксантуреновой и кинуреновой кислот (в 2,3 и 2 раза соответственно). Кроме того, спортсмены утрачивали множество корреляций кишечного пула (хинолиновая и антраниловая кислоты, 3-гидроксииндолацетат и антраниловая, ксантуреновая и кинуреновая кислоты). В кишечнике возникали новые, отрицательные корреляции — триптамин и ксантуреновая кислоты.

Такие результаты свидетельствуют об использовании продуктов кинуренинового пути в бактериальных синтезах, например, аминокислот. Похожая тенденция наблюдалась и в сыворотке крови — снижение уровня антраниловой кислоты и триптамина влекло за собой отсутствие их корреляций между собой и с другими метаболитами кинуренинового пути.

Источники финансирования. Статья подготовлена на основании результатов, полученных в ходе реализации Соглашения о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научных центров мирового уровня, выполняющих исследования и разработки по приоритетам научно-технологического развития от 20 апреля 2022 года № 075-15-2022-310.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ АЛКИЛРЕЗОРЦИНОЛОВ В МЫШИНЫХ МОДЕЛЯХ АЛИМЕНТАРНОГО И ГЕНЕТИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННОГО ОЖИРЕНИЯ

Заболотнева А.А.

ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Государственный научный центр РФ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России, Москва

Алкилрезорцинолы (АР) представляют собой липофильные молекулы, которые улучшают липидный обмен и гликемический контроль, а также уменьшают системное воспаление. Кроме того, прием АР связан с изменениями метаболической активности кишечной микробиоты. Однако точный механизм, посредством которого АР модулируют активность микробиоты и метаболизм хозяина, не определен.

Мы исследовали изменения в составе и метаболической активности микробиоты в отдельности тонкой и толстой кишки мышей, получавших диету с высоким содержанием жиров с добавлением пентадецилрезорцинола (С15) или без него. Для анализа микробиоты тощей и толстой кишки применяли метагеномное высокопроизводительное секвенирование с последующей реконструкцией метаболической активности микробиоты.

Результаты показали, что добавление С15 в сочетании с диетой с высоким содержанием жиров приводило к снижению уровня глюкозы в крови. Высокопроизводительное секвенирование показало, что прием С15 значительно увеличивал ($p < 0,0001$) численность пробиотических бактерий *Akkermansia muciniphila* и *Bifidobacterium pseudolongum* как в тонкой, так и в толстой кишке, а также увеличивал альфа-разнообразие микробного сообщества толстой, но не тонкой кишки ($p < 0,05$). Предварительные результаты позволили предположить, что одним из механизмов защитного действия алкилрезорцинолов в условиях диеты с высоким содержанием жиров является модуляция состава и метаболической активности микробных сообществ тонкой и толстой кишки в сторону увеличения представленности пробиотических бактерий, которые оказывают благоприятные метаболические эффекты на хозяина.

Мы также исследовали эффекты оливетола (пентилрезорцинола) на мышинных моделях алиментарного (мышы линий C57BL/6 в условиях высокожировой диеты) и генетически обусловленного ожирения (нокаутированные по лептиновому рецептору мыши *db/db* в условиях стандартной диеты). Как и пентадецилрезорцинол, оливетол обладал положительными метаболическими эффектами, способствуя снижению массы тела, уровня глюкозы и триацилглицеролов в крови, снижению уровня лептина, а также модуляции микробного сообщества толстой кишки.

Таким образом, АР могут рассматриваться как эффективные биорегуляторы и потенциальные терапевтические агенты, которые влияют на системный метаболизм хозяина и оказывают положительные эффекты на здоровье макроорганизма в условиях несбалансированного питания и при ожирении за счет способности изменять состав и метаболическую активность кишечной микробиоты.

МИКРОБИОМ КРОВИ И ВОСПАЛЕНИЕ У ДЕТЕЙ С ОЖИРЕНИЕМ

Кирилина И.В., Шестопалов А.В., Румянцев С.А.

ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, Москва

Глобальной проблемой здоровья является ожирение среди детей и подростков, которое в дальнейшем зачастую переходит во взрослую жизнь и активно прогрессирует. Ожирение затрагивает все органы и системы путем развития низкоинтенсивного воспаления, представляющего основную проблему, так как вовлекает и врожденный и адаптивный иммунитет. Триггерами воспалительного ответа являются патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMPs) — флагеллин, пептидогликан, а также бактериальная ДНК крови. Бактериальная ДНК крови формирует микробиом крови.

Целью работы было выяснить, как изменяется микробиом крови при ожирении, и оценить уровень воспаления по цитокиновому профилю.

В исследовании участвовало 166 детей и подростков — 85 человек в контрольной группе и 81 в группе наблюдения ($SDS > +2,0$). Из образцов крови выделяли микробную ДНК и проводили секвенирование переменного участка $v3-v4$ гена 16S рПНК на платформе Illumina, концентрацию цитокинов определяли коммерческими наборами Milliplex.

Микробиом крови детей и подростков с ожирением и без представлен бактериальной ДНК, относящейся к 4 основным филумам — *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*. У детей с ожирением уже на этом таксономическом уровне была статистически значимо больше доля *Proteobacteria* ($p < 0,001$), меньше доля бактериальной ДНК *Firmicutes* ($p = 0,014$), в группе здоровых детей доли этих двух таксонов были сопоставимы. На таксономическом уровне семейств метагеном крови у детей с ожирением на 62,7% состоял из филума *Proteobacteria* и основных семейств *Sphingomonadaceae*, *Caulobacteraceae*, *Bradyrhizobiaceae* — на их долю пришлось 56,4% метагенома. В группе здоровых детей основным филумом, формирующим метагеном крови, был *Firmicutes* — на его долю пришлось 50,7%; основные семейства —

Lachnospiraceae и *Ruminococcaceae* — 44,3% метагенома. Анализ цитокинового профиля выявил увеличение концентрации PD-L1 и ИЛ-17А у детей с ожирением. При разделении по гендерному принципу у мальчиков с ожирением была значимо выше концентрация ИЛ-17А и ФНО α , а у девочек — фракталкина и PD-L1. Ожирение усиливает транслокацию бактериальной ДНК через различные биотопы и оказывает значительное влияние на формирование микробиома крови. PD-L1 и ИЛ-17А, повышенные при ожирении, представляют собой важные молекулы в развитии аутоиммунных и онкологических заболеваний. Воспаление у мальчиков с ожирением выходит на системный уровень, о чем свидетельствует повышение ФНО α , а у девочек — нет, что может быть связано с защитным действием эстрогенов.

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПРОФИЛЕЙ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА КИШЕЧНИКА ПРИ ОЖИРЕНИИ У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ

Колесникова И.М., Шестопалов А.В., Румянцев С.А.

ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

ГНЦ РФ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России, Москва

Введение. Ожирение приводит к изменениям в таксономическом составе кишечного микробиома, что влияет и на функциональный профиль микробного сообщества. Метаболические функции микробиома могут быть предсказаны с использованием биоинформационных инструментов, в частности PICRUSt2.

Целью работы была оценка метаболического профиля кишечного микробиома при ожирении у детей и взрослых.

Материалы и методы. Обследовано 237 здоровых взрослых и 200 детей и подростков в возрасте 10–18 лет. У 115 взрослых было диагностировано ожирение ($\text{ИМТ} \geq 30 \text{ кг/м}^2$), они были разделены на подгруппы с метаболически здоровым фенотипом ($n=50$, МЗО) и с метаболически нездоровым фенотипом ожирения ($n=65$, МНЗО). Группа детей была разделена на подгруппы в зависимости от SDS ИМТ: контрольная группа ($n=67$), дети с избыточной массой тела ($n=53$), с ожирением I–II степени ($n=70$) и с ожирением III степени и морбидным ожирением ($n=10$). Из образцов кала участников исследования выделяли микробную ДНК, проводили секвенирование гена 16S рРНК и анализировали результаты секвенирования с помощью PICRUSt2.

Результаты. Избыточная масса тела и ожирение I–II степени не сопровождалась выраженными изменениями метаболического профиля кишечного микробиома у детей, также как и МЗО у взрослых. Ожирение III степени и морбидное ожирение у детей и МНЗО у взрослых привело к изменениям функциональных возможностей кишечного микробиома, однако характер таких изменений отличался у детей и взрослых. У детей с тяжелым ожирением наблюдалась деградация метаболических возможностей кишечного микробиома в контексте синтеза

нуклеотидов, водорастворимых витаминов, хинолов, синтеза аминокислот, полиаминов, гема, а также в ряде путей энергетического обмена и синтеза структурных компонентов бактериальных клеток. Напротив, микробиота при МНЗО у взрослых обладала большими метаболическими возможностями, по сравнению с взрослыми без ожирения.

Заключение. МНЗО у взрослых приводит к более выраженным изменениям функционального профиля кишечной микробиоты, по сравнению с МЗО. Избыточная масса тела и ожирение I–II степени у детей не ассоциировано со значимыми изменениями метаболических возможностей кишечного микробиома, тогда как тяжелое ожирение (III степени и морбидное) приводит к деградации ряда метаболических путей. Ожирение у детей и взрослых сопровождается противоположно направленными изменениями в метаболических профилях кишечной микробиоты и затрагивает пути энергетического обмена, обмена аминокислот, синтеза нуклеотидов и витаминов.

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ КОРОТКОЦЕПОЧЕЧНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В КИШЕЧНИКЕ МЫШЕЙ С РАЗНЫМИ ТИПАМИ ОЖИРЕНИЯ

Кроленко Е.В.¹, Шестопапов А.В.^{1,2,3,4}, Румянцев С.А.^{1,2,4}

¹ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

²ООО «Центр цифровой и трансляционной биомедицины», Москва

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева», Москва

⁴ГНЦ РФ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России, Москва

Введение. Особое внимание в последние годы уделяется роли микробиоты в развитии патологий, связанных с ожирением. Микробиота влияет на организм хозяина с помощью метаболитов, в частности, короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), основными из которых являются ацетат (C2), пропионат (C3) и бутират (C4). КЦЖК модулируют структуру микробного сообщества кишечника, оказывают противовоспалительное, противоопухолевое и противомикробное действие, активируют метаболизм бурой жировой ткани, а также влияют на проницаемость стенок кишечника, выработку лептина в жировой ткани и инсулина в поджелудочной железе. Однако остаётся неясной роль микробиоты и КЦЖК при развитии генетически обусловленного ожирения.

Цель данной работы — изучение влияния ожирения различной этиологии на выработку КЦЖК.

Материалы и методы. Мыши были разделены на 3 группы: контроль (К, линия C57Bl/6, стандартный рацион), группа алиментарного ожирения (АО, линия C57Bl/6, жировой рацион), группа генетически обусловленного ожирения (ГО, линия db/db с мутацией в гене длинной изоформы рецептора лептина *LepR*, стандартный рацион), и наблюдались в течение 12 нед (с 6 до 18 нед жизни). Взвешивание проводилось еженедельно. На 14-й, 60-й и 90-й дни эксперимента 10 животных из каждой группы выводили из эксперимента путём цервикальной дислокации, затем исследовали патологические изменения тканей и содержимое кишечника. Гистологическое исследование проводилось на оборудовании Leica. Количественное определение КЦЖК в содержимом кишечника осуществлялось методом газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектированием.

Результаты. В контрольной группе содержание основных КЦЖК в течение эксперимента практически не меняется (за исключением ацетата, содержание которого уменьшается на 90-й день почти в 4 раза по сравнению с 14-м днём). Мыши АО продемонстрировали фенотип ожирения, сопровождающийся умеренной жировой инфильтрацией печени и гипертрофией жировой ткани. Выработка КЦЖК кишечной микробиотой была значительно снижена на 14-й день по сравнению с контролем (C2 — в 12 раз, C3 — в 127,5 раза, C4 — в 7,4 раза) и увеличивается к концу эксперимента до значений, соизмеримых с контролем. В группе ГО развилась тяжелая степень ожирения и патологические изменения тканей: жировая инфильтрация печени, скелетных мышц, гипертрофия жировой ткани. На 14-й день достоверно снижено содержание ацетата (в 2 раза), на 60-й — всех основных КЦЖК (C2 — в 6 раз, C3 — в 10 раз, C4 — в 4 раза). Таким образом, в группе ГО, находившейся на стандартном рационе, как и контроль, тем не менее происходят достоверные изменения выработки КЦЖК, хотя и не такие выраженные, как в группе АО.

Заключение. Диета оказывает раннее и сильно выраженное влияние на продукцию КЦЖК, однако лептинорезистентность хозяина также изменяет выработку этих ключевых метаболитов кишечной микробиоты.

Источник финансирования. Исследование выполнено в ходе реализации Соглашения о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научных центров мирового уровня, выполняющих исследования и разработки по приоритетам научно-технологического развития от 20 апреля 2022 года № 075-15-2022-310.

ЭНДОКРИННАЯ ФУНКЦИЯ ЖИРОВОЙ, МЫШЕЧНОЙ, НЕРВНОЙ И КОСТНОЙ ТКАНИ У МУЖЧИН, БОЛЬНЫХ ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ

Меркель К.П., Шестопалов А.В., Давыдов В.В.

ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

ГНЦ РФ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России, Москва

Из литературных источников известно, что адипокины, миокины, нейротрофины, гормоны и факторы роста существенно влияют на течение воспалительных процессов в организме. Однако характер взаимоотношения между ними при язвенном колите (ЯК) все еще неясен.

Целью данного исследования было определение уровня и характера взаимоотношений концентраций в крови адипокинов, миокинов, нейротрофинов и факторов роста у больных с ЯК.

Обследованы 37 мужчин в возрасте от 20 до 70 лет: 19 здоровых и 18 больных ЯК на базе Казанского (Приволжского) федерального университета. В пробах крови исследуемых при помощи мультиплексного анализа определялось содержание лептина, адипонектина, резистина, апелина, ирисина, адипсина, миостатина, FGF21, остеокина, онкостатина, инсулина, VEGF, FABP3, BDNF, NGF и фракталкина, проводилось изучение корреляционных взаимоотношений между ними.

Исследования показали, что у контрольной группы были характерные корреляционные взаимоотношения между уровнем адипокинов и миокинов в крови. У них выявляются отрицательные корреляционные связи между апелином и ирисинем ($r = -0,57$), апелином и резистином ($r = -0,49$). Содержание ирисина [244 [210; 244] нг/мл] в крови у мужчин контрольной группы прямо коррелирует с уровнем адипсина [4,2 [1,9; 5,0] мкг/мл] ($r = 0,57$) и адипонектина [215 [25; 371] мкг/мл] ($r = 0,55$), содержание адипонектина прямо коррелирует с резистином [60,2 [37,1; 136,1] нг/мл] ($r = 0,74$) и обратно — с FGF21 [13,9 [4,6; 26,5] нг/мл] ($r = -0,53$).

Наблюдались изменения корреляционных связей между миокинами, адипокинами, факторами роста и гормонами у больных ЯК

и контрольной группы. У них возникали умеренные корреляции между уровнем миостатина, адипсина, инсулина и VEGF. У группы с ЯК регистрировались умеренные корреляции между резистином и FGF21 ($r = 0,52$), резистином и адипонектином [47 [11; 378] мкг/мл] ($r = 0,52$), адипонектином и лептином [3,0 [1,4; 20,3] нг/мл] ($r = 0,48$). Отмечены отрицательные корреляции между уровнем VEGF и FABP3 [1,5 [1,3; 2,1] мкг/мл] ($r = -0,51$), миостатином и FABP3 ($r = -0,68$).

Анализ установленных корреляционных связей между уровнем исследованных адипокинов, миокинов, факторов роста и гормонов в крови у группы с ЯК позволяет отметить возникновение изменений со стороны эндокринной функции жировой, мышечной, костной и нервной в условиях формирования воспалительного процесса в кишечнике. Следствием этого может быть появление характерных сдвигов в уровне исследованных биологически активных веществ в крови.

Источники финансирования: Материал подготовлен на основании результатов, полученных в ходе реализации Соглашения о предоставлении гранта в форме субсидий из Федерального бюджета на осуществление Государственной поддержки создания и развития научных центров мирового уровня, выполняющих исследования и разработки по приоритетам научно-технологического развития от 20 апреля 2022 года № 075-15-2022-310.

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОМА КИШЕЧНИКА У СПОРТСМЕНОВ, ЗАНИМАЮЩИХСЯ ЕДИНОБОРСТВАМИ

Фатхуллин Р.Ф.

ГНЦ РФ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России, Москва

ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Диета является важным фактором в подготовке спортсменов, обеспечивая их потребности в энергетических и пластических субстратах. Именно поэтому в спорте высших достижений переходят на диеты с высоким содержанием белка. Анализируя современные исследования, все чаще можно проследить взаимосвязь изменения состава микробиоты и физической активности. У людей с разной степенью физической активности или физической подготовки наблюдался различный состав микробиоты.

Цель нашей работы — изучение особенностей кишечного микробиома у молодых мужчин, профессионально занимающихся единоборствами.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 36 молодых мужчин в возрасте от 18 до 26 лет. У участников исследования проводили отбор образцов кала и затем из полученных образцов выделяли бактериальную ДНК.

Результаты исследования. 1. Увеличение в кишечнике спортсменов доли филумов: *Cyanobacteria*, *Elusimicrobia*, *Tenericutes*. 2. Увеличение в кишечнике спортсменов частоты встречаемости семейств: *Elusimicrobiaceae*, *Lactobacillaceae*, *Succinivibrionaceae*, *Verrucomicrobiaceae*, *Paraprevotellaceae*. 3. Увеличение у группы спортсменов общей доли следующих родов: *Collinsella*, *Slackia*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Desulfovibrio*, *Succinivibrio*. 4. Увеличение у группы спортсменов общей доли следующих видов: *Collinsella aerofaciens*, *Bacteroides barnesi*, *Bacteroides plebeius*, *Prevotella stercorea*, *Lactobacillus ruminis*, *Lactococcus garvieae*, *Coprococcus eutactus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Eubacterium bifforme*, *Desulfovibrio D168*, *Akkermansia muciniphila*. Интенсивные физические нагрузки, характерные для спор-

тсменов, занимающихся единоборствами, способствуют накоплению в микробном сообществе кишечника лактат-продуцирующих и лактат-потребляющих бактерий, увеличению количества бутират-образующих представителей кишечного микробиома, способных также к продукции вторичных желчных кислот. Помимо этого, у спортсменов повышалось количество бактерий, благотворно влияющих на состояние кишечной стенки и снижающих ее проницаемость.

Тесная двусторонняя связь между микробным сообществом кишечника и мышечной тканью позволяет рассматривать влияние на микробиом как потенциальное средство для увеличения количества и качества мышц, и тем самым улучшать спортивные результаты. Однако для достижения этой цели требуется более детальное выяснение сложной взаимосвязи между спортивными результатами и микробиомом, а также лежащими в ее основе механизмами.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТРИПТОФАНОВЫХ СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РЕГРЕССА ОЖИРЕНИЯ У ДЕТЕЙ

Шатова О.П.^{1,2}, Колесникова И.М.¹, Шестопалов А.В.¹, Румянцев С.А.¹

¹ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва

Введение. Высоко актуальной проблемой детской эндокринологии является растущая заболеваемость ожирением. Детское ожирение во взрослом возрасте может стабилизироваться/прогрессировать или регрессировать, что зависит, в том числе, от уровня триптофановых сигнальных молекул. Индол, серотонин и сам триптофан принимают участие в регуляции пищевого поведения. Индол-3-пропионат и индол-3-ацетат участвуют в регуляции липогенеза в печени, ингибируют синтез жирных кислот и триацилглицеролов. Однако до сих пор нет каких-либо маркерных показателей, которые можно было бы использовать при прогнозировании течения ожирения.

Материалы и методы. В период 2019–2020 гг. в исследовании приняли участие 100 здоровых детей и 91 ребенок с ожирением I–III степени без метаболического синдрома. Исходно в сыворотке крови и кале определяли содержание триптофановых сигнальных молекул. Затем при диспансеризации в 2023 г. был оценен регресс или стабилизация/прогресс ожирения. Определяли содержание триптофановых сигнальных молекул методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС). Анализ проводили при помощи жидкостного хроматографа Agilent 1290 (Agilent inc.; США) с системой автоматического ввода образцов, термостатом колонки и дегазатором.

Результаты. Специфической характеристикой детского ожирения с перспективой дальнейшей стабилизации/прогрессирования было повышение уровня индол-3-карбоксальдегида по сравнению с детьми без ожирения. Ключевой особенностью ожирения у девочек, склонного к стабилизации или прогрессированию, был сниженный уровень серотонина в крови, что отличало

таких больных как от контрольной группы, так и от группы с ожирением с перспективой регрессии. Сравнение содержания метаболитов триптофана у мальчиков без ожирения и с разными динамиками ожирения в перспективе обнаружило повышение концентрации кинуреновой и антраниловой кислот в крови при ожирении (вне зависимости от перспективы исхода). От контрольной группы ожирение у мальчиков, склонное к регрессии, отличала также концентрация ксантуреновой кислоты в крови. Содержание сывороточного индол-3-ацетата отличалось в группе с ожирением со стабилизацией или прогрессированием в перспективе и в контрольной группе. Однако ключевой особенностью, отличавшей ожирение у мальчиков, склонное к стабилизации или прогрессированию, было снижение концентрации индол-3-акрилата в сыворотке крови.

Закключение. В качестве индикатора, ассоциированного со стабилизацией или прогрессированием ожирения у девочек, может рассматриваться снижение сывороточной концентрации серотонина. У мальчиков, склонных к стабилизации и/или прогрессированию ожирения, в качестве маркера-предиктора может выступать сниженный уровень индол-3-акрилата.

НАРУШЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПЕСТИЦИДОВ И ИХ КОРРЕКЦИЯ РАСТИТЕЛЬНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ

Абдурахманова М.Ж.¹, Мирхамидова Ф.², Позилов М.К.³, Шахмурова Г.А.², Нишанбаев С.⁴

¹Андижанский государственный университет, Андижан, Узбекистан

²Ташкентский государственный педагогический университет им. Низами, Ташкент, Узбекистан

³Узбекский национальный университет им. М. Улугбека, Ташкент, Узбекистан

⁴Институт химии растительных веществ им. акад. С.Ю. Юнусова АН РУз, Ташкент, Узбекистан

В настоящее время в разных странах мира используется около 1000 различных видов пестицидов. Некоторые из этих пестицидов рекомендованы для использования в сельском хозяйстве. Однако пестициды, используемые в сельском хозяйстве, оказывают вредное воздействие на окружающую среду. Пестициды, попадающие в организм разными путями, вызывают значительные изменения. Метаболизм многих ксенобиотиков происходит в клетках печени. В связи с этим разработка эффективных методов защиты митохондрии печени от токсического действия пестицидов и фармакологической коррекции является одной из актуальных проблем в токсикологии и биохимии.

Целью данной работы является исследование накопления пестицидов галоксифоп-R-метил и индоксакарб в виде остатков в тканях печени крыс, их влияния на митохондриальную дисфункцию и коррекция с помощью флавоноидов софорофлавонозида и нарциссина в зависимости от динамики 10, 20, 30 и 40 дней.

Результаты. Определены остаточные количества пестицидов галоксифоп-R-метил и индоксакарб в ткани печени крыс в зависимости от динамики (5, 10, 20, 30 и 40 дней); выявлены изменения пассивной ионной проницаемости митохондрий печени крыс и восстановления процесса окислительного фосфорилирования (ОФ) флавоноидами софорофлавонозид (СФЛ) и нарциссин в условиях интоксикации пестицидами галоксифоп-R-метил и индоксакарб в зависимости от динамики (на 10-е, 20-е, 30-е и 40-е сутки). Обоснована коррекция митохондриальной дисфункции печени крыс, отравленных пестицидами галоксифоп-R-метил и индоксакарб, с использованием флавоноидных

соединений; идентифицированы два мембраноактивных вещества с антиоксидескими антиоксидантными свойствами.

Вывод. Количество остаточного пестицида в ткани печени крыс, отравленных индоксакарбом (1/10 LD50), было выше, чем у галоксифоп-R-метила, что было определено на 5–10-е сутки после отравления. Остатки пестицида уменьшались на 20-е и 30-е сутки, и не были обнаружены к 40-м суткам. Флавоноиды софорофлавонозид и нарциссин проявляют антирадикальную активность и снижают перекисное окисление липидов в митохондриях печени крыс.

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ КОНЦЕНТРАЦИИ ЦИНКА И АКТИВНОСТИ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В ПЛАЗМЕ КРЫС ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ КАДМИЕМ

Бабкина Л.А., Королев В.А., Усачев М.А., Чертова Р.Ю., Артемова И.А., Фелькер Е.В., Магоме-дова Д.Р.

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск

Длительное поступление в организм кадмия в небольших дозах может привести к аккумуляции с последующим проявлением токсичности. В организме животных кадмий связывается в плазме белками и транспортируется в различные органы.

Работа посвящена изучению баланса цинка и активности супероксиддисмутазы (SOD) в плазме крыс при субхроническом поступлении кадмия.

В качестве модельных животных использовали самцов крыс линии Wistar возрастом 8 нед и массой тела 220–230 г. Контрольная группа ($n=10$) получала чистую питьевую воду в течение 28 дней. Экспериментальным животным ($n=10$) в питьевую воду добавляли ацетат кадмия в дозе $1/50 LD_{50}$. В последующие 28 дней все крысы получали чистую питьевую воду. Животных выводили из эксперимента на 7-й, 14-й, 21-й, 28-й, 56-й дни путем эвтаназии эфирным наркозом. Содержание Cd и Zn (мкг/мл) определяли атомно-адсорбционным методом («КВАНТ-2АТ», Россия). Активность SOD (Ед/мл) оценивали с помощью «Набора для определения активности общей супероксиддисмутазы (Т-SOD) методом с WST-1» (Elabscience, США). Статистическую обработку проводили с использованием «STATISTICA 13.0». Для сравнения двух независимых выборок использовали критерий Манна–Уитни. Поступление Cd с питьевой водой приводит к накоплению его в плазме: на 7-й день концентрация возрастает в 2,82 раза по сравнению с контролем ($p=0,000246$), на 14-й день отмечается более значительное увеличение (в 7,6 раз, $p=0,000183$), достигая максимума на 28-й день (в 8,41 раз). Избыток Cd приводит к снижению Zn по сравнению с контролем в первые 14 дней ($p=0,000183$), достигая максимума на 7-й день (в 2,19 раз). Отношение Zn/Cd минимально на 14-й день (6,00) по сравнению с контролем (72,02). Ак-

кумуляция Cd сопровождается повышением активности SOD ($p<0,0003$), максимальная активность отмечается на 7-й день (в 1,49 раз, $p=0,000183$). Переход крыс на чистую питьевую воду приводит к снижению Cd по сравнению с 28-м днем ($p=0,000183$), не достигая значений контроля ($p=0,000440$). Активность SOD по истечении 28 дней прекращения поступления Cd сохраняется повышенной по сравнению с контролем ($p=0,00583$), значения сопоставимы с 28-м днем интоксикации ($p=0,364166$). Таким образом, поступление кадмия в низких дозах приводит к накоплению его в плазме, снижая содержание цинка в начале интоксикации. Повышение активности SOD может свидетельствовать о развитии оксидативного стресса. Организм не способен самостоятельно элиминировать избыток кадмия и восстановить активность фермента, что предполагает поиск средств коррекции состояния организма.

Источники финансирования: работа выполнена за счет средств Курского государственного медицинского университета.

ДИСБАЛАНС АНТИОКСИДАНТНЫХ ПРОЦЕССОВ ЭРИТРОЦИТОВ КАК ФАКТОР ПАТОГЕНЕЗА КАНЦЕР-АССОЦИИРОВАННОЙ АНЕМИИ

Бакурова Е.М.¹, Турсунова Ю.Д.¹, Добаева Н.М.², Золотарева Е.И.¹

¹ФГБОУ ВО «Донецкий государственный медицинский университет им. М. Горького» Минздрава России, Донецк

²ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону

Расстройства микроциркуляции, гемическая гипоксия играют значимую роль в канцерогенезе, способствуя формированию агрессивного фенотипа опухоли. Одним из механизмов повреждения мембранных структур, а в последствии — механизмом развития анемии, является активация процессов окисления, индуцированная активными формами кислорода. Об их интенсивности свидетельствуют уровни малонового диальдегида (МДА). Функция компонентов антиоксидантной системы чрезвычайно важна в процессах жизнедеятельности эритроцитов. Наиболее специфичными для эритроцитов являются супероксиддисмутаза (СОД) и глутатионпероксидаза (ГПО). Известно, что регулятором газотранспортной функции эритроцитов является 2,3-дифосфоглицерат (2,3-ДФГ).

Цель: определение особенностей свободно-радикального окисления в эритроцитах, сопряжённых с развитием анемии при немелкоклеточном раке легких; изучались особенности активности ферментов, уровни ключевых метаболитов.

Материалы и методы. Спектрофотометрически исследованы биохимические показатели эритроцитов у больных немелкоклеточным раком легких (НМРЛ, n=29). Данные, не подчинявшиеся закону нормального распределения, представлены в виде медианного значения и интервала между 25-м и 75-м процентилями (первый и третий квартили).

Результаты. Развитие анемии регистрировали по снижению уровней гемоглобина (Hb) и значений гематокрита (HCT). Показатели распределяли согласно кластерному анализу в подгруппы с анемией и без нее. Выявили характерный дисбаланс активностей СОД и ГПО — на фоне повышения активности СОД выраженное снижение активности ГПО. Достоверных отличий для значений СОД между

кластерами с анемией и без неё не выявлено, при этом ГПО при анемии достоверно снижалась: при НМРЛ 2,62 [0,90; 3,22] по сравнению с кластером без анемии 5,28 [3,99; 7,65]. Согласно ранговой корреляции Спирмена, снижение активности ГПО сопряжено с развитием анемии, коррелирует со снижением Hb и HCT. Значения коэффициента ранговой корреляции Спирмена $r=0,76$ для ГПО и Hb; $r=0,74$ для ГПО и HCT; для ГПО и 2,3-ДФГ $r=-0,77$. О сопряженности нарушений газообмена и ПОЛ свидетельствует положительная корреляция МДА и 2,3-ДФГ $r=0,54$.

Выводы. Выявлен дисбаланс активности ферментов антиоксидантов. В развитии канцер-ассоциированной анемии ключевую роль играет усиление свободно-радикальных процессов в эритроцитах.

ОЦЕНКА ГЛУТАТИОНОВОЙ СИСТЕМЫ У ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЕСШИХ COVID-19

Вечканов Е.М.¹, Иванова Е.С.², Александрова А.А.¹

¹ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», Ростов-на-Дону

²Медицинский центр ООО «Наука», Ростов-на-Дону

Коронавирусная инфекция COVID-19 представляет собой высококонтагиозное инфекционное заболевание, возбудителем которого является вирус SARS-CoV-2. В настоящее время COVID-19 рассматривают как мульти-системное заболевание, характеризующееся полиорганным поражением. Накопленные научные данные свидетельствуют о том, что в развитии и прогрессировании COVID-19 важную роль играет окислительный стресс. Вирус SARS-CoV-2 активирует иммунные клетки, такие как нейтрофилы и макрофаги, которые производят большое количество активных форм кислорода (АФК). Повышенная продукция АФК нарушает баланс антиоксидантной защиты организма, приводя к окислительному стрессу. Окислительный стресс усугубляет повреждение тканей, избыток АФК повреждает клеточные мембраны, белки и ДНК, что приводит к дисфункции органов и тканей [1]. Ключевым антиоксидантом во многих тканях является глутатион. Как восстановитель, глутатион выступает главным клеточным антиоксидантом, нейтрализующим перекиси водорода и гидроперекиси липидов вместе с антиоксидантными ферментами. Ферментативная система, участвующая в метаболизме глутатиона, состоит из глутатионредуктазы (ГР), глутатионпероксидазы (ГП) и глутатион-S-трансферазы (ГСТ). В исследовании принимало участие 75 пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию, через 1 месяц и 1 год после перенесенной болезни. Пациенты были разделены на 9 групп по возрасту и степени тяжести протекания заболевания (по возрасту: 20–35, 36–59, >60 лет; легкая, средняя и тяжелая форма). Проводилась оценка активности в плазме крови антиоксидантных ферментов глутатионовой системы — ГР, ГП, ГСТ.

В ходе проведенного исследования было установлено, что у пациентов через 1 мес после заболевания активность ферментов

ГПО, ГР и ГСТ в группах с легким и средним течением COVID-19 повышается относительно контрольной группы. Через 1 год после перенесенного заболевания отмечено снижение активности ферментов до контрольных значений. Однако в группах с тяжелым течением COVID-19 у пациентов разных возрастных групп происходили непредсказуемые изменения в показателях глутатионовой системы.

Литература

1. Trypsteen W., Cleemput J. V., Snippenberg W. V., Gerlo S., Vandekerckhove L. On the whereabouts of SARS-CoV-2 in the human body: A systematic review // PLOS Pathogens. 2020. V. 16, iss. 10. P. e1009037.

СИНТЕТИЧЕСКИЕ CpG-СОДЕРЖАЩИЕ ОЛИГОДЕЗОКСИНУКЛЕОТИДЫ В РЕДОКС-ОПОСРЕДОВАННОЙ РЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА НЕЙТРОФИЛОВ

Голенкина Е.А.¹, Вирясова Г.М.¹, Галкина С.И.¹, Романова Ю.М.², Судьина Г.Ф.¹

¹ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Москва

²ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России

Фрагменты одноцепочечной ДНК, образующиеся в результате деструкции патогена и собственных клеток, обладают выраженной иммуностимуляторной активностью. Характерной особенностью бактериальной и митохондриальной ДНК является наличие неметилированных CpG-участков. Специфическое распознавание этих структур осуществляется рецептором TLR9, экспрессируемым клетками адаптивного и врожденного иммунитета. Синтетические CpG-содержащие олигодезоксинуклеотиды (CpG-ОДН) находят применение при изучении TLR9-опосредованных сигнальных путей и рассматриваются в качестве перспективных компонентов иммуномодулирующих препаратов. Для нейтрофильных гранулоцитов, помимо эндосомальной, доказана наружная экспрессия TLR9, повышающая чувствительность этих клеток к действию CpG-ДНК, поэтому исследование влияния CpG-ОДН разных классов на функциональную активность этих клеток имеет большое прикладное значение. Снижению чувствительности ОДН к эндонуклеазной деструкции и повышению их биодоступности способствует частичная или полная замена фосфодиэфирных межнуклеотидных связей на фосфоротиоатные (PS).

Нами были исследованы CpG-ОДН с фосфодиэфирным палиндромным центральным фрагментом, образующим CpG-содержащую «шпильку», фланкированные модифицированными фосфоротиоатными поли(G) участками, в их действии на продукцию активных форм кислорода и азота.

Согласно полученным данным, наличие PS-связей в структуре ОДН обуславливает CpG-независимую индукцию образования активных форм кислорода нейтрофильными гранулоцитами. Кроме того, была выявлена чувствительная к наличию CpG-содержащей

«шпильки» способность ОДН данного типа активировать синтазу оксида азота — источника NO и его метаболитов, пероксинитритов. Специфические и неспецифические прооксидантные эффекты CpG-ОДН в отношении нейтрофилов могут быть причиной развития побочных эффектов, выявляемых на этапе доклинических испытаний ОДН-содержащих препаратов. Вместе с тем, увеличение концентрации свободных радикалов в цитоплазме под действием CpG-ОДН индуцирует апоптоз нейтрофилов, в том числе в условиях взаимодействия с бактериями *Salmonella typhimurium*. Предотвращение апоптоза клеток хозяина является частью стратегии выживания многих патогенов. Супрессия механизма программированной клеточной смерти нейтрофилов, взаимодействующих с бактериями, характерна для хронических воспалений и сепсиса.

Позволяя преодолевать индуцируемую бактериями супрессию механизмов программированной клеточной гибели, CpG-ОДН могут направлять воспаление в фазу разрешения.

Источники финансирования. Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ, номер гранта 23-74-01056.

СИГНАЛЫ, ПОЛУЧЕННЫЕ ОТ ПАТОГЕНОВ И ТРАВМ, УПРАВЛЯЮТ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫМИ ПРОЦЕССАМИ И СИНТЕЗОМ ЛЕЙКОТРИЕНОВ В НЕЙТРОФИЛАХ И ЯВЛЯЮТСЯ ВАЖНЕЙШИМИ РЕГУЛЯТОРАМИ «РОЕНИЯ» НЕЙТРОФИЛОВ — ФОРМИРОВАНИЯ КЛАСТЕРОВ В ОТВЕТ НА ИНФЕКЦИЮ

Голенкина Е.А.¹, Галкина С.И.¹, Плетюшкина О.Ю.¹, Вирясова Г.М.¹, Лямзаев К.Г.^{1,2}, Гапонова Т.В.³, Романова Ю.М.⁴, Черняк Б.В.¹, Судьина Г.Ф.¹

¹ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова», НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Москва

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Российский геронтологический научно-клинический центр, Москва

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева», Москва

⁴ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва

Нейтрофилы формируют первую линию противоинфекционной защиты и участвуют в регуляции всех видов иммунного ответа. Функциональная активность этих клеток инициируется и поддерживается патоген-ассоциированными структурами, а также продуктами деструкции клеток. В активированных нейтрофилах происходит резкий рост потребления кислорода, сопровождающийся продукцией АФК (активных форм кислорода), источниками которых являются NADPH-оксидаза 2 (NOX2) и митохондрии. АФК обеспечивают уничтожение патогена, а также выполняют роль мессенджеров, участвуя в регуляции иммунных ответов в норме и патологии.

Изменения редокс-статуса нейтрофилов играют ключевую роль в регуляции метаболизма арахидоновой кислоты, обеспечивающего образование лейкотриенов. Продуктируемый нейтрофилами лейкотриен В₄ (LTB₄) является липидным хемоаттрактантом. Одна из его физиологических функций состоит в стимуляции локального рекрутирования гранулоцитов к местам скопления патогена. Такое автономно координируемое поведение нейтрофилов, «роение», является основным механизмом, предотвращающим развитие генерализованных форм инфекций в условиях критических концентраций возбудителя. Резкое увеличение синтеза лейкотриенов нейтрофилами, взаимодействующими с патогеном, вызывает хемоаттрактант бактериального происхождения N-формил-Met-

Leu-Phe (fMLP). Увеличение концентрации LTB₄ стимулирует адгезию нейтрофилов и формирование межклеточных контактов, способствуя образованию гранулоцитарных кластеров.

Выявлена двоякая роль свободно-радикальных процессов, индуцируемых fMLP, в контроле продукции LTB₄: направленная нейтрализация митохондриальных АФК ингибирует лейкотриеновый синтез, тогда как искусственное подавление активности NOX2 дополнительно потенцирует образование липидных индукторов роения. Кроме того, существует прямая корреляция между интенсивностью продукции LTB₄ и уровнем внутриклеточного восстановленного глутатиона. Клеточный распад при повреждении тканей приводит к выбросу во внеклеточное пространство АТФ. Внеклеточный АТФ служит сигналом «найди меня» для привлечения фагоцитов, которые опосредуют удаление клеточного дебриса.

В нашей работе мы показали регуляторный потенциал внеклеточного АТФ в синтезе лейкотриенов при взаимодействии нейтрофилов с бактериями *Salmonella typhimurium*, а также как внеклеточный АТФ влияет на морфологию и кластеризацию нейтрофилов.

МОДУЛЯЦИЯ ПРОНИКНОВЕНИЯ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ В ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ С ПОМОЩЬЮ АНТИТЕЛ И ЕЕ ЛИГАНДОВ ВЛИЯЕТ НА ГЕНЕРАЦИЮ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА

Горбунов Н.П., Костевич В.А., Берсон Ю.М., Грудинина Н.А., Васильев В.Б., Соколов А.В.
ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

Миелопероксидаза (Мро) — гем-содержащая пероксидаза, отличительными свойствами которой являются димерное строение и способность к генерации HOCl. Последняя опосредует образование активных форм кислорода и является причиной развития галогенирующего стресса при ряде патологических процессов, в том числе и при опухолевом росте. До определенной степени генерация HOCl регулируется физиологическим ингибитором Мро, церулоплазмином (Ср), синтез которого, как правило, увеличивается при онкологических заболеваниях. Однако, несмотря на интенсивные исследования так называемых опухоль-ассоциированных нейтрофилов, способных секретировать Мро, в научной литературе довольно мало сведений о взаимодействии Мро с опухолевыми клетками. Не было попыток исследования влияния Ср и моноклональных антител (mAb) против Мро на эффекты Мро в отношении опухолевых клеток.

Нами было изучено влияние двух видов mAb против Мро (1#8 и 2#7), а также Ср на взаимодействие Мро с клетками линии М-HeLa (эпителиоидная карцинома шейки матки человека) и изучена генерация внутриклеточных активных форм кислорода (ROS) с помощью флуоресцирующего зонда 2',7'-дихлородигидрофлуоресцеин диацетата (H2DCFDA).

При добавлении Мро человека в культуральную среду было показано ее проникновение в клетки и увеличение генерации внутриклеточных ROS. Добавление mAb 2#7 в 10-кратном избытке относительно Мро ингибировало как проникновение Мро в опухолевые клетки, так и генерацию внутриклеточных ROS. Добавление Ср приводило к проникновению внутрь исследуемых клеток комплекса Ср-Мро, а избыток Ср дозозависимо ингибировал проникновение Мро в опухолевые клетки. Напротив, добавление mAb 1#8 способствовало проникновению

Мро в культивируемые клетки и генерации внутриклеточных ROS. Нами было показано участие гепарина в поглощении Мро клетками М-HeLa. Анализ конкуренции между mAb против Мро и ее лигандами — Ср и гепарином, позволил заключить, что гепарин и mAb 2#7 взаимодействуют с одинаковым эпитопом, а Ср и 1#8 — с другим участком на Мро. Полученные данные позволили нам сделать предположение, что на процесс связывания и последующего проникновения Мро в клетки влияет не только непосредственное стехиометрическое блокирование конкретного эпитопа, но и условный общий заряд образующихся комплексов [Мро-mAb], [Мро-лиганд].

На основании полученных данных планируется исследовать влияние Мро и ее лигандов на выживание культур опухолевых клеток и опухолевый рост после инокуляции опухолевых клеток грызунам.

Источники финансирования: Государственное задание FGWG-2022-0009.

РОЛЬ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ В РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТочНОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ/ГАЛОГЕНИРУЮЩЕМ СТРЕССЕ

Горудко И.В.¹, Григорьева Д.В.¹, Соколов А.В.^{2,3}, Панасенко О.М.³

¹Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

²ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

³ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины им. академика Ю.М. Лопухина ФМБА, Москва, Россия

Введение. Основными клетками-эффекторами воспаления являются нейтрофилы, в реализации защитных функций которых важнейшую роль играет фермент азурофильных гранул – миелопероксидаза (МПО). МПО катализирует образование активных форм галогенов (АФГ), которые наряду с активными формами кислорода (АФК), образующимися в результате активации НАДФН-оксидазы, выполняют бактерицидную функцию. Повышенное образование АФК/АФГ приводит к развитию окислительного/галогенирующего стресса, в условиях которого могут повреждаться не только собственные молекулы, клетки и ткани, но и активируются механизмы, направленные на адаптацию клеток к избыточному образованию АФК/АФГ. Сама МПО независимо от каталитической активности способна связываться с клеточной поверхностью и активировать функциональные ответы клеток, однако ее регуляторная способность может изменяться в результате взаимодействия с АФК/АФГ.

Цель исследования. Оценка способности МПО регулировать сигнальные процессы в нейтрофилах и тромбоцитах крови в условиях окислительного/галогенирующего стресса.

Результаты. Установлено, что МПО, взаимодействуя с нейтрофилами, индуцирует реорганизацию актинового цитоскелета, увеличение концентрации Ca^{2+} в цитозоле и экзоцитоз содержимого специфических и азурофильных гранул нейтрофилов. После модификации 100-кратным мольным избытком хлорноватистой кислоты способность МПО активировать нейтрофилы не выявляется. Показано также, что в отличие от нативной МПО модифицированная хлорноватистой кислотой МПО не влияет на Ca^{2+} -ответ тромбоцитов, формирование их прокоагулянтной поверхности, агонист-индуцированную агрегацию тромбоцитов и образование гетероагрегатов с нейтрофилами.

Заключение. Предполагается, что модификация МПО под действием АФГ служит регуляторным механизмом, направленным на уменьшение провоспалительных эффектов МПО на функциональную активность клеток крови в условиях окислительного/галогенирующего стресса.

СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ В ГЕНЕЗЕ НЕКОТОРЫХ ЭНДОКРИННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Даренская М.А.^{1,2}, Чугунова Е.В.^{1,2}, Прохорова Ж.В.¹, Семенова Н.В.¹, Никитина О.А.¹, Рычкова Л.В.¹, Колесникова Л.И.¹

¹ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», Иркутск

²ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, Иркутск

Свободно-радикальное окисление (СРО), с одной стороны, является необходимым звеном метаболизма, которое обеспечивает нормальную жизнедеятельность, в том числе реализацию регуляции сигнальных путей, с другой стороны — универсальной неспецифической основой патогенеза различных заболеваний. Выявление маркеров свободно-радикального повреждения биостратов клетки и недостаточности факторов антиоксидантной защиты (АОЗ) у пациентов с заболеваниями эндокринного генеза, в том числе с учетом этнического фактора, может помочь выявить лиц с высоким риском на ранней стадии и/или предотвратить развитие осложнений.

Выявлено, что у пациентов с сахарным диабетом 1-го типа (СД1) вне зависимости от стадии альбуминурии (стадии А1, А2) регистрируются окислительные повреждения основных структурных компонентов клеток — липидов (повышенные уровни первичных и вторичных продуктов липопероксидации на стадиях А1 и А2), белков (повышенные уровни метилглиоксаля на стадиях А1 и А2) и ДНК (более высокий уровень 8-гидрокси-2-деоксигуанозина на стадии А2).

Получены новые данные о разнонаправленной активности факторов АОЗ у пациентов с СД1 на стадиях А1 (повышенные значения ретинола; сниженные — общей антиоксидантной активности, α -токоферола, активности глутатионпероксидазы) и А2 (повышенные значения ретинола, восстановленного и окисленного глутатионов, активности глутатионредуктазы; сниженные — α -токоферола), свидетельствующие о различной реактивности звеньев АОЗ в условиях манифестации диабетической нефропатии.

У девушек и юношей различных этносов с экзогенно-конституциональным ожирением (ЭКОЖ) проведена оценка интенсивности

реакций СРО, активности системы АОЗ и факторов воспаления. Отмечено существенное увеличение параметров окислительного повреждения ДНК, белков и дисбаланс в тиол-дисульфидной системе у пациентов-европеоидов и девушек-монголоидов с ЭКОЖ. У девушек-монголоидов отмечались более высокие показатели повреждения ДНК, у юношей-монголоидов — сниженные уровни про- и антиоксидантных компонентов в сравнении с европеоидами. Во всех группах подростков с ЭКОЖ был выявлен рост провоспалительных факторов, у девушек-европеоидов с ЭКОЖ также отмечено снижение уровня IL-4. Группы подростков-монголоидов с ЭКОЖ отмечали более низкие уровни провоспалительных факторов в сравнении с европеоидами.

Полученные результаты могут быть использованы при составлении методических рекомендаций для практического здравоохранения, а также в разработке новых схем лечения эндокринных заболеваний.

Источники финансирования: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», г. Иркутск, Россия.

РОЛЬ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ В РАЗВИТИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА

Дзугкоев С.Г., Дзугкоева Ф.С., Беленчиков А.А., Маргиева О.И.

ФГБУН Федеральный научный центр «Владикавказский научный центр РАН», филиал «Институт биомедицинских исследований», Владикавказ

Целью исследования является изучение роли процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиокислительной системы (АОС) в патогенезе воспалительной патологии тканей пародонта.

Клинически заболевания пародонта на ранних стадиях проявляются катаральным воспалением. Воспаление сопровождается кровоточивостью десны, отеком. Впоследствии разрушается зубодесневое соединение, происходит лизис костной ткани. Пациенты жалуются на кровоточивость, болезненность при приеме пищи, подвижность зубов, неприятный запах изо рта. При более тяжелых стадиях заболевания возможно ухудшение общего состояния. Начало и прогрессирование заболевания зависит от сложного взаимодействия бактериальной биопленки, патогенных бактерий и иммунной системы организма хозяина. Эндогенная интоксикация индуцирует образование активных форм кислорода (АФК), развитие окислительного стресса и снижение активности ферментов АОС. Моноциты и нейтрофилы в этих условиях участвуют в образовании АФК для уничтожения микроорганизмов и защиты клеток пародонта.

В исследовании установлена активация процесса ПОЛ по данным повышения концентрации вторичного продукта — малонового диальдегида (МДА) в эритроцитах. Одновременно показано снижение активности ферментов АОС, в частности СОД, превращающей супероксиданион радикал ($O_2^{\cdot-}$) в перекись водорода (H_2O_2), которая разрушается каталазой. Развивающийся дисбаланс в про- и антиоксидантной системе играет патогенетическую роль в развитии процесса воспаления тканей пародонта. Продукт липопероксидации — МДА изменяет молекулярную структуру эндотелиальных клеток слизистой оболочки полости рта, повышает их проницаемость и нарушает

микроциркуляторную гемодинамику. В основе развития ангиопатии лежит сниженный уровень оксида азота (NO), который является основным вазодилататором. Это обуславливает усиление резорбтивных процессов в кости, а утолщение базальной мембраны микрососудов затрудняет диффузию кислорода в ткани пародонта.

Таким образом, процесс ПОЛ и нарушение активности АОС приводят к развитию дисфункции эндотелия сосудов, что и играет патогенетическую роль в развитии воспалительной патологии тканей пародонта.

АНТИОКСИДАНТНАЯ И ГЕПАТОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТИ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ ПЕЛОИДОВ

Жданова А.В., Халиулин А.В., Чередник М.К.

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара

Поддержание окислительно-восстановительного гомеостаза, как неотъемлемого свойства живых организмов, обеспечивается комплексом взаимосвязанных биохимических процессов. Нарушение функций редокс-систем тканей и органов является важным звеном патогенеза ряда заболеваний. Это обуславливает активный поиск средств профилактики окислительно-восстановительных нарушений. Перспективными с этой точки зрения являются гуминовые вещества (ГВ), которые, по нашим представлениям, реализуют свой эффект на субклеточном и молекулярном уровне.

Целью работы является изучение антиоксидантной и гепатопротекторной активности в ряду гуминовых веществ пелоидов.

В условиях *in vivo* влияние ГВ на процессы свободно-радикального окисления (СРО) изучалось на экспериментальных крысах в условии острой интоксикации полихлорированными бифенилами. Показатели АОА исследовали методом Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции (ХЛ).

Введение препаратов сопровождалось статистически значимыми изменениями изучаемых параметров относительно группы сравнения, которым вводили токсикант. Действие гуминовых веществ пелоидов оказывало существенный защитный эффект уже на 3-и сутки исследования. К 10-м суткам окислительно-восстановительный статус полностью восстанавливался. Данные Fe^{2+} -индуцированной ХЛ подтверждаются результатами определения ТБК-реагирующих продуктов. На третьи сутки исследования наблюдается повышение количества тиобарбитуровой кислоты, что свидетельствует о интенсификации СРО липидов. На третьи сутки применения гуминовых веществ происходит понижение уровня ТБК-реагирующих продуктов по сравнению с показателями животных, получавших только токсикант. Введение препаратов ГВ достоверно понижают уровень ТБК-реагирующих продуктов

относительно группы сравнения и достигают контрольного значения к 10-м суткам. Также было изучено влияние гуминовых веществ пелоидов на антиоксидантные ферменты супероксиддисмутазу (СОД), каталазу и глутатионпероксидазу (ГПО). При интоксикации бифенилами наблюдалось значительное снижение активности ферментов.

Определение активности антиоксидантной защиты при введении препаратов гуминового ряда подтвердило, что свободно-радикальное окисление поддается коррекции.

ВЗАИМОСВЯЗЬ СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ С ПОВЕДЕНЧЕСКИМ ФЕНОТИПОМ И ИНТЕНСИВНОСТЬЮ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО РОСТА ПРИ ФОТОБИОМОДУЛЯЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Жукова Е.С., Позднякова М.А., Щербатюк Т.Г.

ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт гигиены и профпатологии» Роспотребнадзора, Нижний Новгород

Известно, что злокачественный рост сопровождается изменением свободно-радикальных (СР) процессов в организме. Эти изменения у разных индивидуумов могут иметь особенности, способные влиять на ответ опухоли на воздействие.

Цель работы — исследовать особенности СР процессов в организме крыс с различным поведенческим фенотипом (ПФ) и оценить их взаимосвязь с интенсивностью опухолевого роста и ответом на фотобиомодуляцию (ФБМ) фиолетово-синего диапазона.

Исследования проведены на 76 ювенильных аутбредных крысах-самцах стока Sprague Dawley. Модель неоплазии — штамм солидной опухоли крыс РС-1, перевиваемый подожно. Источники для ФБМ — экспериментальные генераторы ($\lambda_1=400\pm 20$ нм, 4,6 Дж/см², $\lambda_2=460\pm 20$ нм, 3,2 Дж/см², транскутанно; ИПФ РАН, Россия). Группы исследования: «интактные», «РС-1», «РС-1+ФБМ» с выделением на основе теста «открытое поле» в каждой 3 подгрупп по ПФ: 1) пассивный, 2) среднеактивный, 3) высокоактивный (метод k-средних, $p<0,001$). Оценивали общую СР активность косвенно методом индуцированной реакцией Фентона хемилюминесценции, уровень перекисного окисления липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-АП), активность супероксиддисмутазы (СОД) по реакции восстановления нитросинего тетразолия и каталазы (КАТ) по скорости разложения пероксида водорода, противоопухолевый эффект по коэффициенту прироста опухоли.

В норме по сравнению со среднеактивными для пассивных крыс была показана на 16,6% более высокая, для высокоактивных на 10,6% более низкая общая СР активность в плазме и в 1,7 раза более высокая и низкая активность КАТ в печени, соответственно ($p<0,025$, U-критерий Манна-Уитни). У интактных

крыс выявлена корреляционная взаимосвязь общей исследовательской активности с ферментативной активностью СОД печени ($p=0,786$, $R=62\%$, $p=0,021$ по критерию Спирмена). На 14-е сутки развития РС-1 только у животных с пассивным ПФ наблюдался дисбаланс СР процессов по активности СР в плазме, СОД эритроцитов, КАТ и ТБК-АП в печени ($p<0,05$, U-критерий Манна-Уитни) и более высокая интенсивность роста неоплазии ($p<0,025$, критерий Стьюдента-Ньюмена-Кейлса). ФБМ статистически значимо изменила показатели окислительного стресса только при пассивном и высокоактивном ПФ, стимулируя развитие РС-1 у пассивных животных, затормаживая у среднеактивных и способствуя регрессу у высокоактивных. Таким образом, СР процессы в организме крыс и их изменение при злокачественном росте взаимосвязаны с ПФ и влияют на эффективность ФБМ фиолетово-синего диапазона при онкогенезе.

МАРКЕРЫ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА В МАТЕРИНСКОЙ И ПУПОВИННОЙ КРОВИ БЕРЕМЕННЫХ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ НА ФОНЕ ЦЕНТРАЛИЗАЦИИ ВЕНОЗНОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ ПЛОДА

Залозная И.В., Коптеева Е.В., Милютина Ю.П., Корневский А.В., Капустин Р.В., Арутюнян А.В.
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им.
Д.О. Отта», Санкт-Петербург

Беременность, осложненная сахарным диабетом, ассоциирована с высоким риском неблагоприятных перинатальных исходов (недоношенность, диабетическая фетопатия), обусловленных хронической внутриутробной гипоксией плода и нарастанием явлений оксидативного стресса (ОС). Под воздействием различных факторов диабетического генеза могут возникать изменения венозного кровообращения плода между печенью и мозгом. Перераспределение кровотока в этой системе является одним из ключевых адаптационных механизмов плода в ответ на изменение условий поступления питательного субстрата. В связи с этим остается вопрос, как именно баланс про- и антиоксидантов в системе «мать-плод» соотносится с изменением венозного кровотока плода в аспекте формирования механизмов его адаптации к состоянию хронической гипергликемии у матери.

Целью данного исследования стала оценка содержания биомаркеров ОС в материнской и пуповинной крови.

В настоящей работе приняло участие 144 пациента, которые составили 3 группы сравнения: группа I — пациенты с прегестационным сахарным диабетом (ПГСД) и сниженной фракцией шунтирования венозного протока (ВП) (n=43), группа II — пациенты с ПГСД и нормальной фракцией шунтирования ВП (n=43), группа III — контроль (n=58). Исследовали содержание маркеров-прооксидантов (малоновый диальдегид, 3-нитротирозин) и маркеров системы антиоксидантной защиты организма (каталаза, общая антирадикальная активность). Кроме того, проводилось измерение ультразвуковых показателей венозной гемодинамики в умбиликально-портальной венозной системе плода. При анализе маркеров оксидативного стресса в группе пациентов с ПГСД в зависимости от фракции шунтирования ВП получены

данные, демонстрирующие достоверное повышение содержания 3-нитротирозина и малонового диальдегида в материнской и пуповинной крови у пациентов со сниженной фракцией шунтирования ВП (<16,5%) по сравнению с контрольной группой и группой женщин с ПГСД и нормальной фракцией шунтирования ВП (>16,5%). Уровень каталазы и антирадикальной активности достоверно повышался у женщин с ПГСД и нормальной фракцией шунтирования ВП и оставался неизменным в сравнении с контролем в группе ПГСД со сниженной фракцией шунтирования ВП.

Полученные данные свидетельствуют о нарастании явлений оксидативного стресса в группе пациентов с ПГСД и сниженной фракцией шунтирования ВП и отражают снижение компенсаторных возможностей плода у данной группы пациентов.

Источники финансирования. Поддержано гос. заданием № 1021062812133-0-3.2.2 Министерства науки РФ.

РЕДОКС-ДИСБАЛАНС В КЛЕТКАХ НЕЙРОВАСКУЛЯРНОЙ ЕДИНИЦЫ

Зубова А.В., Новикова С.В., Розанова Н.А., Салмина А.Б.

ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва

Введение. Редокс-дисбаланс возникает из-за нарушения баланса между оксидантами и антиоксидантами. Это приводит либо к восстановительному (редуктивному) стрессу, либо к окислительному стрессу. Редокс-состояние клеток определяют четыре редокс-пары: НАД⁺/НАДН, НАДФ⁺/НАДФН, восстановительный глутатион (GSH)/окисленный глутатион (GSSG), ФАД⁺/ФАДН₂. В нейроваскулярной единице активен метаболизм НАД⁺ и НАДН вследствие интенсивного энергетического метаболизма в митохондриях нейронов и дальнейших превращений в астроцитах. Митохондриальная дисфункция может быть как следствием, так и причиной нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона.

Цель — создать модель редуктивного стресса в клетках ГЭБ *in vitro* для изучения механизмов редуктивного стресса при нейродегенеративных заболеваниях.

Материалы и методы. Для индукции редуктивного стресса в клетках использовали дитиотреитол (ДТТ) в астроцитах, эндотелиоцитах головного мозга крыс, полученных методом ферментно-механической диссоциации. Моделирование болезни Альцгеймера индуцировано бета-амилоидом 1-42 (Sigma-Aldrich, USA). Концентрации НАД⁺ и НАДН, соотношение НАД⁺/НАДН определяли спектрофотометрическим методом с использованием набора реактивов (NAD/NADH Assay kit (WST-8), Elabscience, USA).

Результаты и выводы. Было зарегистрировано увеличение уровня НАДН/НАД⁺ в астроцитах и эндотелиоцитах головного мозга крыс. Увеличение концентрации НАДН, как участника редуктивного стресса, может быть использовано в качестве маркера развития окислительного стресса и метаболических нарушений, преимущественно нейродегенеративных, в связи с интенсивным метаболизмом НАД⁺ в нейроваскулярной единице.

РОЛЬ ГЛУТАТИОНА И РЕДОКСИНОВ В РЕДОКС-РЕГУЛЯЦИИ ФОРМИРОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Калинина Е.В., Новичкова М.Д., Чернов Н.Н.

ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва

Введение: редокс-зависимые процессы во многом определяют жизнеспособность клеток, участвуя в регуляции деления, биоэнергетики и программируемой смерти. Редокс-статус клетки характеризуют GSH и НАДН, соотношение окисленных/восстановленных форм которых служит маркером изменения уровня активных форм кислорода и азота (АФКА), играя роль триггера в редокс-зависимой регуляции клеточных процессов. Трипептид GSH, участвуя в контроле и поддержании редокс-гомеостаза клеток, связан с регуляцией процессов пролиферации и дифференцировки клеток. В поддержание клеточного редокстаза наряду с GSH включена система редоксина (Grx, Trx, Prx), участвующая в процессах клеточной редокс-зависимой регуляции посредством контроля тиол-дисульфидного обмена. Сочетание антиоксидантных свойств и способности активировать транскрипцию генов, в том числе антиоксидантных ферментов, а также ингибировать редокс-зависимые пути активации апоптоза, свидетельствуют о важном вкладе редоксина в антиоксидантную защитную систему, повышающую устойчивость клеток к окислительному стрессу.

Цель исследования: оценка роли соотношения GSH/GSSG в регуляции экспрессии генов редоксина (изоформ Grx, Trx, Prx) при развитии резистентности клеток аденокарциномы яичника SKOV-3 к цисплатину (CDDP), обладающему прооксидантным действием.

Результаты: установлено, что формирование резистентности сопровождается скоординированным усилением экспрессии генов, кодирующих синтез GSH-глутатионсинтетазы (GS), тяжелых и легких субъединиц γ -глутамилцистеинсинтетазы (γ -GCSH, γ -GCSL), и генов изоформ глутаредоксина (GLRX1, GLRX2), тиоредоксина (TRX2), пероксиредоксина (PRDX6) наряду с повышением транскрипции гена транскрипционного фактора Nrf2. Кроме того, отмечен рост соотношения GSH/GSSG как по-

казателя редокс-состояния клеток.

Заключение: предполагается, что механизм развития резистентности клеток SKOV-3 к CDDP включает активацию синтеза GSH *de novo* за счет усиления экспрессии генов γ -GCSH, γ -GCSL и GS и редокс-зависимого повышения экспрессии редоксина GLRX1, GLRX2, TRX2, PRDX6, которые скоординированно регулируются изменением уровня GSH/GSSG и транскрипционного фактора Nrf2.

ИССЛЕДОВАНИЕ ГАЛОГЕНИРУЮЩЕГО СТРЕССА В МОДЕЛИ НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ НА ТРОЙНОЙ КУЛЬТУРЕ НЕЙРОНОВ, АСТРОЦИТОВ И МИКРОГЛИИ

Катруха В.А.¹, Котова Д.А.¹, Иванова А.Д.¹, Храмова Ю.В.^{1,2}, Билан Д.С.^{1,3}

¹ФГБУН ГНЦ РФ «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

²ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова», Москва

³ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Нейровоспаление — один из важнейших факторов, повреждающих центральную нервную систему (ЦНС). Это патологический процесс, в ходе которого в ответ на провоспалительные стимулы в мозге активируется врожденная иммунная система. Считается, что нейровоспаление ассоциировано с выработкой активных форм кислорода (АФК), однако достоверно не известно, принимают ли участие в этом процессе активные формы галогенов (АФГ): гипогалогенные кислоты HOCl, HOBr и HOSCN. В то же время, изменение активности миелопероксидазы — фермента, генерирующего гипогалогенные кислоты из галогенид-анионов и АФК, — считают характерным маркером некоторых нейродегенеративных заболеваний. Сложность изучения процессов с участием гипогалогенных кислот в биологических системах заключается в высокой реакционной способности представителей этого класса соединений и, как следствие, их крайне малыми временами жизни. В результате, динамика АФГ в процессах нейровоспаления никогда не была показана напрямую из-за отсутствия подходящих инструментов исследования. Для регистрации продукции гипогалогенных кислот в режиме реального времени *in vivo* наиболее подходит применение генетически кодируемых биосенсоров. Мы использовали разработанный в нашей лаборатории биосенсор Nupocrates2 для регистрации гипогалогенных кислот и их производных. Биосенсор получен посредством интеграции кругового пермутанта желтого флуоресцентного белка в область подвижной петли репрессора транскрипции NemR из *Escherichia coli* — природного сенсора белковой природы на гипогалогенный стресс. Генерацию АФГ мы исследовали на тройной культуре клеток (нейроны, астроци-

ты, микроглия), полученной из тканей мозга новорожденных крысят. Доставку генетического инструмента Nupocrates2 осуществляли с помощью аденоассоциированных вирусных частиц (AAV), используя серотип 9 и соответствующий промотор для экспрессии гена в интересующем типе клеток. В результате, нами была получена тройная нейрональная культура крыс, в которой астроциты экспрессируют ген Nupocrates2 (AAV9, промотор GFAP). Это позволило зарегистрировать в этих типах клеток пространственно-временную динамику гипогалогенных кислот и их производных при моделировании нейровоспаления, инициированного воздействием различных факторов: глутамат-опосредованного эксайтотоксического стресса, имитации бактериальной инвазии при добавлении липополисахаридов. Применение данной модели с направленной экспрессией Nupocrates2 позволит выявить особенности динамики АФГ в различных типах клеток при конкретном стресс-воздействии на культуру.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ, грант № 22-15-00299.

ДИНАМИКА ПЕРВИЧНЫХ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКЕ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ

Коваленко Е.Н., Зотова Л.В., Громова Е.В., Абрашина И.В., Павелкина В.Ф.

ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва», Саранск

Важное значение в патогенезе вирусных заболеваний придается мембранопатологическим процессам на уровне клеточных факторов иммунитета. На дестабилизацию клеточных мембран влияют процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и недостаточность системы антиоксидантной защиты. Именно поэтому представляет интерес исследование уровня окислительного стресса при геморрагической лихорадке с почечным синдромом (ГЛПС) и динамики работы антиокислительной системы для уточнения их значения в патогенезе заболевания.

Нами отмечено, что в начальный период болезни содержание диеновых конъюгатов значительно превышено с достоверным отличием от группы контроля. Так, средний показатель содержания диеновых конъюгатов у больных составил $1,076 \pm 0,36$ едА/мл ($p < 0,05$), что выше значений контрольной группы в 4,2 раза ($0,255 \pm 0,09$ едА/мл). Это говорит о том, что в начальный период заболевания происходит интенсивное образование первичных продуктов ПОЛ. Диеновые кетоны являются вторичными продуктами ПОЛ, содержание которых также было незначительно повышено в разгар инфекционного процесса и составило $0,106 \pm 0,045$ едА/мл ($p < 0,05$), что в 2,4 раза ($0,043 \pm 0,03$ едА/мл) выше показателей контрольной группы.

В начальный период заболевания происходит интенсивное образование первичных продуктов перекисного окисления липидов. Изменения в концентрации первичных диеновых конъюгатов и диеновых кетонов свидетельствуют об окислительном стрессе в организме. Об интенсивности первичных процессов ПОЛ говорит тот факт, что концентрация диеновых кетонов повышена в 2 раза, а диеновых конъюгатов в 4 раза. После проведения 10-дневной базисной терапии наблюдалось снижение содержания диеновых конъюгатов и диеновых кетонов в 1,3 раза по

сравнению с показателями до лечения. Исследование показало, что уровень диеновых соединений у пациентов с ГЛПС был выше, чем у здоровых людей. При поступлении в больницу концентрация диеновых конъюгатов и кетонов была значительно выше, чем на 10-й день лечения. Кроме того, уровень диеновых соединений у пациентов, которые получали базисную терапию, был ниже, чем у тех, кто не получал лечение.

Эти результаты говорят о том, что геморрагическая лихорадка с почечным синдромом может вызывать окислительный стресс и нарушения в функционировании мембран клеток. Однако базисная терапия может помочь снизить уровень диеновых соединений и улучшить функцию клеточных мембран.

Таким образом, измерение концентрации первичных диеновых конъюгатов и диеновых кетонов в крови может быть полезным методом оценки окислительного стресса и повреждения мембран у пациентов с ГЛПС.

ВЛИЯНИЕ СЕЛЕНИТА НАТРИЯ НА СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ И КОНЦЕНТРАЦИЮ ГОРМОНОВ ПРИ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗКАХ

Корнякова В.В.

ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России

Цель исследования. Выяснить влияние селена на интенсивность процессов свободно-радикального окисления у крыс, подвергнутых нагрузке плаванием.

Материалы и методы. Из 60 крыс-самцов сформировали 4 группы: одна контрольная и три опытных. Контроль ($n=15$) подвергали плаванию через день, первую опытную группу ($n=15$) подвергали плаванию с грузом, составлявшем 10% от массы животного, через день; вторую опытную группу ($n=15$) подвергали плаванию с аналогичным грузом в течение трех недель через день, потом каждый день; третью опытную группу ($n=15$) подвергали плаванию в режиме второй опытной группы, но на последней неделе крысам давали внутрь селенит натрия (30 мкг/кг массы). Продолжительность эксперимента во всех группах составила пять недель. В гемолизатах эритроцитов исследовали содержание глутатиона и ферментов его обмена, малонового диальдегида (МДА). В крови определяли концентрацию свободного трийодтиронина (Т3) и тироксина (Т4). Исследования проводили с соблюдением требований Европейской конвенции. Полученные данные обработаны методами непараметрической статистики.

Результаты. Установлено, что в эритроцитах крыс второй группы содержание МДА возрастает в 1,2 раза и 1,14 раза по сравнению с контролем ($p<0,01$) и первой группой ($p<0,05$) соответственно, а концентрация глутатиона снижается в 1,13 и 1,18 раза по сравнению с контролем ($p<0,02$) и первой группой ($p<0,05$) соответственно; активность глутатионпероксидазы (ГлПО) уменьшается соответственно в 1,19 и 1,15 ($p<0,05$) раза, а глутатионредуктазы (ГлР) — в 1,3 и 1,2 раза ($p<0,02$). Концентрация Т3 снижается в 1,03 и 1,05 раза, а Т4 — в 1,18 и 1,23 раза по сравнению с контролем и первой группой соответственно ($p<0,05$). Пероральное поступление селенита натрия снижает содержание

МДА в 1,1 раза ($p<0,05$), восполняет содержание глутатиона в 1,18 раза ($p<0,05$), повышает активность ГлПО и ГлР в 1,3 раза ($p<0,01$) по сравнению с их значением у крыс второй группы. Введение селенита натрия не приводило к статистически значимым изменениям Т3 и Т4.

Заключение. Таким образом, повышение интенсивности физических нагрузок приводит к активации свободно-радикальных процессов и снижению концентрации тиреоидных гормонов. Селенит натрия ограничивает интенсивность процессов свободно-радикального окисления при интенсивных нагрузках.

Источники финансирования. Свои средства.

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СОДЕРЖАНИЯ 8-ГИДРОКСИ-2'-ДЕЗОКСИГУАНОЗИНА КАК МАРКЕРА ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ СУБХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПЕСТИЦИДАМИ

Королев В.А., Бабкина Л.А., Фелькер Е.В., Ячменева Л.А., Чертова Р.Ю., Усачев М.А., Милова А.И.

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», Курск

Широкое применение пестицидов имидаклоприда и тирама создает риски для нецелевых видов животных. Интоксикация пестицидами приводит к развитию окислительного стресса. 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин (8-OHdG) служит маркером окислительного повреждения ДНК. Ротовая полость выступает мишенью при пероральном поступлении пестицидов. В работе изучена динамика содержания 8-OHdG в биологических жидкостях крыс при субхроническом действии тирама и имидаклоприда.

Исследования проводились на половозрелых самцах крыс линии Wistar массой тела 220–230 г. Контрольная группа получала стандартный корм и чистую питьевую воду. Экспериментальным крысам вводили пестициды в дозе $1/50 LD_{50}$ в течение 28 дней: тирам — в составе корма, имидаклоприд — с питьевой водой. Затем 28 дней все крысы получали стандартный корм и чистую питьевую воду. Животных выводили из эксперимента на 7, 14, 21, 28, 56 дни путем эвтаназии эфирным наркозом. Ротовую жидкость центрифугировали 20 мин при 1500 об/мин (MiniSpin, Германия). Забор крови производили из правого желудочка сердца, центрифугировали 15 мин (3000 об/мин, 4°C) для получения плазмы. Содержание 8-OHdG оценивали с помощью набора методом ИФА (Cloud-Clone Corp., США) на микропланшетном ридере (Varioscan Flash, США). Сравнение независимых выборок проводили посредством критерия Манна–Уитни в программе «STATISTICA 13.0».

Содержание 8-OHdG в ротовой жидкости по сравнению с контролем возрастает при интоксикации имидаклопридом на 7-й день в 2,52 раза ($p=0,0002$), при поступлении тирама — на 21-й день в 1,41 раза ($p=0,0173$), достигая максимума на 28-й день (в 1,49 раз и в 18,91 раз при поступлении тирама и имидаклоприда соответственно). Плазма как внутренняя среда отражает процессы

системного окислительного стресса. Количество 8-OHdG возрастает по сравнению с контролем на 7-й день при поступлении тирама (в 1,15 раз, $p=0,0211$) и имидаклоприда (в 1,74 раза, $p=0,0001$), достигая максимума к 28-му дню. Стандартный рацион восстанавливает содержание 8-OHdG до уровня контроля после прекращения действия тирама в ротовой жидкости ($p=0,1406$). В плазме крови при интоксикации тирамом и имидаклопридом, а также в ротовой жидкости при поступлении неоникотиноидов количество 8-OHdG снижается по отношению к 28-му дню эксперимента, но не достигает уровня контроля ($p=0,0002$). Возрастание содержания 8-OHdG при субхроническом поступлении пестицидов может быть проявлением генотоксичности. Имидаклоприд вызывает в большей степени окислительную модификацию ДНК по сравнению с тирамом, что, возможно, связано с различной скоростью метаболизма пестицидов

Источники финансирования: ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет».

ВЛИЯНИЕ S-НИТРОЗОГЛУТАТИОНА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ МИТОХОНДРИЙ КЛЕТОК ЛИНИИ НЕРG2

Кочанова П.Д., Сучкова О.Н., Костюкова Е.В., Гаджиева Ф.Т., Абаленихина Ю.В., Щулькин А.В., Якушева Е.Н.

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Рязань

Митохондрии являются ключевыми органеллами, в которых образуется энергия и другие активные вещества. Они играют решающую роль в регуляции гибели клеток, поддержании гомеостаза активных форм кислорода/азота. S-нитрозоглутатион представляет собой нитрозотиол, который является источником NO и играет ключевую роль в передаче его сигналов.

Цель исследования — оценить влияние S-нитрозоглутатиона в концентрациях 1, 10, 50, 100 и 500 мкМ на функционирование митохондрий при воздействии на клетки линии НерG2 в течение 24 ч.

Материалы и методы. Исследование выполнено на клетках линии НерG2. S-нитрозоглутатион добавляли к клеткам в концентрациях 1, 10, 50, 100, 500 мкМ, инкубировали 24 ч. К контрольным клеткам в эквивалентном объеме добавляли воду для инъекций (растворитель S-нитрозоглутатиона). После обработки клеток S-нитрозоглутатионом проводили инкубацию в растворе для окрашивания митохондрий MitoTracker Red CMXRos («Invitrogen», США) 0,2 мкМ при 37°C в течение 30 мин. Затем клетки снимали с лунок, лизировали с помощью 0,2% Triton X-100 («Sigma-Aldrich», Германия). Количественную оценку живых митохондрий в лизате клеток определяли по степени флуоресценции ($\lambda_{\text{exc}}=579$ нм, $\lambda_{\text{em}}=599$ нм) с помощью спектрофлуориметра («Shimadzu RF-6000», Япония) и пересчитывали на количество клеток (счетчик и анализатор жизнеспособности клеток «Countess 3 Automated Cell Counter», США). Анализ содержания белков BCL2 и Fas определяли методом вестер-блот. Статистическую значимость различий оценивали дисперсионным анализом (ANOVA), тест Даннетта.

Результаты. В ходе работы было выявлено, что интенсивность флуоресценции в кон-

трольных клетках составила $234,3 \pm 12,0$ и не изменялась при воздействии S-нитрозоглутатиона в концентрациях 1, 10 и 50 мкМ, но статистически значимо снижалась на 24,5% и 45,7% ($p < 0,05$) при 100 и 500 мкМ соответственно. Относительное количество антиапоптотического белка BCL2 снижалось при действии S-нитрозоглутатиона в концентрациях 10, 50, 100 и 500 мкМ на 17,8%, 25,0%, 34,7% и 45,4% ($p < 0,05$) соответственно и не изменялось при концентрации S-нитрозоглутатиона 1 мкМ ($p > 0,05$). Уровень проапоптотического белка Fas возрастал на 25,3%, 35,1%, 26,7%, 62,7% и 73,4% ($p < 0,05$) при воздействии S-нитрозоглутатиона в концентрациях 1, 10, 50, 100 и 500 мкМ соответственно.

Вывод. Воздействие S-нитрозоглутатиона в диапазоне концентраций 1-500 мкМ приводит к нарушению гомеостаза анти- и проапоптотических белков BCL2 и Fas, что приводит к нарушению жизнеспособности митохондрий.

РЕГУЛЯЦИЯ РЕДОКС-ЗАВИСИМЫХ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА С ПОМОЩЬЮ ПРОИЗВОДНЫХ ГИДРОХИНОЛИНА

Крыльский Е.Д., Разуваев Г.А., Попова Т.Н.

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Воронеж

Болезнь Паркинсона (БП) — нейродегенеративное заболевание, в патогенезе которого решающую роль играют нарушения функционирования антиоксидантной защиты, повышенная агрегация белков, активация воспаления и апоптоза нейронов. В связи с этим целесообразным представляется поиск нейропротекторных соединений, которые способны поддерживать эффективность клеточных защитных систем при нейродегенеративных заболеваниях.

В рамках нашей работы осуществлено исследование аспектов воздействия 6-гидрокси-2,2,4-триметил-1,2,3,4-тетрагидрохинолина (ТГХ) и 2,2,4-триметил-1,2-дигидрохинолин-8-карбоновой кислоты (КДГХ) на функционирование антиоксидантной системы, активность NADPH-генерирующих ферментов и шаперонов, а также уровень апоптотических процессов у крыс с ротенон-индуцированной БП, в сравнении с компаратором разагилином.

Проанализировало влияние различных доз данных соединений на выраженность окислительного стресса, уровень субъединицы р65 фактора NF-κB и воспалительный ответ у экспериментальных животных.

Полученные данные свидетельствуют о том, что ТГХ и КДГХ снижали уровень 8-изопростана, продуктов пероксидного окисления липидов и белков. Уменьшение окислительного стресса под действием тестируемых веществ приводило к снижению содержания мРНК провоспалительных цитокинов и активности миелопероксидазы, что сопровождалось торможением экспрессии фактора NF-κB. Эти изменения способствовали улучшению моторно-координационных показателей и повышению уровня тирозингидроксилазы, а также снижению выраженности гистопатологических изменений в ткани мозга экспериментальных животных. Улучшение окислительно-восстановительного статуса в тканях крыс было сопряжено с восстановлением активности антиоксидантных и NADPH-гене-

рирующих ферментов, а также с повышением уровня экспрессии мРНК антиоксидантных генов и факторов Nrf2 и Foxo1. Кроме этого, введение ТГХ крысам с БП приводило к нормализации шапероноподобной активности и уровня мРНК белка теплового шока 70. В головном мозге крыс, получавших данное соединение, регистрировалась более низкая интенсивность апоптоза по сравнению с животными с патологией.

Таким образом, благодаря своим антиоксидантным свойствам тестируемые соединения оказывали благоприятное воздействие на антиоксидантную систему, что приводило к снижению потребности в активации шаперонов и торможению процессов воспаления и апоптоза, активируемых при БП. На большинство исследуемых параметров ТГХ и КДГХ в дозе 50 мг/кг оказывали большее влияние по сравнению с разагилином.

ОКИСЛИТЕЛЬНО МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ЛИПОПРОТЕИДЫ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ ЯВЛЯЮТСЯ КЛЮЧЕВЫМИ ФАКТОРАМИ ЗАПУСКА МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ АТЕРОГЕНЕЗА И ДИАБЕТОГЕНЕЗА

Ланкин В.З.¹, Шарапов М.Г.², Тихазе А.К.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Минздрава России, Москва

²ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований» РАН, Институт биофизики клетки, Пущино

В литературе в течение последних лет активно обсуждается роль окисленных липопротеидов низкой плотности (ЛНП) в молекулярных механизмах атерогенеза. Тем не менее, понятие «окисленные ЛНП» отнюдь не однозначно, поскольку свободнорадикальное окисление является сложным стадийным процессом. На первой стадии окисления в наружном фосфолипидном слое частиц ЛНП накапливаются липогидропероксиды (LOOH), которые затем подвергаются окислительной трансформации с образованием природного дикарбонила — малонового диальдегида (МДА). Очевидно, что накопление первичных и вторичных продуктов окисления в ЛНП может по-разному влиять на участие модифицированных ЛНП в механизмах атерогенеза.

Доклад представляет собственные экспериментальные материалы, обосновывающие структуру окислительно модифицированных липопротеидов низкой плотности (ЛНП), участвующих в запуске молекулярных механизмов атерогенеза.

В работе использован большой арсенал современных аналитических, биохимических, биофизических, кинетических и молекулярно-биологических методов. В исследованиях использовались культивируемые эндотелиоциты (HUVECs), отдельные эксперименты были проведены *in vivo* на *Macaca mulatta*.

Исследование кинетики свободнорадикального окисления ЛНП *in vitro* показало, что при инициации процесса в качестве продуктов сначала образуются LOOH-содержащие ЛНП (LOOH-ЛНП) и, с некоторым запаздыванием, МДА, тогда как МДА-модифицированные ЛНП (MDA-ЛНП) образуются после продолжительной инкубации реакционной смеси. Из этого следует, что авторы, использующие «окисленные ЛНП» после многочасового

окисления, получают не «окисленные ЛНП», а смесь LOOH-ЛНП и MDA-ЛНП. Показано, что «атерогенными» (активно поглощаемыми культивируемыми макрофагами) являются не LOOH-ЛНП (окисленные C-15 липоксигеназой ретикулоцитов), а MDA-ЛНП. Установлено, что экспрессию генов сквенджер-рецептора LOX-1 и NADPH-оксидазы в эндотелиоцитах вызывают не LOOH-ЛНП, а MDA-ЛНП, причем MDA-ЛНП экстремально быстро утилизируются из кровотока *Macaca mulatta*. В то же время, ЛНП, модифицированные дикарбонилами, образующимися при карбонильном стрессе (глиоксаль- и метил-глиоксаль-модифицированные ЛНП), вызывают значительно меньшую экспрессию LOX-1 и NADPH-оксидазы в эндотелиоцитах и циркулируют в кровотоке *Macaca mulatta* столько же, сколько и немодифицированные ЛНП.

Таким образом, используемый в большинстве работ термин «окисленные ЛНП» неправилен, т.к. авторы этих исследований при многочасовом проведении окисления получают смесь LOOH-ЛНП и MDA-ЛНП.

Источники финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 22-15-00013.

ТЕХНОЛОГИИ БИОПЛАЗМОНИКИ В КОРРЕКЦИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА ПРИ ОЖГОВОЙ ЭНДОТОКСЕМИИ

Мартусевич А.К.^{1,2}, Назаров В.В.², Соловьева А.Г.²

¹ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Нижний Новгород

²ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород

Целью работы было изучение влияния гелиевой холодной плазмы на окислительный метаболизм крови крыс с экспериментальной термической травмой.

Эксперимент выполнен на 30 половозрелых крысах-самцах линии Вистар, разделенных на 3 группы. Первая группа животных ($n=10$) была интактной, с ними не проводили никаких манипуляций. Крысам второй и третьей групп ($n=10$ в каждой) моделировали контактный термический ожог (площадь — 10% поверхности тела), проводили местное лечение раны левомеколем. Животным третьей группы дополнительно проводили курс, включавший 5 ежедневных процедур обработки ожоговой раны, локализованной на коже спины, потоком гелиевой холодной плазмы. Продолжительность каждой процедуры составляла 1 мин. Расстояние от края «плазменного факела» до обрабатываемой поверхности равнялось 1,0–1,2 см. Интенсивность перекисного окисления в плазме и мембранах эритроцитов исследовали на аппарате БХЛ-06 методом Fe-индуцированной биохемилюминесценции по светосумме последней. Кроме того, анализ кривой биохемилюминесценции позволял рассчитывать общую антиоксидантную активность плазмы крови.

Установлено, что у крыс, которым воспроизвели термическую травму, имеют место выраженные лабораторные признаки окислительного стресса. Об этом свидетельствуют значительное повышение интенсивности перекисного окисления липидов (в 1,53 раза) и снижение общей антиоксидантной активности плазмы крови (в 1,90 раза), а также уменьшение перекисной резистентности эритроцитов (в 1,30 раза) у животных второй группы относительно интактных крыс ($p<0,05$ для всех указанных параметров). Напротив, курс наружной обработки крыс

гелиевой холодной плазмой препятствовал формированию оксидативного стресса, на что указывает состояние окислительного метаболизма плазмы крови (сохранение интенсивности липопероксидации на 6-е сутки на уровне, характерном для здоровых животных, на фоне повышения антиоксидантного потенциала в 1,57 раза; $p<0,05$). Кроме того, общая антиоксидантная активность плазмы животных третьей группы превосходит таковую у обожженных крыс, которым проводили только местное лечение, в 2,98 раза ($p<0,05$). Аналогичная динамика зафиксирована для перекисной резистентности эритроцитов, возрастающей у крыс с термической травмой после курса обработки холодной плазмой в 1,26 раза относительно здоровых животных и в 1,64 раза по сравнению с крысами, не получавшими дополнительного воздействия ($p<0,05$ для обоих случаев).

Это позволяет говорить об антиоксидантном эффекте гелиевой холодной плазмы.

Источники финансирования. Исследование поддержано грантом РНФ №22-25-00652.

ГОРМЕТИЧЕСКИЙ ЗАЩИТНЫЙ ЭФФЕКТ ИНДУКТОРА СИСТЕМЫ Keap1/Nrf2/ARE ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА *IN VITRO*

Меньщикова Е.Б.¹, Чечушков А.В.¹, Ромаха Л.П.¹, Серых А.Е.¹, Храпова М.В.¹, Петрова Е.С.¹, Олейник А.С.²

¹ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» СО РАН, Новосибирск

²ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный педагогический университет», Новосибирск

Нейродегенеративные заболевания представляют собой одну из основных клинических проблем современности, важным патогенетическим фактором их развития является окислительный стресс. Прямые антиоксидантные воздействия не дают желаемого защитного эффекта, поэтому предлагается усилить эндогенную антиоксидантную защиту нейронов посредством индукции редокс-чувствительной сигнальной системы антиоксидант-респонсивного элемента Keap1/Nrf2/ARE. Вместе с тем в данном вопросе проявляется неоднозначность, свойственная редокс-биологии в целом: негативные последствия могут возникать как при малой, так и при повышенной стационарной концентрации активных форм кислорода.

При моделировании болезни Паркинсона *in vitro* на культурах нейрональноподобных (нейробластомы человека SH-SY5Y) и глиальных клеток (глиобластомы человека U-87 MG) установлено, что индукторы системы Keap1/Nrf2/ARE, в том числе синтезированный нами 3-[3'-трет-бутил-4'-гидрокси-фенил]пропилтиосульфат натрия (ТС-13), оказывают J- или U-образный защитный эффект, повышая жизнеспособность клеток в промежуточных концентрациях при низких дозах нейротоксина MPP+, в то время как ингибиторы в больших концентрациях существенно усиливают антипролиферативное действие больших доз MPP+. На усиление генерации активных форм кислорода и азота в клетках SH-SY5Y и U-87 MG под действием MPP+ ТС-13 также влиял U-образно, угнетая ее в низких концентрациях и не изменяя и потенцируя в высоких, что можно объяснить природой индукции системы Keap1/Nrf2/ARE (специфическая активность фенольных индукторов во многом опосредована образованием продуктов окисления; активация ARE-зависимых защитных механизмов при

участии гидрохинонов может происходить в ответ на повышение содержания в организме ионов металлов переменной валентности, особенно в тканях и органах с высоким содержанием кислорода, таких как мозг). При этом ингибиторы системы Keap1/Nrf2/ARE усиливали прооксидантное действие нейротоксина. MPP+ значимо дозозависимо усиливал апоптотическую гибель клеток SH-SY5Y и U-87 MG, что согласуется с данными о его влиянии на жизнеспособность клеток и продукцию ими активных форм кислорода и азота. ТС-13 вновь оказывал U-образное действие: в присутствии MPP+ в дозах до 800 мкМ монофенол значимо угнетал апоптоз клеток SHSY-5Y (в дозах MPP+ от 200 до 1600 мкМ).

Таким образом, полученные результаты подтверждают потенциальный защитный эффект индукции системы Keap1/Nrf2/ARE в отношении нейродегенеративных заболеваний, требующий учета феномена гормезиса.

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках Государственного задания ФИЦ ФТМ, при частичной поддержке гранта Российского научного фонда № 22-25-00231, с использованием оборудования ЦКП «Современные оптические системы» и «Протеомный анализ», поддержанного финансированием Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2021-691).

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ВИТАМИНА D И ВИТАМИНА K НА ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ *IN VIVO* ПРИ РАЗДЕЛЬНОМ И СОЧЕТАННОМ ВВЕДЕНИИ

Михайлов А.В.¹, Манаева В.П.², Попова О.В.², Иванова Т.В.²

¹ФГБОУ ВО «Марийский государственный университет», Медицинский институт, Йошкар-Ола

²ФГБОУ ВО «Марийский государственный университет», Институт естественных наук и фармации, Йошкар-Ола

Реакции перекисного окисления липидов являются свободно-радикальными и происходят в организме постоянно. Свободные радикалы приводят к такому явлению, как окислительный стресс. Он возникает вследствие изменения баланса между антиоксидантами и прооксидантами и лежит в основе целого ряда патологических состояний.

Была проведена оценка некоторых показателей перекисного окисления липидов и общего антиокислительного статуса под воздействием раздельного и совместного введения витаминов D и K.

Работа выполнена на лабораторных крысах самцах линии Wistar двух возрастных групп: молодые (возраст — 5 нед на начало эксперимента) и взрослые (возраст — 22 нед на начало эксперимента). Исследуемые витамины вводили животным внутривнутривенно на протяжении 62 дней. Животные контрольных групп получали физиологический раствор. Остальные были разделены на опытные группы: 1) витамин D; 2) витамин K; 3) D+K. Всего было использовано 48 животных, по 6 в каждой группе. Для инъекций использовали водорастворимые препараты витаминов: «АкваДетрим» (холекальциферол 170 ME/kg) и менадиона натрия бисульфат (0,5 мг/kg). По истечении периода инъекций осуществляли забор крови, отделяли плазму от форменных элементов методом центрифугирования. В плазме крови определяли содержание диеновых конъюгатов (ДК), уровень малонового диальдегида (МДА), а также общую антиокислительную активность (ОАА).

Введение исследуемых витаминов как отдельно, так и совместно не оказало влияния на уровни ДК в плазме крови крыс обеих возрастных групп. Под влиянием витамина D уровень МДА в плазме крови взрослых крыс был значительно ниже, чем у животных этой

же возрастной группы, получавших витамин K, совместно витамины D и K, и контрольных животных. Выявлен существенный антиоксидантный эффект витамина D. У молодых животных наибольший антиоксидантный эффект оказало совместное действие витаминов D и K. Общий уровень МДА у взрослых крыс оказался ниже, чем у молодых. Инъекции витаминов не оказали влияния на общую антиокислительную активность плазмы крови взрослых крыс, тогда как у молодых витамин K в отдельности и совместно с витамином D более чем в 2 раза снижал исследуемый показатель.

Работа была проведена в лаборатории биохимии кафедры биохимии, клеточной биологии и микробиологии института естественных наук и фармации Марийского государственного университета.

Источники финансирования. Внутривузовский научный грант МарГУ на 2024 г.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ГЛУТАТИОНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ ОРИТ

Москвитина И.Е., Зендер М.М., Новиков Т.М., Зайко О.А.

ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва

Глутатион (GSH) — трипептид, играющий ключевую роль в детоксикации организма. При введении предшественников GSH дипептида глу-ала и глутамина улучшаются результаты восстановления пациентов ОРИТ, подвергавшихся ишемически-реперфузионным повреждениям.

Цель работы: показать перспективность введения предшественников GSH для улучшения результатов восстановления пациентов ОРИТ.

Для работы использовались данные литературных источников: статьи, учебники, диссертации. Согласно исследованию итальянских ученых, у пациентов, находящихся на полном парентеральном питании (ППП), при введении дипептида глу-ала улучшились клинические результаты, снизились смертность ($23,55\% \pm 15,2\%$ против $34,50\% \pm 2,06\%$), уровень инфицирования ($15,91\% \pm 3,95\%$ против $18,97\% \pm 3,94\%$) и сократились сроки пребывания в ОРИТ по сравнению со стандартными режимами ППП. Тот же эффект наблюдался при инфузии глутамина, согласно данным крупного систематического обзора. В другом исследовании у животных под стрессом, индуцированным эпинефрином, глутамин оказывал нормализующее действие: повышал уровень активности GSH, активность глутатионпероксидазы, снижал содержание продуктов ПОЛ. Физическая подготовка оказывает защитное действие против окислительного стресса путем индукции активности GSH-пероксидазы.

Долгое нахождение в ОРИТ на аппарате ИВЛ с полным отсутствием физической активности становится причиной ишемически-реперфузионных нарушений. Гипоксия способствует интенсификации анаэробного гликолиза с усилением продукции лактата, приводящим к снижению pH. Затем происходит активация аденилатдезаминазы и аденозиндезаминазы, катализирующих реакции расщепления АМФ до гипоксантина. Окисление гипоксантина ксантиноксидазой с образованием мочевой

кислоты и АФК приводит к повышенному расходу фонда антиоксидантов, что отражается в уменьшении содержания GSH. Путем инфузии глутамина и дипептида достигалось уменьшение тканевых нарушений. Синдром приобретенной в ОРИТ слабости и синдром последствий интенсивной терапии на молекулярном уровне характеризуются дисфункцией митохондрий: повреждением комплекса I, вызванным оксидом азота и снижением уровня глутатиона. Это приводит к снижению способности митохондрий вырабатывать АТФ. Поскольку глутамин и глу-ала являются предшественниками глутатиона, их добавление в клинический рацион можно использовать для поддержания высокого уровня глутатиона и предотвращения повреждения, вызванного окислительным стрессом у пациентов, длительно находящихся в ОРИТ.

Источники финансирования. Личный бюджет.

БИОХИМИЯ ГАЛОГЕНИРУЮЩЕГО СТРЕССА, БИОМАРКЕРЫ И РОЛЬ В ПАТОЛОГИИ

Панасенко О.М.

ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. Ю.М. Лопухина» ФМБА, Москва

В организме человека содержатся ферменты семейства гем-содержащих пероксидаз млекопитающих. Общим для этих ферментов является то, что они помимо пероксидазной активности обладают уникальной способностью катализировать окисление галогенидов (Hal^-) пероксидом водорода с образованием гипогалоидных кислот (HOHal). Последние принято называть активными формами галогенов (АФГ), они являются сильными окислителями и галогенирующими агентами, реагирующими со многими биологически важными молекулами: нуклеиновыми кислотами, белками, липидами, углеводами, антиоксидантами и др. С одной стороны, благодаря этой способности, ферменты осуществляют бактерицидную функцию, убивая патогенные микроорганизмы, с другой — вовлечены в повреждение клеток и тканей организма-хозяина, что приводит к развитию галогенирующего стресса — дисбаланса между образованием АФГ и способностью организма удалять или нейтрализовать их избыточное количество. Среди АФГ важнейшей является хлорноватистая кислота (HOCl), поскольку концентрация Cl^- в крови значительно превосходит концентрации других галогенидов. Из пероксидаз млекопитающих особого внимания заслуживает миелопероксидаза (МПО) лейкоцитов, поскольку, во-первых, ее количество в крови превосходит количество других пероксидаз, во-вторых, это единственный фермент, который в физиологических условиях может катализировать образование HOCl в концентрациях достаточных для защиты организма от инфекций. МПО высвобождается во внеклеточное пространство главным образом при дегрануляции, нетозе или некрозе нейтрофилов. В докладе обсуждаются механизмы реакций АФГ с функциональными группами основных биологически важных химических соединений (белков, липидов, нуклеиновых кислот,

углеводов). Особое внимание уделено реакциям, протекающим с участием свободных радикалов. Рассмотрены продукты реакций АФГ с функциональными группами молекул, которые выполняют роль биомаркеров повреждения белка (Cl^- -содержащие эпитопы в белке, 3-хлор- и 3-бромтирозин), липидов (2-хлоргексадеканаль, хлоргидрины ацильных цепей липидов) и нуклеиновых кислот (5-хлорурацил, 8-хлор-2'-дезоксигуанозин) при развитии галогенирующего стресса. Продемонстрировано, что галогенирующий стресс является причиной возникновения или сопровождает развитие ряда заболеваний, ассоциированных с воспалением, среди которых можно выделить сердечно-сосудистые, эндокринные, нейродегенеративные и др.

Источники финансирования. Поддержано грантом РНФ № 20-15-00390-П.

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СИГНАЛ ИНСУЛИНА В РЕГУЛЯЦИИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ИНСУЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В НЕЙРОНАХ

Помыткин И.А.

ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», Москва

Инсулин вызывает кратковременный 30-секундный выброс H_2O_2 в нейронах (окислительный сигнал инсулина), который имеет митохондриальное происхождение и участвует в регуляции активности рецептора.

Фосфорилирование (т.е., активация) рецептора инсулина проявляет сверхчувствительность к ингибированию окислительного сигнала: рецептор активируется при условии, что сигнал достигает пороговой величины, и не активируется даже в присутствии максимальных концентраций инсулина, если окислительный сигнал инсулина не достигает пороговой величины. Таким образом, окислительный сигнал инсулина регулирует чувствительность инсулиновых рецепторов в нейронах к инсулину в норме.

Выявленный механизм представляет собой новую биомишень для разработки новых подходов к лечению нейрональной инсулиновой резистентности при патологиях. В частности, в рамках выявленного механизма был разработан нейрональный инсулин-сенситайзер, который показал эффективность в лечении ишемического инсульта в раннем восстановительном периоде по результатам II и III фаз клинических исследований.

СИНДРОМ КОМПЬЮТЕРНОГО ЗРЕНИЯ: ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКАЯ ПАТОЛОГИЯ СОВРЕМЕННОЙ ЭПОХИ

Сенин И.И.

ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Москва

Синдром компьютерного зрения представляет собой патологию современной эпохи, характеризующуюся наличием различных глазных и поведенческих симптомов, вызванных длительным использованием электронных устройств с цифровым экраном. По мере того как использование электронных устройств с цифровым экраном становится все более распространенным и интегрированным в повседневную жизнь, проблемы со здоровьем глаз из-за их использования становятся все более серьезными. Среди основных проявляющихся симптомов со стороны органа зрения — сухость глаз, покраснение конъюнктивы и затуманенное зрение. Сухость глаз или синдром сухого глаза определяется как нарушение физиологии слезной пленки, приводящее к различным патологическим состояниям клеток глазной поверхности.

Последние клинические исследования, направленные на понимание патофизиологии сухого глаза у пользователей электронных устройств с цифровым экраном, продемонстрировали, что патогенетический механизм не ограничивается дисфункцией слезного аппарата, а также включает новые факторы, такие как снижение частоты моргания и неполное моргание во время зрительных нагрузок.

В настоящем докладе будут представлены последние представления о причинах изменения физиологии слезной пленки при нарушении паттернов мигательного рефлекса, возможной причине нарушения окислительно-восстановительного баланса в слезе, проблемах профилактики сухости глаз у пользователей электронных устройств с цифровым экраном, а также перспектив использования антиоксидантной терапии для улучшения их качества зрения.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (грант № 24-25-00224).

ИССЛЕДОВАНИЕ ГАЛОГЕНИРУЮЩЕГО СТРЕССА В РАЗЛИЧНЫХ МОДЕЛЯХ ВОСПАЛЕНИЯ НА ОБЪЕКТЕ *Danio rerio*

Сергеева А.Д.^{1,3}, Чеботарев А.С.^{4,5}, Храмова Ю. В.^{1,3}, Васильев А.В.¹, Белоусов В.В.^{1,2,6}, Ланин А.А.^{4,5}, Билан Д.С.^{1,2}

¹ФГБУН ГНЦ РФ «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

³ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова», Москва

⁴ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова», Физический факультет, Москва

⁵ООО «Международный центр квантовой оптики квантовых технологий» (Российский квантовый центр), Москва

⁶ФБГУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» ФМБА РФ, Москва

Введение. *Danio rerio* - популярный объект для *in vivo* исследований, в том числе для моделирования патологий, свойственных человеку, а также для поиска и тестирования новых подходов терапии. Важным преимуществом *D. rerio* является прозрачность тканей на ранних стадиях развития. При помощи разработанного в нашей лаборатории генетически кодируемого флуоресцентного индикатора Hypocrates для регистрации динамики гипогалогенных кислот и их производных нам удалось оценить галогенирующий стресс нейтрофилов *D. rerio* в трёх популярных на данном объекте моделях воспаления: ампутации хвостового плавника, бактериальной инфекции, а также химически индуцированного воспаления кишечника.

Методы. Нами были получены линии рыб *D. rerio* с экспрессией гена биосенсора Hypocrates2 или флуоресцентного белка mCherry локально в нейтрофилах с помощью системы Tol2-транспозона. Все манипуляции проводили на анестезированных мальках в MS-222 в соответствии с протоколами, одобренными этическим комитетом ГНЦ ИБХ РАН. Индукцию воспалительных процессов в кишечнике вызывали химическими агентами DSS (декстран сульфат натрия) и TNBS (тринитробензолсульфокислота). Моделирование бактериальной инфекции проводили при помощи подкожной микроинъекции суспензии бактерий *E. coli*. Ампутацию хвостового плавника проводили микрохирургическим скальпелем. Флуоресцентный сигнал реги-

стрировали прижизненно в режиме реального времени.

Результаты. На модели ампутации хвостового плавника мы продемонстрировали миграцию нейтрофилов в область повреждения. Ткани в области воспаления подвергаются галогенирующему стрессу, что было показано нами с помощью биосенсора Hypocrates, однако сами лейкоциты защищают свое внутриклеточное окружение, поскольку увеличения продуктов гипогалогенного стресса в этих клетках не обнаружено. При бактериальной инфекции *D. rerio*, вызванной инъекцией в ткани клеток *E. coli*, мы регистрировали выраженный всплеск продуктов галогенирующего стресса в фагосоме, однако в самих лейкоцитах образования или проникновения из фагосомы активных форм галогенов не происходит. Примечательно, что только в модели хронического воспаления кишечника нейтрофилы в повреждённых тканях демонстрировали повышенный сигнал Hypocrates2, что отражает влияние галогенирующего стресса на клетки. Вероятно, механизмы регуляции воспалительных процессов протекают по-разному в исследуемых моделях.

Источники финансирования. При поддержке грантов РНФ № 22-15-00299, № 23-75-01140.

ВЛИЯНИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО МОНОФЕНОЛА ТС-13 НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ БЕЛКОВ ВОСПАЛЕНИЯ И РЕДОКС-БАЛАНСА, УРОВЕНЬ ТИРОЗИНГИДРОКСИЛАЗЫ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Серых А.Е.¹, Ромах Л.П.¹, Петрова Е.С.¹, Храпова М.В.¹, Олейник А.С.², Меньщикова Е.Б.¹

¹ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» СО РАН, Новосибирск

²ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный педагогический университет», Новосибирск

Понимание механизмов, лежащих в основе болезни Паркинсона, необходимо для разработки новых методов диагностики, лечения и профилактики этого заболевания, второго по распространенности среди нейродегенеративных после болезни Альцгеймера. В патогенезе болезни Паркинсона ключевую роль играют окислительный стресс и воспаление, что делает изучение антиоксидантных и противовоспалительных стратегий критически важным для разработки новых терапевтических подходов.

В данной работе моделирование ранней стадии болезни Паркинсона осуществляли на мышах C57BL/6 путем внутрибрюшинного введения нейротоксина 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МРТР).

У мышей данной группы в области прилежащих ядер головного мозга (*nucleus accumbens*) наблюдалось увеличение экспрессии генов (по сравнению с контролем): *Nfe2l2*, кодирующего транскрипционный фактор Nrf2; *Nqo1*, экспрессия которого регулируется Nrf2, и чей продукт участвует в защите клеток от окислительного стресса; *Nos2*, кодирующего индуцибельную синтазу оксида азота, которая продуцирует NO в ответ на воспаление; а также *Th* — гена тирозингидроксилазы, лимитирующей скорость биосинтеза дофамина. Назначение синтезированного нами 3-(3'-трет-бутил-4'-гидроксифенил)пропилтиосульфата натрия (ТС-13) животным, получавшим МРТР, уменьшало содержание мРНК двух последних генов, что свидетельствует о его противовоспалительном эффекте и о способности предотвращать гибель нейронов; также увеличивалась экспрессия гена *Nfe2l2*. Согласно данным вестерн-блоттинга, содержание тирозингидроксилазы в группах не различалось. Показано, что плотность дофаминергических нейронов

в чёрной субстанции (*substantia nigra*) после введения МРТР была статистически значимо меньше, чем в контроле, что соответствует характерным изменениям при болезни Паркинсона; назначение ТС-13 не изменяло данный показатель. Однако в зоне полосатого тела (*corpus striatum*) введение ТС-13 на фоне МРТР снижало выраженность падения уровня тирозингидроксилазы по сравнению с мышами, не получавшими монофенол, что указывает на потенциальную защитную роль антиоксиданта ТС-13 в отношении дофаминергических нейронов.

Таким образом, результаты исследования указывают на возможность синтетического монофенола ТС-13 снижать скорость нейродегенерации на ранней стадии болезни Паркинсона.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-25-00231, <https://rscf.ru/project/22-25-00231>, с использованием оборудования ЦКП «Современные оптические системы» и «Протеомный анализ», поддержанного финансированием Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2021-691).

ИССЛЕДОВАНИЕ КИНЕТИКИ ОКСИДАТИВНОГО ГЕМОЛИЗА ЭРИТРОЦИТОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ РАДИКАЛЬНЫХ ИНИЦИАТОРОВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ

Соколова Е.М.¹, Дубенская Н.А.^{1,2}, Психа Б.Л.¹, Нешев Н.И.¹

¹ФГБУН Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии РАН, Черноголовка

²ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», Москва

Поиск и исследование веществ, обладающих антиоксидантными свойствами, и последующая разработка на их основе фармакологических препаратов до настоящего времени продолжает оставаться одним из базовых направлений химической биологии и медицинской химии. Это обуславливает актуальность и практическую значимость разработки биологических моделей, на которых осуществляется тестирование новых соединений на антиоксидантную активность. Широкое распространение получило использование для этой цели модели индуцированного оксидативного гемолиза эритроцитов. В качестве индукторов гемолиза используют известные в химии полимеров азо- и пероксидные инициаторы радикальной полимеризации.

Была изучена кинетика оксидативного гемолиза 0,2% суспензии эритроцитов мыши под действием 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорида (AAPH), пероксида водорода (H₂O₂), трет-бутилгидропероксида (t-BuOOH), гидропероксида кумола (Cumyl-OOH). Гемолитическую активность инициаторов характеризовали длительностью периода индукции гемолиза.

Кинетические закономерности гемолиза под действием исследуемых соединений существенно различались. В случае AAPH величина периода индукции гемолиза убывала обратно пропорционально квадратному корню от концентрации инициатора, что согласуется с классической теорией радикально-цепного окисления углеводов. В случае t-BuOOH период индукции гемолиза убывал медленнее, проявляя тенденцию к насыщению. Данная зависимость хорошо аппроксимировалась биэкспоненциальной функцией вида: k_1 и k_2 равны 2×10^{-2} и 65×10^{-2} , соответственно. Это может указывать на возможное присутствие двух различных факторов, влияющих на исследуемую систему.

HP и Cumyl-OOH вызывали гемолитические эффекты примерно в том же диапазоне концентраций, что и t-BuOOH, однако сквозную концентрационную зависимость в этом случае получить не удается.

Полученные в данной работе результаты согласуются с представлением, что в случае с AAPH основной радикальной формой является образующийся при разложении AAPH в водной среде пероксидный радикал, который атакует мембрану клетки снаружи. В то же время под действием пероксидов оксидативные процессы вначале иницируются внутри клетки с участием гемоглобина, после чего первичные радикальные формы атакуют мембрану изнутри, что, в целом, делает систему более сложной. Вывод, что в эритроцитарной модели индуцированного оксидативного гемолиза эритроцитов в качестве инициатора ПОЛ предпочтительнее использовать азогенератор пероксидных радикалов-AAPH.

Источники финансирования: Работа выполнена при финансовой поддержке Государственного задания № 12402500019-2.

АКТИВНОСТЬ РЕДОКС-РЕГУЛИРУЮЩИХ СИСТЕМ В ЛАТЕНТНЫЙ ПЕРИОД ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПЕРВИЧНОГО И ВТОРИЧНОГО ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО ОПУХОЛЕВОГО ПРОЦЕССА

Сурикова Е.И., Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Нескубина И.В., Шакарян Э.Г., Колесников Е.Н., Снежко А.В., Бандовкина В.А., Трепитаки Л.К., Погорелова Ю.А., Лесовая Н.С.
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону

Использовали модель метастазирования в печень растущей в селезенке опухоли, которая появляется на 5-й, а метастазы в печени — на 7-й неделе после перевивки. На этой модели в латентный период роста и метастазирования опухоли (1–2 нед после перевивки) показана одновременная активация окислительных процессов в селезенке и печени и неполноценность антиоксидантной защиты в печени, что способствует прооксидантным условиям, готовя почву для метастазирования.

Цель: изучить динамику содержания тиоредоксина 1 (Trx1), тиоредоксинредуктазы 1 (TR1), глутатион-S-трансферазы Pi (GSTPi) в селезенке и печени в латентный период роста и метастазирования саркомы 45 (C45).

Материал и методы. Создавали модель, перевивая C45 в селезенку, предварительно выведенную под кожу за 3 недели до этого белым нелинейным самцам крыс (n=21). Группа 1 — интактная (n=7), группа 2 — крысы через 1 неделю (n=7) и группа 3 — крысы через 2 недели (n=7) после перевивки C45 (латентный период). В гомогенатах селезенки и печени методом ИФА определяли содержание Trx1, TR1, GSTPi.

Результаты. В 1-й группе уровень Trx1 и TR1 в печени выше в 8,3 и 3,4 раза ($p<0,01$), чем в селезенке, а уровень GSTPi не отличался. Во 2-й группе в селезенке уровни Trx1 и TR1 возрастали, а в 3-й группе были выше в 1,7 ($p<0,05$) и 5,5 ($p<0,001$) раз соответственно, чем в 1-й, а GSTPi был ниже в 1,7 раза ($p<0,05$) в 2-й и в 2,8 раза ($p<0,001$) в 3-й группах, чем в 1-й. В печени в 2-й группе Trx1 и TR1 были ниже в 4,6 и 1,8 раза ($p<0,001$), чем в 1-й, в 3-й группе сохранялся более низкий уровень Trx1 (в 2,9 раза, $p<0,01$), а уровень TR1 восстанавливался до значений в 1-й группе, при этом GSTPi во 2–3-й группах

также восстанавливался до уровня в 1-й группе. Результаты свидетельствуют об исходно большей значимости Trx-системы в гомеостазе печени, чем селезенки. В латентный период роста и метастазирования опухоли активация окислительных процессов в селезенке сопровождалась как активацией антиоксидантной, так и редокс-регулирующей функций этой системы, а в печени — ее ингибированием, нарушая антиоксидантный и редокс-гомеостаз органа и создавая условия для развития патологии. Активность процессов детоксикации и глутатионилирования, регулируемые GSTPi, в латентный период в селезенке снижалась, а в печени соответствовала уровню в интактном органе.

Заключение. В целом представленные здесь результаты подтверждают и дополняют полученные ранее и свидетельствуют о формировании дисбаланса в защитных метаболических системах печени в латентный период метастазирования, формируя почву для него.

АНАЛИЗ КАРДИОПРОТЕКТОРНОГО ПОТЕНЦИАЛА ДИПИКОЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ДИКЛОФЕНАК-ИНДУЦИРОВАННОМ ПОРАЖЕНИИ МИОКАРДА

Тутунарь А.Н., Попова Т.Н., Крыльский Е.Д., Олейник С.А., Кириченко Е.В.
ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Воронеж

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) входят в число наиболее часто используемых лекарственных средств по всему миру, однако их применение приводит к дисбалансу простаноидов и как итог к гипоксии и окислительному стрессу. Для нейтрализации окислительного стресса в клетке существует антиоксидантная система защиты, которая при патологии нуждается в поддержке. Одним из перспективных соединений с антиоксидантной активностью является дипиколиновая кислота.

Целью данной работы является анализ кардиопротекторного потенциала дипиколиновой кислоты в условиях диклофенак-индуцированного поражения миокарда.

Для эксперимента использовались самцы белых лабораторных крыс линии Wistar массой 250 грамм. Контрольная группа крыс с 15-го дня получала физиологический раствор на протяжении 7 дней. Вторая группа крыс в 1-й день получала 100 мкл адьюванта Фрейнда, затем с 15-го дня диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг в течение 7 дней. Третья группа крыс одновременно с диклофенаком натрия получала перорально дипиколиновую кислоту в дозе 10 мг/кг массы тела. На 21-й день от начала эксперимента крыс усыпляли, извлекали сердце и собирали кровь, которые использовали для дальнейшего эксперимента. Активность аконитатгидратазы (АГ) определяли спектрофотометрически при 233 нм. Среда для анализа активности АГ включала: 50 мМ трис-HCl-буфер, pH 7,8, содержащий 0,15 мМ цитрат. Реакцию инициировали внесением исследуемого образца в спектрофотометрическую среду. Концентрацию цитрата оценивали по методу Нательсона. Интенсивность окраски анализировали при длине волны 430 нм. Фотометрирование проводили против контроля, представляющего собой 0,5 мл 10% раствора ТХУ, обработанного тем же способом. Резуль-

таты экспериментов сравнивали с контролем, достоверными считали результаты при $p < 0,05$.

Активность АГ в сыворотке крови второй группы уменьшилась относительно контрольной в 4,1 раза, в гомогенате сердца — в 1,9 раз. В сыворотке крови третьей группы увеличилась относительно второй в 4,3 раза, а в гомогенате сердца — в 1,9 раз. Содержание цитрата в сыворотке крови крыс и в гомогенате сердца выросла во второй группе животных относительно контрольной в 1,3 раз и 1,6 раза соответственно, а в третьей группе снизилось относительно второй в 1,2 раза и в 1,3 раза соответственно.

Таким образом, применение дипиколиновой кислоты, по всей видимости, нейтрализует АФК, что подтверждается изменением активности АГ и концентрации цитрата в сторону контрольных значений.

ИЗМЕНЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ СИНДРОМЕ СУХОГО ГЛАЗА, ВЫЗВАННОМ ПОДАВЛЕНИЕМ РЕФЛЕКСА МОРГАНИЯ

Тюлина В.В., Сенин И.И.

ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Москва

Нарушение окислительно-восстановительного баланса, возникающее в результате воздействия свободных радикалов и/или H_2O_2 , вовлечено в патогенез многих хронических глазных заболеваний, включая возрастную макулярную дегенерацию, катаракту, вызванную старением и чрезмерным воздействием солнечного света. Слезная пленка (или слезная жидкость) поверхности глаза, является первым звеном, защищающими глаз от патогенных микроорганизмов, инородной инвазии и сухой окружающей среды. Эта биологическая жидкость подвергается воздействию атмосферного кислорода и солнечного света (включая ультрафиолетовый диапазон), которые являются причинными факторами окислительного стресса в биологических системах. Тем не менее, потенциальная роль нарушения окислительно-восстановительного баланса слезной жидкости при распространенных заболеваниях глаз человека тщательно не исследована. Синдром сухого глаза определяется как нарушение физиологии слезной пленки, которое приводит к различным аномальным состояниям клеток глазной поверхности. Недавний прогресс в понимании патофизиологии сухого глаза продемонстрировал, что патогенетический механизм не ограничивается дисфункцией слезного аппарата, но также включает внешние факторы, такие как снижение частоты моргания и неполное смыкание век во время моргания из-за зрительных нагрузок.

Мы создали модель сухого глаза с подавлением моргания на кроликах, используя новый экспериментальный подход. В нашей экспериментальной модели для подавления рефлекса моргания использовались векорасширители, которые блокировали мигательный рефлекс. Эта экспериментальная модель сухого глаза имитирует нарушения рефлекса моргания, который наблюдается у людей

при использовании терминалов визуального отображения, включая компьютеры, гаджеты и смартфоны.

В исследовании, проведенном на нашей модели сухого глаза на кроликах, поверхностная кератопатия сопровождалась изменением общей антиоксидантной активности слезной жидкости, снижением содержания в ней низкомолекулярных антиоксидантов и увеличением содержания маркера окислительного стресса малонового диальдегида.

Наши результаты свидетельствуют о возможной тесной взаимосвязи между нарушением окислительно-восстановительного баланса в слезной жидкости и этиологией нарушения поверхности роговицы при синдроме сухого глаза при подавлении рефлекса моргания.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (грант № 24-25-00224).

РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СУБКЛЕТОЧНОЙ ДИНАМИКИ (ПСЕВДО)ГИПОГАЛОГЕННЫХ КИСЛОТ

Чебаненко В.В.¹, Храмова Ю.В.^{1,2}, Костюк А.И.^{1,3}, Билан Д.С.^{1,3}

¹ФГБУН ГНЦ РФ «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

²ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Москва

³ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Гипогалогенные кислоты по своей природе чрезвычайно реакционноспособные соединения с общей формулой HOX , где X соответствует атому галогена. В биологических системах наибольший интерес представляют хлорноватистая и бромноватистая кислоты, а также гипотиоциановая кислота, которую по сходству химических свойств причисляют к группе гипогалогенных кислот, называя псевдогипогалогенной. В организмах хордовых животных эти агенты синтезируются преимущественно клетками, ассоциированными с иммунными функциями, при помощи ферментов из семейства гемовых пероксидаз: миелопероксидазы, лактопероксидазы и эозинофильной пероксидазы. В норме такие высокореактивные соединения служат для борьбы с чужеродными агентами. Однако нарушения регуляции активности гемовых пероксидаз приводит к развитию галогенирующего стресса, повреждающего собственные клетки и ткани организма. К настоящему моменту установлено, что галогенирующий стресс лежит в основе патогенеза многих заболеваний. Однако субклеточные механизмы развития галогенирующего стресса до сих пор не ясны в силу отсутствия (до недавнего времени) оптимальных инструментов для исследования.

Мы разработали панель версий генетически кодируемых флуоресцентных биосенсоров Nurocrates для регистрации активных форм галогенов. Мы получили версии биосенсора для направленной локализации в различных внутриклеточных компартментах, в частности, были получены версии для регистрации продуктов галогенирующего стресса в ядре, цитоплазме, митохондриях и примембранном пространстве эукариотических клеток. Мы показали работоспособность этого набора

инструментов в нейрон-подобных клетках линии Neuro2A. Кроме того, мы оценили цитотоксические эффекты, которые оказывают (псевдо)гипогалогенные кислоты и их производные на эти клетки в широком диапазоне концентраций. Нашей конечной целью является сопоставление цитотоксических эффектов и динамики агентов галогенирующего стресса в клетке, что существенно расширит представление о механизмах стресса на субклеточном уровне.

Источники финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФ, грант 23-75-30023.

ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ТИОРЕДОКСИНА КАК МИШЕНЬ ОСТАНОВКИ ПРОЛИФЕРАЦИИ КЛЕТОК ЭПИТЕЛИЯ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ИНДУЦИРОВАННОМ РОСКОВИТИНОМ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ

Шахристова Е.В., Степовая Е.А.

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск

Свободно-радикальные процессы, сопровождающие воспалительные, онкологические, сердечно-сосудистые и другие заболевания, по-прежнему остаются предметом пристального изучения для установления молекулярных механизмов нарушений пролиферации клеток, которые могут быть положены в основу разработки персонализированных подходов к диагностике и терапии социально значимых патологий.

Цель исследования — изучение окислительной модификации белков (ОМБ), в том числе карбонилированного тиоредоксина, и ее роли в нарушении пролиферации клеток эпителия молочной железы при окислительном стрессе (ОС), индуцированном розковитином (ROSC).

В исследованиях использовали культуру клеток эпителия молочной железы человека линии HBL-100. В среду инкубации вносили 20 мкМ ROSC, индуцировавшего развитие ОС, и оценивали распределение по фазам клеточного цикла методом проточной цитофлуориметрии, интенсивность ОМБ — по концентрации карбонильных производных белков, тиоредоксина и его карбонилированной формы методом вестерн-блоттинга. Интенсивность развития ОС определяли по продукции активных форм кислорода (АФК) и содержанию восстановленного (GSH), окисленного (GSSG) глутатиона и величины их отношения.

Установлено, что в клетках линии HBL-100 ROSC способствовал снижению пролиферации (уменьшение количества клеток в 1,2 раза ($p < 0,01$) в G0/G1 фазах, увеличение в 1,4 раза ($p < 0,01$) в G2/M и 1,1 раза ($p < 0,01$) S фазах) по сравнению с интактной культурой. ROSC индуцировал развитие ОС в клетках линии HBL-100: возрастала концентрация АФК в 1,4 раза ($p < 0,01$) и GSSG — в 1,2 раза ($p < 0,05$) и снижались содержание GSH в 2,3 раза ($p < 0,05$), величина отношения GSH/GSSG — в 2,6 раза ($p < 0,05$) и тиоредоксина — в 1,1 раза ($p < 0,01$)

по сравнению с интактной культурой. На фоне развития ОС при действии ROSC в клетках линии HBL-100 нами выявлено возрастание содержания карбонильных производных белков (6,2 раза и 5,1 раза ($p < 0,01$)) в условиях спонтанного окисления протеинов (при λ 274 и 363 нм) и карбонилированного тиоредоксина в 2,2 раза ($p < 0,01$) по сравнению с интактной культурой.

Образование карбонильных производных белков — нерепарируемый процесс, и продукты свободнорадикального окисления протеинов способны потенцировать повреждения других молекул. При действии ROSC карбонилирование тиоредоксина способствовало нарушению его редокс-регуляторной роли и невозможности участия в конформационных перестройках различных белковых молекул (в том числе циклин-зависимых протеинкиназ), что приводило к нарушению выполняемых ими функций и остановке пролиферации клеток.

ВЗАИМОСВЯЗЬ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА С НЕГАТИВНОЙ СИМПТОМАТИКОЙ ПРИ ПАРАНОИДНОЙ ШИЗОФРЕНИИ

Юсупова З.Ш., Рогов А.В., Абдуллаева В.К.

Ташкентский Педиатрический Медицинский институт, Ташкент, Узбекистан

Актуальность. Тяжелые психические расстройства, такие как шизофрения, характеризующиеся проявлением негативной симптоматики, представляют собой существенную проблему в терапии пациентов. Известно, что дефицитарная симптоматика развивается вследствие дисфункционального состояния нейронов и синаптических связей, что может быть тесно связано с оксидативным стрессом, где значимую роль играет глутатион.

Цель исследования. Определить взаимосвязь оксидативного стресса с негативной симптоматикой путем определения уровня глутатиона в плазме крови у больных параноидной шизофренией.

Материалы и методы. Исследование проводилось у мужчин и женщин с установленным диагнозом по МКБ-10 — F20.0 «Параноидная шизофрения». Степень выраженности негативной симптоматики оценивалась по шкале SANS (Scale for the Assessment of Negative Symptoms), в результате чего было отображено 27 пациентов в возрасте от 34 по 45 лет, выраженность минус-симптомов которых составляет $3,43 \pm 0,72$ балла, что соответствует умеренной выраженности симптоматики. Контрольную группу составило 14 человек. Уровень глутатиона в плазме определялся использованием колориметрического метода с реактивом Элмана.

Результаты и обсуждение. В ходе исследования было выявлено существенное отличие уровня глутатиона у пациентов с параноидной шизофренией по сравнению с контрольной группой. У пациентов с параноидной шизофренией среднее выявленное значение глутатиона составляло $0,61 \pm 0,22$ ммоль/л, что было ниже среднего показателя у контрольной группы ($1,14 \pm 0,36$ ммоль/л). Пониженный показатель глутатиона свидетельствует о повышенном уровне оксидативного стресса, одного из ключевых аспектов механизма повреждения клеток.

Выводы. Нарушение антиоксидантной системы организма может быть тесно связано с развитием негативной симптоматики, обусловленной дисфункцией клеточных структур в головном мозге, что способствует их несинхронизированной работе. Данное исследование может быть значимым при определении терапевтической тактики для больных параноидной шизофренией.

ГИДРОГЕЛИ ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА В КАЧЕСТВЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ МАТЕРИАЛОВ БИМЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Бежанидзе Е.З., Скуредина А.А., Кудряшова Е.В.

ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Химический факультет, Москва

Антибактериальные нанобиоматериалы в последние годы становятся все более востребованными, поскольку инфекционные воспаления являются важной проблемой, влияющей на заживление ран и воспаление слизистых оболочек. Предотвращение угрозы развития инфекции, а также хорошего терапевтического эффекта можно достичь при использовании гидрогелей на основе поливинилового спирта с инкапсулированными препаратами, обладающими выраженными антибактериальными свойствами широкого спектра действия. Гидрогели просты в применении и позволяют улучшить физико-химические свойства антибактериальных препаратов (АП): растворимость и обусловить замедленное высвобождения лекарства, что в совокупности будет способствовать пролонгированному противомикробному действию. В данной работе были синтезированы полимерные матрицы на основе поливинилового спирта методом 4 циклов замораживания-оттаивания. В матрицу носителя были инкапсулированы АП на начальной стадии синтеза (известные противомикробные вещества — фуксин, клотримазол, эритромицин и хлорамфеникол) со степенью загрузки ~0,15–0,25 мг АП на 1 мг полимера. Структура полученных систем была охарактеризована методом ИК-спектроскопии и ИК-микроскопии. Методом УФ-спектроскопии измерялась кинетика высвобождения АП из полимерных матриц в фосфатном буфере (pH 7.4) и в сыворотку крови.

Показано, что АП распределен в носителе равномерно. Установлено, что для АП характерно замедленное высвобождение из биоматериала: концентрация препаратов с инкапсулированным хлорамфениколом, фуксином или комплексом фуксина с циклодекстрином достигает плато за 900 мин, а препарат с клотримазолом выходит крайне

медленно, и почти не удается его детектировать. В присутствии белков происходит увеличение скорости высвобождения лекарств и достижение почти 100% для образцов с инкапсулированным фуксином и хлорамфениколом. Показано, что степень высвобождения препаратов позволяет достичь выраженной антибактериальной активности, что было продемонстрировано на грамположительных и на грамотрицательных бактериях *E. coli* и *B. subtilis* методом Кирби–Бауэра.

Полученные материалы имеют перспективы применения в качестве готовой субстанции для предотвращения развития инфекций и терапии бактериальных заболеваний.

СИНТЕЗ И ТЕСТИРОВАНИЯ *IN VITRO* СПЕЦИФИЧНЫХ К ПСМА КОНЬЮГАТОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Бутакова Н.С.¹, Петросова К.А.², Лунёв А.С.², Ларенков А.А.², Мачулкин А.Э.¹

¹ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Химический факультет, Москва

²ФГБУ ГНЦ Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва

Одна из основных задач в мире на данный момент заключается в разработке новых лекарств для борьбы с раком, включая рак предстательной железы. Современные методы лечения и диагностики этого вида рака имеют недостатки, такие как осложнения после операции, нарушения гормонального баланса и низкая селективность. Адресная доставка лекарств может решить эту проблему, позволяя направленно транспортировать лекарственные и диагностические агенты в нужные участки организма [1]. На поверхности клеток предстательной железы находится простатический специфический мембранный антиген (ПСМА), экспрессия которого возрастает с увеличением агрессивности опухоли. В связи с этим высокая концентрация ПСМА в раковых клетках позволяет использовать его в качестве мишени для доставки лекарственных средств и диагностических агентов. В настоящее время активно исследуется создание конъюгатов для направленной доставки препаратов с заданной структурой, поскольку такие конъюгаты обладают высокой специфичностью и селективностью к опухолевым клеткам, способностью связываться с различными диагностическими агентами [2]. Кроме того, проводятся исследования *in vitro* синтезированных конъюгатов на клеточных линиях с различной экспрессией ПСМА. В данной работе осуществлен синтез серии низкомолекулярных конъюгатов, которые модифицированы лигандом простатического специфического мембранного антигена и содержат хелатирующий агент DOTA. Структура и чистота соединений была подтверждена методами ЯМР-спектроскопии и ВЭЖХ МС (чистота — 98%). Получены комплексы галлия-68 с синтезированными конъюгатами, проведена оценка их липофильности, радиохимической чистоты (РХЧ) и стабильности при инкубировании в фосфатном буфере

и сыворотке человека. Также исследовано накопление на поверхности клеток линии LNCaP и интернализация радиоконъюгатов галлия-68 в цитоплазме клеток линии LNCaP. В результате количественной оценки цитотоксического действия конъюгатов на клетки РПЖ линии LNCaP выраженной гибели клеток не выявлено.

Литература

1. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries // CA. Cancer J. Clin. 2021. Vol. 71. № 3. P. 209–249.
2. Machulkin A.E. et al. Synthesis and Preclinical Evaluation of Urea-Based Prostate-Specific Membrane Antigen-Targeted Conjugates Labeled with ¹⁷⁷Lu // ACS Pharmacol. Transl. Sci., 2024. Vol. 7, № 5. P. 1457–1473.

Источники финансирования. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-15-00098, <https://rscf.ru/project/22-15-00098/>.

ПРОЛОНГИРОВАННАЯ И КОНТРОЛИРУЕМАЯ КИНЕТИКА ВЫХОДА ПРЕПАРАТА ИЗ ПЛАТФОРМЫ ЛОКАЛЬНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ, ПОЛУЧАЕМОЙ МЕТОДОМ ПОСЛОЙНОГО ОСАЖДЕНИЯ

Вознюк А.А., Кудан Е.В.

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС», Научно-образовательная лаборатория тканевой инженерии и регенеративной медицины, Москва

Местные рецидивы в онкологии являются важной проблемой, зачастую связанной с ограничениями эффективности химиотерапии, такими как колебания концентрации препаратов в локализации опухолевых клеток и их неспецифичность, что приводит к нестабильному терапевтическому эффекту и снижению эффективности лечения.

Цель исследования — разработать биорезорбируемую платформу локальной химиотерапии с многомесячным и контролируемым высвобождением химиопрепарата.

Разработанная в данном исследовании платформа является многослойной и состоит из поликапролактоновой подложки и покрытия, содержащего химиопрепарат доксорубицин (ДОКС). Подложка была изготовлена методом литья из растворителя с последующим односторонним аминлизом для осаждения покрытия с одной из сторон подложки и обеспечения направленного выхода препарата. Подложка была охарактеризована с помощью ИК-спектроскопии, сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), колориметрических методов и измерения угла смачивания. Для стабилизации высвобождения ДОКС был предварительно приготовлен ионный комплекс между поли- γ -глутаминовой кислотой (ПГА) и ДОКС. Покрытие наносили на платформу путем послойного осаждения полиэлектролитов. Были протестированы разные методы нанесения покрытия, различные поликатионы и наличие пустых полиэлектролитных бислоев. Платформа была исследована с помощью СЭМ, атомно-силовой микроскопии и дифференциально-сканирующей калориметрии. Пустая платформа также была протестирована на цитотоксичность и цитосовместимость на клеточной линии рака яичников (SKOV-3) и первичных фибробластах человека. Противоопухолевая активность высвобожденного ДОКС *in vitro* оценивалась на клетках SKOV-3.

Количество аминогрупп на поверхности субстрата после аминлиза составило 118,1 мкг/мл. Ионный комплекс между ДОКС и ПГА был получен с эффективностью 99% и содержал 99 мкг/мг ДОКС. Общая нагрузка ДОКС в платформах составила 570 нг/см². Высвобождение ДОКС из полученных платформ продолжалось более 6 мес и характеризовалось минимальной взрывной кинетикой и равномерностью. По результатам исследований *in vitro*, платформа не проявляла цитотоксичности, характеризовалась хорошей цитосовместимостью и не препятствовала противоопухолевой активности ДОКС.

Метод перспективен для систем доставки лекарств и многомесячных терапевтических лечений, так как компенсирует взрывообразную кинетику высвобождения химиопрепаратов в аналогичных исследованиях и обеспечивает наибольшую длительность воздействия.

Источники финансирования: работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках программы стратегического академического лидерства «Приоритет 2030» в НИТУ МИСИС.

РОЛЬ КЛЕТОК КРОВИ В ДОСТАВКЕ НАНОЛЕКАРСТВ НА ОСНОВЕ ПОЛИМЕРОВ

Гельперина С.Э.

ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева», Москва

Введение. Наночастицы (НЧ) повышают эффективность лекарственных веществ (ЛВ), оптимизируя биораспределение и доставляя их в орган-мишень. Так, НЧ из полибутилцианоакрилата (PBCA НЧ), модифицированные полисорбатом 80, доставляют в мозг доксорубицин (Докс), который в свободном виде не преодолевает гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), а НЧ из сополимера молочной и гликолевой кислот (PLGA НЧ) способствуют доставке ЛВ в опухоль. Роль клеток крови в биораспределении этих НЧ мало изучена.

Цель — исследовать, как взаимодействие с клетками крови влияет на биораспределение PBCA НЧ и PLGA НЧ, нагруженных Докс.

Материалы и методы. В работе использовали НЧ размером 100–200 нм. Докс включали в состав НЧ в процессе их формирования. Фармакокинетику Докс, включенного в PBCA НЧ и PLGA НЧ, изучали на здоровых крысах. Транспорт НЧ в опухоль изучали на мышах BALB/c с подкожно имплантированной аденокарциномой 4Т1. Для исследования взаимодействия с клетками крови методами интравитальной микроскопии и проточной цитофлуориметрии использовали флуоресцентно меченные НЧ. Для описания процессов биораспределения НЧ были привлечены методы математического моделирования.

Результаты. Оба типа НЧ взаимодействуют с эритроцитами и иммунными клетками (в основном, с моноцитами и нейтрофилами). Показано, что активное взаимодействие PBCA НЧ с эритроцитами (до 90%) способствует их транспорту через ГЭБ. Вероятно, с одной стороны, эритроциты играют роль депо, препятствуя быстрому захвату НЧ макрофагами, а с другой — способствуют взаимодействию НЧ с церебральным эндотелием и последующему проникновению в мозг. Можно полагать, что именно благодаря взаимодействию с эритроцитами PBCA НЧ доставляют в мозг в ~1000 раз больше Докс, чем ПЭГилированные липосомы (Doxil®), экранированные от

взаимодействия с клетками стелс-оболочкой. В то же время, исследование биораспределения PLGA НЧ у мышей BALB/c с подкожно имплантированной аденокарциномой 4Т1 выявило ключевую роль иммунных клеток: показано, что именно ассоциация этих НЧ с нейтрофилами способствует их экстравазации в перитуморальное пространство. При этом важным фактором, влияющим на проникновение Докс в опухоль, является скорость его высвобождения из НЧ.

Заключение. Роль эритроцитов и иммунных клеток крови в биораспределении и жизненном цикле полимерных НЧ может быть обусловлена различными механизмами. Понимание этих механизмов позволит повысить эффективность и селективность действия систем доставки на основе НЧ.

Источники финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания (проект FSSM-2022-0003).

РАЗРАБОТКА СИСТЕМ ДЛЯ ТЕРАНОСТИКИ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА, СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ ЛИЗОЦИМОМ

Герштейн А.С.¹, Пермякова Е.С.¹, Шайбакова Ю.Д.², Штанский Д.В.¹

¹ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС», Научно-исследовательский центр «Неорганические наноматериалы», Москва

²ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС», Научно-образовательная лаборатория тканевой инженерии и регенеративной медицины, Москва

Химиотерапия является одним из распространенных методов лечения онкологических заболеваний. Однако недостаточная селективность противоопухолевых препаратов приводит к использованию больших концентраций лекарств, что вызывает сильные побочные эффекты и негативно сказывается на здоровых клетках. Для повышения эффективности препаратов используются направленные системы доставки, где носителями лекарства выступают наночастицы.

В данном исследовании используются наночастицы оксида железа Fe_3O_4 , поскольку они обладают высокой биосовместимостью и на их основе возможно создание контрастирующих агентов и препаратов для гипертермии. Для обеспечения характеристик частицы должны быть суперпарамагнитными (размер менее 30 нм).

Наночастицы оксида железа Fe_3O_4 были получены тремя методами: гидротермальным, методом прокаливания и соосаждения, проведено сравнение полученных частиц и выявлен оптимальный метод синтеза. Для обеспечения противоопухолевого эффекта частицы были загружены доксорубицином (загрузка 15%). Для предотвращения неспецифических взаимодействий наночастицы были покрыты биополимером лизоцимом, который имеет антибактериальные и противоопухолевые свойства (стабильные суспензии в течение 24 ч). Был исследован релиз препарата при различных pH, была показана стабильность при значениях pH 7,4 и 8,5, и высвобождение лекарства при pH=5,5.

Также были проведены тесты *in vitro* по оценке цитотоксичности получившейся системы в отношении клеточной линии Emt6 (рак молочной железы мыши) и здоровой клеточной линии NIH 3T3 (фибробласты мыши). Наночастицы Fe_3O_4 с ДОКСом оказали цитотоксическое действие касательно обеих кле-

точных линий, однако покрытие лизоцимом позволило снизить цитотоксический эффект в отношении здоровых клеток и способствовать их значительному росту.

Полученные результаты свидетельствуют о высоком потенциале использования наночастиц оксида железа Fe_3O_4 в создании систем для терагностики.

Источники финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке фонда РФН проект (грант №20-19-00120_П).

КОМБИНАЦИЯ МЕТОДОВ ПОЛИИОННОЙ СБОРКИ И ИНДУЦИРОВАННОЙ КРИСТАЛЛИЗАЦИЕЙ АДСОРБЦИИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ СИСТЕМ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ И МУЛЬТИМОДАЛЬНЫХ КОНТРАСТНЫХ АГЕНТОВ

Горин Д.А.

Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Сколковский институт науки и технологий», Москва

Современные наноструктурированные частицы, применимые в медицине, представляют собой multifunctional системы, к которым предъявляется целый ряд требований: 1) способность переносить инкапсулированное биоактивное вещество в необходимой терапевтической дозе; 2) преодоление барьеров, например гематоэнцефалического; 3) обеспечение адресной доставки; 4) реализация возможности визуализации данных систем *in vivo*, используя современные методы диагностики, такие как МРТ, флуоресцентная томография, оптоакустическая проточная цитометрия и томография, оптическая когерентная томография и т.д.; 5) обеспечение сенсорной функции; 6) дистанционное высвобождение инкапсулированного вещества в заданном месте в заданное время. Данные объекты являются инструментами нового направления медицины — тераностики, которая специализируется на комплексном решении терапевтических и диагностических задач. К методам, позволяющим получать такие частицы, относятся метод последовательной адсорбции [1-3], метод индуцированной кристаллизации адсорбции [2-5], и их комбинация [4]. Показано, что наличие неорганических наночастиц и/или органических красителей в составе структур ядро-оболочка и микрокапсул, позволяет визуализировать оптоакустическим методом [6-10]. Ядро может быть в газообразной [6,7], жидкой [8] и твердой фазе [9]. Наличие жидкого или газообразного ядра обеспечивает ультразвуковой контраст [7,8]. Установлено, что оптоакустический сигнал от капсул определяется концентрацией вещества, поглощающего лазерное излучение, и его расположение в капсуле (полимерной оболочке/внутреннем объеме капсул) [1,3,10]. Наличие наночастиц оксида железа позволяет обеспечить визуализацию частиц методами ОА визуализации и МРТ [8]. Кроме того, присутствие наночастиц оксида железа в составе капсул позволяет использовать магнитное поле

для их управляемой агрегации и перемещения [5]. МРТ контраст изображения микрокапсул, содержащих наночастицы оксида железа, можно изменять варьируя среднее значение между наночастицами оксида железа в нанокompозитной оболочке, а оболочку капсул можно разрушать с помощью УЗ воздействия. Полученные наноструктурированные частицы совместно с современными методами фотоники и акустики, которые уже стали привычными, как для доклинических, так и клинических исследований, могут быть использованы для создания новых систем доставки лекарств, комбинирующих такие функциональности, как навигация, визуализация, *in vivo* мониторинг биохимических процессов, активированное дистанционно высвобождение биоактивных веществ *in vivo* в зависимости от значений параметров, характеризующих состояние пациента.

Литература

1. M.D. Mokrousov et al, Biomedical Optical Express, 10, 9, 2019, 4775-4789
2. M.V. Novoselova et al, Colloids and Surface B: Biointerfaces, 181, 2019, 680-687
3. M.D. Mokrousov et al, Biomedical Optics Express, 2021, 12(6), 3181-3195
4. S.V. German et al, Scientific Reports, 2018, 8(1), 17763
5. E.S. Vavaev et al, ACS Applied Nano Materials, 2022 5 (2), 2994-3006
6. J. Mujtaba et al, Advanced Materials, 2021, 2007456(1-40)
7. R.A. Barmin et al, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2022, 219, 112856
8. E.A. Maksimova et al, Laser & Photonics Reviews, 2023, 2300137
9. R. E. Noskov et al, Adv. Mater. 2021, 2008484
10. M.V. Novoselova et al, Photoacoustics, 2020, 100186

Настоящая работа поддержана Программой «Клевер»: Совместные проекты Сколтеха, МФТИ и ИТМО.

ПОЛУЧЕНИЕ НОВЫХ ГЕТЕРОБИВАЛЕНТНЫХ ПОЛИПЕПТИДНЫХ КОНЬЮГАТОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Григорьев Г.П., Петров С.А.

ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Москва

В настоящее время разработка новых лекарственных препаратов для борьбы с онкологическими заболеваниями — одна из главных задач в мире. Рак предстательной железы (РПЖ) находится на втором месте по заболеваемости и на пятом по смертности среди мужчин. Современные методы лечения и диагностики РПЖ имеют ряд недостатков, таких как: послеоперационные осложнения, расстройства гормонального фона, низкая селективность и достоверность результатов. Решить данную проблему помогает концепция адресной доставки, которая заключается в направленном транспорте лекарственного вещества в заданную область организма.

Для осуществления этого подхода необходимо выбрать мишени, активно экспрессирующие при РПЖ, и разработать лиганды для селективного связывания с ними. Одной из таких мишеней является простатический специфический мембранный антиген (ПСМА) — также известный как глутаматкарбоксипептидаза II (GCP II), представляющий собой трансмембранную металлопептидазу типа II [1]. Второй по распространённости мишенью при РПЖ является гастриновый рецептор (GRPR), он экспрессируется у 91% пациентов с РПЖ [2].

Путем объединения в одну молекулу лигандов, направленных к ПСМА и направленных к рецептору, высвобождающему гастрин, можно получить гетеробивалентный лиганд. Применение концепции гетеробивалентных конъюгатов позволит объединить достоинства лигандов к каждой мишени в одной молекуле.

В настоящей работе были разработаны и оптимизированы методы синтеза гетеробивалентных лигандов, аффинных к обоим мишеням, содержащих различные терапевтические и диагностические агенты для адресной доставки в опухолевые клетки простаты.

Литература

1. Barinka C. A high-resolution structure of ligand-free human glutamate carboxypeptidase II // *Acta Crystallogr. Sect. F Struct. Biol. Cryst. Commun.* 2007. V. 63. № 3. P. 150–153.
2. Patel O., Shulkes A., Baldwin G.S. Gastrin-releasing peptide and cancer // *Biochim. Biophys. Acta - Rev. Cancer.* 2006. V. 1766. № 1. P. 23–41.

Источники финансирования. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-73-00066.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НОВОГО ПРЕПАРАТА ФТОРХИНОЛОНОВОГО РЯДА С ЧЕЛОВЕЧЕСКИМ СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ

Колмаков И.Г., Скуредина А.А., Гришин Д.А., Белоглазкина Е.А., Кудряшова Е.В.
ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Москва

Резистентность патогенов представляет серьёзную угрозу для системы здравоохранения. По оценкам *The Review on Antimicrobial Resistance*, в 2050 г. от устойчивых микроорганизмов будет ежегодно умирать 10 млн человек. Появление устойчивости говорит о необходимости в разработке новых препаратов, например, производных фторхинолонов (ФХ), и исследовании их свойств: растворимости и способов доставки к мишеням. Для увеличения растворимости липофильных препаратов часто используют циклодекстрины (ЦД), которые способны образовывать нековалентные комплексы с препаратами. При внутривенном введении на пути к мишени лекарственная форма может взаимодействовать с различными компонентами плазмы крови человека, например, с человеческим сывороточным альбумином (ЧСА).

В работе использовали ранее синтезированное соединение — 3-[3,4-диметоксифенил]-3-[4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-6-фтор-3-ил]пропановую кислоту, предоставленную лабораторией БАОС Химического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова. При образовании комплекса ФХ·ЦД в мольном соотношении 1:1 растворимость препарата составляет 1 мг/мл при $\text{pH} = 7.4$. Методом ИК-спектроскопии установлена константа связывания ФХ·ЦД по изменению интенсивности ИК-полосы соединения 1425 см^{-1} с последующей линеаризацией данных по Скетчарду: $K_1 = (1,7 \pm 0,2) \cdot 10^3 \text{ М}$ и $K_2 = (3,4 \pm 0,4) \cdot 10^2 \text{ М}$. Наличие двух констант говорит о вероятном существовании двух сайтов связывания (ароматический фторсодержащий фрагмент и метоксибензольное кольцо).

Для оценки эффективности доставки препарата к мишени изучали взаимодействие ФХ и комплекса ФХ·ЦД с ЧСА. Определены константы Штерна–Фольмера с помощью анализа тушения флуоресценции белка при длине волны возбуждения 280 нм: $K_1(\text{ФХ} + \text{ЧСА}) = (67,8 \pm 6,7) \cdot 10^3 \text{ М}^{-1}$, $K_2(\text{ФХ} \cdot \text{ЦД} + \text{ЧСА}) = (45,6 \pm 6,3) \cdot 10^3 \text{ М}^{-1}$. Величина констант

говорит об небольшом снижении эффективности связывания ФХ с белком в присутствии ЦД.

Также определен сайт связывания препарата с альбумином: большинство лекарственных препаратов преимущественно связываются в двух сайтах ЧСА (субдомен IIA и IIIA). Методом конкуренции ФХ и двух маркеров бромфенолового синего (специфичен к сайту I) и ибупрофена (специфичен к сайту II), установлено, что синтезированный ФХ преимущественно связывается с I сайтом в ЧСА. Таким образом, образование комплекса ФХ·ЦД способствует увеличению растворимости, при этом не изменяет сайт связывания с белком и невыраженно влияет на эффективность данного взаимодействия, что указывает на перспективность применения этой лекарственной формы.

ПОЛУЧЕНИЕ НАНОРАЗМЕРНЫХ ПОЛИМЕРНЫХ НОСИТЕЛЕЙ ПРОИЗВОДНЫХ ТРИТЕРПЕНОВ, ОБЛАДАЮЩИХ АНТИПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ СВОЙСТВАМИ

Кондуракий А.А., Власкина Е.Р., Кушнерев К.С., Лусс А.Л., Киенская К.И., Кусков А.Н., Сардушкин М.В.

ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева», Москва

Несмотря на значительные успехи в области противоопухолевой терапии, ее эффективность часто ограничена развитием резистентности к существующим препаратам и частым возникновением системных неблагоприятных побочных эффектов. Это влечет необходимость как поиска новых противоопухолевых агентов, так и систем их доставки. Одним из подходов, позволяющих снижать системную токсичность, является применение наноразмерных носителей активного компонента, обладающего антипролиферативными свойствами. Тритерпены и их производные обладают доказанной способностью подавлять рост опухолевых клеток путем индуцирования апоптоза или остановки клеточного цикла, потому могут выступать в качестве перспективных химиотерапевтических агентов [1].

Целью настоящего исследования является синтез новых наноразмерных полимерных носителей производных тритерпенов, пригодных для парентерального введения.

В качестве полимера в работе использовали поли(лактид-ко-гликолид) с соотношением мономеров 50:50 и молекулярной массой в диапазоне от 7 до 17 кДа. Производные тритерпенов были синтезированы в Уфимском Институте химии УФИЦ РАН. Наноразмерные системы, содержащие активный компонент/полимер в соотношении 1/100, получали методом наноосаждения из ацетона в водный раствор поливинилового спирта. Контроль включения активного компонента осуществлялся спектрофотометрически. Оценку антипролиферативной активности проводили с помощью МТТ-теста на клеточных линиях человека рака толстой кишки (HCT116), рака предстательной железы (DU145), меланомы (SK-MEL-28), карциномы легкого (A549).

Синтезированные наноразмерные дисперсии характеризовались приемлемым

индексом полидисперсности и допустимыми размерами частиц для систем, использование которых подразумевает парентеральную доставку.

Литература

1. Nistor M., Rugina D., Diaconeasa Z. et al. Pentacyclic Triterpenoid Phytochemicals with Anticancer Activity: Updated Studies on Mechanisms and Targeted Delivery // International Journal of Molecular Sciences. 2023. Vol. 24. № 16. P. 12923.

ТРАНСДЕРМАЛЬНАЯ ДОСТАВКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ С ПОМОЩЬЮ РАСТВОРЯЮЩИХСЯ МИКРОИГЛ ДЛЯ БОРЬБЫ С ОЖИРЕНИЕМ

Королев Д.В.^{1,2}, Едемская Е.В.^{1,3}, Никифоров А.И.^{1,3}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург

²ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

³ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет «ЛЭТИ» им. В.И. Ульянова (Ленина)», Санкт-Петербург

Традиционные методы лечения ожирения, в том числе применение пероральных препаратов, снижающих аппетит или уменьшающих усвоение питательных веществ, не всегда достаточно эффективны. Использование трансдермальных методов доставки лекарств открывает новые перспективы в борьбе с ожирением, обеспечивая более точное и эффективное воздействие препаратов непосредственно на жировую ткань, минимизируя потенциальные негативные эффекты, связанные с пероральным или инъекционным применением. Растворяющиеся микроиглы, представляющие собой малоинвазивные устройства микронного размера, изготовленные из биосовместимых полимеров, — инновационная технология трансдермальной доставки лекарств. Эта методика позволяет обойти защитный барьер кожи и доставить активные компоненты непосредственно к клеткам жировой ткани, на которые предполагается влиять действующим веществом, инкапсулированным в массив микроигл [1]. Одним из главных преимуществ трансдермальной доставки с помощью растворяющихся микроигл является возможность точного дозирования и контроля процесса введения лекарственных средств в организм. Это позволяет минимизировать риски передозировки и обеспечивает индивидуальный подход к пациентам. Удобство применения, например, при помещении массива из микроигл на основу для пластырей, особенно нужно в случае длительного лечения ожирения, когда важно поддерживать постоянный прием лекарственных средств для достижения оптимальных результатов. Разработана 3D-модель пластыря с микроиглами в Comsol Multiphysics. Созданная

модель экспортирована в формат stl и напечатана мастер-форма на 3D-принтере с высоким разрешением УФ-отверждаемой прецизионной смолой. Отработана технология стабилизации мастер-формы УФ-излучением и обработки этанолом. По мастер-форме изготовлены формы из полидиметилсилоксана (ПДМС). Отработана технология заливки в формы из ПДМС биополимера (основы пластыря), включающая заливку, дегазацию и сушку. Проведены испытания с полилактидгликолидом (PLGA) и DL-полилактидом (DL-PLA).

В ходе испытаний наилучшие результаты по технологичности и физическим свойствам показал DL-PLA. Начаты работы по исследованию кинетики биodeградации пластырей.

Литература

1. Abbasi M., Fan Z., Dawson J.A., Wang, S. Transdermal Delivery of Metformin Using Dissolving Microneedles and Iontophoresis Patches for Browning Subcutaneous Adipose Tissue. *Pharmaceutics* 2022, 14, 879. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14040879>.

Источники финансирования. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 24-15-20006).

ИНТРАВИТАЛЬНАЯ МИКРОСКОПИЯ В ИССЛЕДОВАНИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ НАНОПРЕПАРАТОВ

Науменко В.А.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России, Москва
Университет Калгари, Калгари, Канада

Разработка эффективных средств борьбы с онкологическими заболеваниями — одна из актуальнейших задач биомедицины. Несмотря на некоторый успех противоопухолевых нанопрепаратов, низкая эффективность целевой доставки остается основным лимитирующим фактором для их широкого внедрения в клиническую практику. Опухолевое микроокружение представляет собой сложную, многокомпонентную систему, динамическое взаимодействие которой с наночастицами требует адекватных методов анализа. Интравитальная микроскопия предоставляет уникальную возможность для изучения препаратов и клеток организма *in vivo* в режиме реального времени.

Данная работа освещает возможности и перспективы использования интравитальной микроскопии в изучении биораспределения и доставки нанопрепаратов к опухолевым клеткам на доклинических животных моделях, в частности описывает: 1) новый механизм доставки липосом в опухоль; 2) новый механизм экскреции наночастиц в почках; 3) новую клеточную мишень для онколитических вирусов в опухолевом микроокружении.

ВАРИАНТЫ ЗАГРУЗКИ НАНОВЕЗИКУЛ ПЛАЗМЫ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМИ ПРЕПАРАТАМИ И ВОЗМОЖНОСТЬ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В КАЧЕСТВЕ СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ

Плевако Д.С., Гаранин А.Ю., Каданцева Е.Я.

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Введение. Рак молочной железы (РМЖ) является ведущей причиной смертности среди женского населения. Так как проведение химиотерапии не всегда эффективно и обладает рядом критических побочных эффектов, разработка новых технологий таргетной доставки лекарственных средств к клеткам РМЖ является актуальной проблемой. Внеклеточные нановезикулы (ВНВ) — билипидные пузырьки, способные переносить молекулярные грузы. Аутологичные ВНВ биосовместимы и могут быть насыщены липофильными или гидрофильными терапевтическими препаратами. Благодаря своим биохимическим и физическим свойствам ВНВ считаются перспективным средством для доставки лекарственных препаратов.

Цель. Разработка метода «загрузки» ВНВ плазмы терапевтическим противоопухолевым препаратом доксорубицин (Dox). Оценка цитостатического эффекта полученного комплексного препарата на опухолевые клетки *in vitro*.

Материалы и методы. Внеклеточные нановезикулы были выделены посредством ультрацентрифугирования (Beckman, Германия) плазмы крови здоровых доноров. Количество везикул и их размер были определены с помощью анализа траекторий наночастиц (Nanosight NS300 analyzer (Malvern, PA, США)). Загрузка производилась посредством: инкубации ВНВ в фосфатном буфере при 37°C, 1 ч; электропорацией при 400, 800 и 1600V; ультразвуком при разной длительности импульсов — 5, 10, 30 и 60 с. Эффективность «загрузки» оценивали по спектру флуоресценции Dox в везикулах в планшетном ридере Varioscan LUX (Thermo Scientific, США). Эффект полученного комплексного препарата (ВНВ-Dox) оценивали на линии клеток рака молочной железы MCF-7. Анализ выживаемости клеток проводили с помощью теста МТТ.

Результаты. Разработанный протокол позволял «загрузить» в ВНВ от 10 до 30% исходного количества Dox. Наибольшая «загружающая» способность была достигнута при электропорации, а наименьшая — при инкубации. С учетом возможности последующей модификации ВНВ для таргетной доставки, количество «загруженного» в ВНВ препарата было расценено как достаточное. Для оценки эффективности поглощения ВНВ клетками культура MCF-7 обрабатывалась Dox в качестве положительного контроля и ВНВ-Dox. Использование комбинации ВНВ-Dox позволяет сместить кривую выживаемости IC50 влево, т.е. повысить терапевтическую эффективность химиопрепарата.

Выводы. ВНВ были успешно загружены благодаря использованию физических методов. Комплекс ВНВ-Dox успешно доставляется в опухолевые клетки. Комбинация ВНВ-Dox оказывают больший цитотоксический эффект, чем Dox.

ПОЛУЧЕНИЕ МИЦЕЛЛЯРНЫХ СИСТЕМ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНО МЕЧЕНОЙ ГИДРОФОБИЗИРОВАННОЙ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ

Поливанова А.Г., Фёдорова Е.И., Непчелина В.П.

ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева», Москва

Гиалуроновая кислота (ГК) представляет собой линейный гликозаминогликан, состоящий из повторяющихся дисахаридных звеньев N-ацетил-D-глюкозамина и D-глюкуроновой кислоты. Благодаря высоким биосовместимости и биodeградируемости, ГК в последние годы широко исследуется в качестве платформы для разработки различных систем доставки лекарственных веществ (СДЛВ). Ещё одно достоинство ГК по сравнению с другими полимерами — векторные свойства данной матрицы в отношении рецепторов CD44, чрезмерно экспрессируемых некоторыми видами опухолевых клеток. Преимущества такого наноматериала заключаются в увеличении времени циркуляции, стабильности лекарственного препарата, растворимости и направленном действии. ГК, модифицированная липофильными фрагментами, может образовывать самособирающиеся мицеллы, способные включать в гидрофобное ядро различные терапевтические и диагностические агенты. Кроме того, ГК может быть ковалентно конъюгирована с красителями для получения флуоресцентно меченых мицеллярных наночастиц, обладающих низкой токсичностью, хорошим направленным действием и флуоресценцией, позволяющей достаточно четко очертить опухоль, что обуславливает их применение в композициях не только для терапии, но и для диагностики опухолей. Для получения таких препаратов в качестве флуоресцентной метки используют различные типы красителей, в частности производные цианинового ряда. Производные 1,8-нафталиминов, как более дешёвые и синтетически доступные структуры, рассматриваются нами в качестве перспективных флуоресцентных маркеров для конъюгации с ГК при разработке СДЛВ.

Целью нашего исследования является получение мицеллярных систем доставки противоопухолевых препаратов на основе ГК, конъюгированной с олеиновой кислотой

и/или нафталимидным красителем через углеводородные спейсеры разной длины. Ковалентная модификация ГК флуоресцентным красителем может осуществляться либо через ее карбоксильную, либо через первичную спиртовую группу. Для сравнения эффективности этих двух подходов мы осуществили синтез конъюгатов методом смешанных ангидридов и карбодиимидным методом, используя две группы красителей, содержащих в своем составе, соответственно, карбоксильную или аминогруппу.

Таким образом, была получена серия производных ГК с различными степенями замещения олеиновой кислотой и красителем, изучена их мицеллярная активность и флуоресцентные свойства, указывающие на перспективность использования в качестве платформ для получения мицеллярных препаратов с противоопухолевыми средствами.

БИОМИМЕТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА ДОСТАВКИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ SiO_2

Пряхин Е.Е.¹, Матюшевская А.О.¹, Митусова К.А.²

¹ФГБОУ ВОН «Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет имени Ж.И. Алфёрова» РАН, Санкт-Петербург

²ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский Политехнический Университет Петра Великого», Санкт-Петербург

Онкологические заболевания — одна из основных причин смерти в мире. Доставка лекарственных соединений при помощи наночастиц (НЧ) способна повысить эффективность химиотерапии, однако многие НЧ обладают низкой биосовместимостью, что значительно снижает их способность проникать в опухолевые клетки. Модификация поверхности липидами и полимерами, имитирующими клетку или ее компоненты, придает НЧ необходимые для клеточной интернализации биомиметические свойства. В работе было исследовано цитотоксическое действие гибридных носителей (Пл@Si) на основе мезопористых силикатных наночастиц (Si-НЧ) с загруженным в них противоопухолевым соединением 3-[тиофен-2-ил]амино-5-оксипента-1,3-диен-2-оата калия (2-АТ) и покрытых полимерной оболочкой из лецитина и полиэтиленгликоля (ПЭГ 2000). Si-НЧ синтезировались золь-гель методом. Загрузка 2-АТ в Si-НЧ осуществлялась адсорбцией. Для нанесения полимерно-липидной оболочки на магнитной мешалке к 1 мл раствора Si-НЧ в дистиллированной воде добавляли 500 мкл водного раствора лецитина (3 мг/мл), 500 мкл спиртового раствора ПЭГ 2000 (10 мг/мл) и перемешивали 10 мин при комнатной температуре. Для *in vitro* исследования использовали мышинные клетки рака молочной железы 4Т1, культивировавшиеся в питательной среде RPMI 1640 (Биолот). Клетки засевали на 96-луночные планшеты в концентрации 10 тыс./лунка, после 24 ч инкубации при 37°C, 5% CO_2 , к ним добавляли Si-НЧ и Пл@Si содержащие 2-АТ в дозах от 20 мкг 2-АТ на лунку до 0,31 мкг и 2-АТ в свободном виде в тех же концентрациях. Оценка цитотоксичности проводилась с помощью AlamarBlue теста через 24 ч инкубации клеток при 37°C, 5% CO_2 .

Результаты исследования показали, что при

дозах менее 10 мкг 2-АТ на лунку Пл@Si оказываются статистически значимо ($p < 0,05$) эффективнее по сравнению с Si-НЧ. При дозах выше 1,25 мкг 2-АТ на лунку цитотоксический эффект 2-АТ и Пл@Si статистически значимо не отличались, однако при дозе 0,63 и 0,31 мкг 2-АТ на лунку Пл@Si оказывается статистически значимо ($p < 0,05$) более эффективным, чем 2-АТ.

Таким образом, платформа доставки Пл@Si обладает высокой биосовместимостью, не токсична для клеточной линии 4Т1 и имеет повышенную емкость загрузки. В случае с загруженным противоопухолевым соединением, модификация поверхности Si-НЧ+2АТ лецитином и ПЭГ 2000 повышает эффективность противоопухолевой терапии *in vitro*.

Источники финансирования. Грант РФФИ № 23-25-00295 «Разработка новых низкомолекулярных противоопухолевых соединений и поиск подходов к их инкапсулированию в наноносители комплексного состава с целью проведения химиотерапии направленного действия».

МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ЭКСТЕМПОРАЛЬНЫХ КОМБИНИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЦИНКА

Соловьева А.Г., Ерлыкина Е.И., Шеферов И.А., Мельникова Н.Б.

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород

Цинк — эссенциальный элемент, входящий в состав около 300 цинк-зависимых ферментов. Поддержание необходимого уровня цинка в организме важно для модуляции мембранно-связанных ферментов, поддержания иммунитета, регуляции метаболизма. Оксид цинка, служащий средством доставки как гидрофильных, так и липофильных веществ, был использован в композиции с ксимедоном. Наиболее перспективными формами оксида цинка являются наночастицы, имеющие небольшие размеры и, соответственно, большую площадь поверхности для иммобилизации ксимедона. Кроме того, наночастицы оксида цинка обладают ранозаживляющими, противовоспалительными и бактерицидными свойствами.

Цель работы — изучить метаболический эффект наночастиц на основе оксида цинка (цинкоксим гель ZnO NPs-Хум) на активность лактатдегидрогеназы (ЕС 1.1.1.27) в прямой (ЛДГпр) и обратной (ЛДГобр) реакциях и ферментов антиоксидантной защиты — супероксиддисмутазы (ЕС 1.15.1.1; СОД), глутатионредуктазы (ЕС 1.8.1.7; ГР) и альдегиддегидрогеназы (ЕС 1.2.1.3; АлДГ) в эритроцитах на модели крыс с ожогом.

Установлено, что удельная активность ЛДГпр под действием геля ZnO NPs-Хум была на 22% и 31% выше, чем при обработке метилурацилом и гелем ZnO NPs, соответственно. Напротив, удельная активность ЛДГобр снизилась при лечении крыс гелем ZnO NPs-Хум. Показано, что цинкоксим гель изменяет направленность реакции ЛДГ в сторону накопления пирувата, необходимого для поддержания энергетического метаболизма. Активность АлДГ, которая участвует в утилизации малонового диальдегида и снижении окислительного стресса, увеличилась на 25% при обработке гелем ZnO NPs-Хум, и на 10% при обработке гелем ZnO NPs. Активность

СОД и ГР была повышена на 30 и 35% при обработке гелем ZnO NPs-Хум, площадь ожога на 10-й день после травмы уменьшилась на 10%. Изменение направленности окислительных процессов, антиоксидантные свойства и данные о заживлении ран под действием геля ZnO NPs-Хум свидетельствуют о синергетическом эффекте ксимедона с ZnO NPs.

Таким образом, наночастицы оксида цинка, модифицированные ксимедоном ZnO NPs-Хум, могут быть предложены в качестве потенциального лекарственного препарата для разработки новых лекарственных форм ксимедона для лечения ожогов.

ДОКЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА НОВЫХ ПСМА-ТАРГЕТНЫХ КОНЬЮГАТОВ, МЕЧЕННЫХ ¹⁷⁷Lu

Третьякова М.С.^{1,5}, Мачулкин А.Э.³, Петров С.А.³, Боденко В.В.¹, Ларькина М.С.^{1,4}, Плотников Е.В.^{1,5}, Безверхняя Е.А.¹, Стасюк Е.С.¹, Зельчан Р.В.¹, Белоглазкина Е.К.³, Юсубов М.С.¹

¹ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», Томск

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт онкологии, Томский НИМЦ», Томск

³ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Москва

⁴ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск

⁵Научно-исследовательский психического здоровья, Томский НИМЦ

Простатспецифический мембранный антиген (ПСМА) экспрессируется в большинстве карцином предстательной железы и представляет собой трансмембранный белок II типа, состоящий из небольшого N-концевого внутриклеточного домена, трансмембранного белка и большого С-концевого внеклеточного домена. В норме ПСМА экспрессируется клетками предстательной железы, почек, глии и тонкой кишки, но на 2–3 порядка меньше, чем опухолевыми клетками при раке предстательной железы (РПЖ). В последние годы был сделан прорыв в исследованиях в области терапии РПЖ высокоаффинными низкомолекулярными белками, нацеленными на ПСМА.

¹⁷⁷Lu-меченные низкомолекулярные ингибиторы простатоспецифического мембранного антигена (ПСМА) являются терапевтическими средствами при метастатическом РПЖ, резистентном к кастрации. Оптимизация молекулярного дизайна потенциально может способствовать дальнейшему улучшению фармакокинетических свойств агентов, нацеленных на ПСМА, при сохранении мощного терапевтического эффекта.

В данном исследовании синтезировано шесть новых конъюгатов на основе N-[N-[(S)-1,3-дикарбоксипропил]карбамоил]-(S)-L-лизина (DCL) с различными модификациями, с выходами продукта в диапазоне от 60% до 72%, что дало возможность провести доклинические исследования *in vitro* и *in vivo*. Посредством хелатора DOTA, присоединённого к конъюгатам, было проведено мечение лютецием-¹⁷⁷ с радиохимическим выходом более 95%. ¹⁷⁷Lu-меченные конъюгаты продемонстрировали специфическое и умеренное сродство к связыванию с опухолевыми клетками

человека PC3-pir, экспрессирующими ПСМА, и отсутствие связывания с клетками PC3, не экспрессирующими ПСМА, всех 6 новых ингибиторов ПСМА.

Исследование *in vivo* показало специфическое накопление в мышинных ксенотрансплантатах PC3-pir. Липофильность и тип заместителя в линкере существенно влияют на связывающие свойства конъюгата и его биораспределение. В частности, изученные варианты, содержащие бромный заместитель или гидроксильную группу, введенные в ароматический фрагмент фенилаланильного остатка DCL, проявляют более высокое сродство к ПСМА по сравнению с вариантами только с хлорзамещенным ароматическим фрагментом или вариантами без каких-либо заместителей.

Новый ингибитор ПСМА с карбоксильной группой характеризовался низким накоплением в нормальных тканях в эксперименте *in vivo* и, потенциально, может стать основой для следующей модификации с целью повышения терапевтического действия в дальнейших исследованиях.

«УМНЫЙ НАНОСКАЛЬПЕЛЬ» ДЛЯ АДРЕСНОЙ ТЕРАПИИ АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА

Федотовская В.Д.^{1,2}, Замай Т.Н.^{1,2}, Замай С.С.², Лузан Н.А.^{1,2}, Кошманова А.А.¹, Николаева Е.Д.², Кириченко Д.А.¹, Коловская О.С.^{1,2}, Замай Г.С.^{1,2}, Лукьяненко К.А.^{1,2}, Кичкайло А.С.^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск

²ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр СО РАН», Красноярск

В настоящее время рак остается одной из главных причин смертности населения. Одним из трудноизлечимых онкологических заболеваний является злокачественный асцит — жидкая опухоль, при которой патологическая жидкость скапливается в брюшной или плевральной полости. Одним из перспективных методов радикальной резекции опухоли единичных клеток служит магнито-механическая терапия (ММТ). Для удаления отдельных клеток используются магнитные нано- или микродиски, способные в магнитном поле механически повреждать клетки опухоли и приводить к их гибели. Для достижения селективности диски модифицируются аптамерами, специфичными к опухоли.

Эффективность терапии асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ) была показана *in vitro* и *in vivo*.

Результат ММТ зависит от параметров магнитного поля, поэтому сначала был проведен поиск оптимальных параметров поля для эффективного удаления опухолевых клеток *in vitro*. Для этого асцитные клетки инкубировали с модифицированными аптамерами нанодисками, чтобы аптамеры связались с клетками АКЭ. Переменное магнитное поле генерировали с помощью магнитной катушки. Образцы клеток подвергали воздействию поля в течение 10 мин, варьируя следующие параметры: частоту для синусоидальной формы сигнала, частоту и скважность для прямоугольной формы сигнала.

Для синусоидальной формы сигнала наиболее эффективной оказалась частота 20 Гц, для прямоугольной — 10 Гц и скважность 0,5. При этом терапия в поле синусоидальной формы вызывала апоптоз, а в поле прямоугольной формы — некроз.

В дальнейшем эти параметры были исполь-

зованы для изучения эффективности ММТ *in vivo*. Для проверки эффективности ММТ *in vivo* терапию проводили с параметрами, описанными выше, в течение 10 мин. Исследовались 3 группы мышей: контрольная группа без терапии, с терапией нанодисками с неспецифическим аптамером и со специфическим аптамером AS-42. Через 24 ч после ММТ у мышей собирали асцитную жидкость, оценивали ее объем, концентрацию и общее количество асцитных клеток, а также их морфологию. Результаты показали, что все эти показатели были значительно ниже, чем в контрольных группах при обоих параметрах поля. Морфология асцитных клеток у мышей, получавших терапию нанодисками с аптамером AS-42, значительно отличалась от морфологии клеток у контрольных мышей. В асцитной жидкости мышей, получавших лечение с аптамером AS-42, присутствовало много клеток, подвергшихся апоптозу и некрозу.

Таким образом, была показана эффективность терапии АКЭ *in vitro* и *in vivo*.

Источники финансирования: Исследование выполнено при финансовой поддержке Краевого государственного автономного учреждения «Красноярский краевой фонд поддержки научной и научно-технической деятельности», Конкурс научно-технических и инновационных проектов в интересах первого климатического научно-образовательного центра мирового уровня «Енисейская Сибирь». Грант «Разработка на базе ОА «НПП «Радиосвязь» технологий производства и контроля качества магнитных нанодисков, препаратов и аппаратно-программных средств магнито-механической микрохирургии глиальных опухолей головного мозга» №: 2023091509841 и при поддержке компании-партнера АО «НПП «Радиосвязь».

СТРУКТУРНЫЕ ОСНОВЫ ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛА ПОСРЕДСТВОМ ТРАНСМЕМБРАННОГО ДОМЕНА БИТОПНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ

Бочаров Э.В.

ФГБУН ГНЦ РФ «Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)», Долгопрудный

Молекулярные механизмы передачи сигнала битопными рецепторами типа I, такими как рецепторные тирозинкиназы (РТК) и рецепторы цитокинов (использующие Янус-киназу), активно изучаются из-за центральной роли подобных мембранных рецепторов в регуляции развития, подвижности, пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток в организме человека. Представители семейств рецепторов эпидермальных факторов роста (ErbB) и рецепторов инсулина (InsR), а также рецептора гормона роста (GHR) служат удобными моделями битопных рецепторов, иллюстрирующих, как лиганд-индуцированные конформационные перестройки и специфическая димеризация внеклеточных доменов приводят к аллостерической активации цитоплазматических доменов, что в конечном итоге приводит к передаче сигнала через мембрану клетки. Показано, что нарушение регуляции передачи сигналов данными рецепторами играет важную роль в развитии ряда заболеваний человека, а их ингибиторы на сегодняшний день являются одними из наиболее успешных примеров таргетной терапии. За последние годы были выяснены многие важные аспекты передачи сигналов битопными рецепторами на молекулярном уровне. Тем не менее, остаётся ряд нерешённых вопросов, включая особую роль трансмембранного домена и гибких примембранных участков в переключении активности рецептора с точки зрения аллостерической связи между структурными перестройками внеклеточных и цитоплазматических доменов. В течение ряда лет мы определили альтернативные конформации примембранных и трансмембранных сегментов данных битопных рецепторов в имитирующих мембрану средах, используя ЯМР-спектроскопию высокого

разрешения в сочетании с другими методами структурной биологии. Нами показано, что функционирование данных битопных белков обуславливается не только специфическими белок-белковыми и белок-липидными взаимодействиями, но и физическим состоянием липидного окружения, как одного из главных компонентов самосогласованной системы биологической мембраны. Это позволило нам раскрыть принципы, лежащие в основе передачи сигнала через мембрану клетки и распознавания субстрата мембранными белками, а также механизмы действия ряда патогенных мутаций.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (проект № 23-74-00024).

СПЕЦИФИЧНОСТЬ И СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЛИПИД-СВЯЗЫВАЮЩИХ САЙТОВ ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ИОННЫХ КАНАЛОВ TRPV

Веретененко И.И.^{1,2}, Трофимов Ю.А.^{2,3}, Ефремов Р.Г.^{1,2,4}

¹ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)», Долгопрудный

²ФГБун ГНЦ РФ «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

³ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Москва

⁴ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», Москва

Ионные каналы TRPV экспрессируются на терминалях сенсорных нейронов и активируются в ответ на повышение температуры и под действием различных лигандов. Одним из наиболее известных агонистов TRPV является ваниллоид-подобное соединение капсаицин, связывающийся с TRPV1 в «ваниллоид-связывающем сайте» (VBP), расположенном в трансмембранной части белка. Согласно данным криоэлектронной микроскопии (крио-ЭМ), в закрытом апо-состоянии TRPV1 в VBP располагается липид фосфатидилинозитол (PI), в то время как аналогичный сайт TRPV3, вероятно, не является селективным к типу липида. Также известно, что лиганд- и температурно-опосредованная активация TRPV3 включает в себя высвобождение липида из данного сайта.

В совокупности, это приводит к цели настоящей работы — выявлению причины селективности к PI в TRPV1 и ее отсутствия в TRPV3, а также установлению роли липида в механизмах температурной и лиганд-опосредованной активации TRPV.

В ходе работы проведено молекулярно-динамическое (МД) моделирование крио-ЭМ структур TRPV1 (PDB ID 7L2P) и TRPV3 (PDB ID 7MIN) с пятью наиболее распространенными типами фосфолипидов: PI, фосфатидилсерин (PS), фосфатидилхолин (PC), фосфатидилэтаноламин (PE), фосфатидилглицерол (PG), встроенными в VBP методом молекулярного докинга. Анализ данных МД показал, что наблюдаемая селективность к PI в TRPV1 определяется особенностями структуры сайта: характерным сужением («горлышком»), образованным остатками Ser512, Arg557 и Glu570, в котором с помощью водородных связей с Ser512 удерживается

фосфогруппа липида, и расширением, где наиболее благоприятно расположена большая полярная головка PI. Расчеты свободной энергии подтвердили предпочтительность связывания PI в TRPV1 по сравнению с другими типами липидов. В VBP TRPV3 обнаруживаются две замены среди образующих «горлышко» остатков: Ser→Phe и Glu→Gln. Это приводит к разрушению структуры «горлышка» и препятствует позиционированию липидов аналогично TRPV1, что объясняет наблюдаемое отсутствие селективности.

Детальное понимание механизма связывания липидов в функционально важном сайте VBP открывает новые возможности для структурного дизайна лекарственных средств, модулирующих работу TRPV. Кроме того, мутации образующих «горлышко» остатков могут влиять на взаимодействие VBP с липидами. Это создает перспективы для дизайна каналов TRPV с измененным порогом температурной активации, которые могут использоваться в термогенетике — методе управления работой возбудимых клеток с помощью изменения температуры.

Источники финансирования. Работа поддержана грантом РФФ 23-14-00313.

РОЛЬ LXRA РЕЦЕПТОРА В РЕГУЛЯЦИИ БЕЛКА-ТРАНСПОРТЕРА OATP1B1 ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ S-НИТРОЗОГЛУТАТИОНА

Гаджиева Ф.Т., Сучкова О.Н., Абаленихина Ю.В., Щулькин А.В., Якушева Е.Н.

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Рязань

Полипептиды, переносящие органические анионы (OATP), являются членами суперсемейства белков, кодируемых генами *SLCO*. Одним из наиболее изученных переносчиков является OATP1B1, который экспрессируется на базолатеральной мембране гепатоцитов и участвует в транспорте субстратов в клетки. В настоящее время активно изучаются механизмы регуляции белков-транспортеров.

Цель исследования — оценить участие LXRa в регуляции OATP1B1 при влиянии S-нитрозоглутатиона на клетки линии HepG2 в течение 24 ч.

Материалы и методы. Исследование выполнено на клетках линии HepG2. S-нитрозоглутатион добавляли к клеткам в концентрациях 1, 10, 50, 100 мкМ, инкубировали 24 ч. К контрольным клеткам в эквивалентном объеме добавляли воду для инъекций (растворитель S-нитрозоглутатиона). В качестве ингибитора LXRa использовали 3-(3,4-диметоксифенил)-N-[4-(трифторметил)фенил]-2-пропенамида (TFCA) в концентрации 30 мкМ, добавляя за 30 мин до внесения S-нитрозоглутатиона в питательную среду. Оценка уровня метаболитов оксида азота (нитриты/нитраты) проводили фотометрическим методом с применением реактива Грисса. Относительное количество OATP1B1 определяли методом вестерн-блот. Статистическую значимость различий оценивали дисперсионным анализом (ANOVA), тест Даннетта.

Результаты. Уровень метаболитов оксида азота возрастал при действии S-нитрозоглутатиона в концентрациях 1, 10, 50, 100 мкМ на 33,9% ($p=0,0001$), 81,5%, 51,5%, 129,9% ($p<0,0001$ для всех) при инкубации 24 ч. Относительное количество OATP1B1 при инкубации с S-нитрозоглутатионом в концентрации 1 мкМ не изменялось, а при концентрациях 10, 50, 100 и 500 мкМ возрастало на 136,7% ($p=0,0003$), 154,1% ($p<0,0001$), 124,5% ($p=0,0006$), 131,6% ($p=0,0004$) соответствен-

но, следовательно, при увеличении уровня оксида азота возрастает относительное количество белка-транспортера. TFCA не оказывал самостоятельного действия на уровень OATP1B1. При внесении в питательную среду S-нитрозоглутатиона в сочетании с TFCA наблюдали подавление индукции количества OATP1B1 при сроке инкубации 24 ч.

Вывод. Печеночный X-рецептор (тип а) принимает участие в регуляции относительного количества OATP1B1 при воздействии S-нитрозоглутатиона в концентрациях 1–100 мкМ, однако в этот процесс могут быть вовлечены и другие транскрипционные факторы, что требует дальнейшего изучения.

РАЗВИТИЕ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ ПЛАТФОРМЫ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ GPCR РЕЦЕПТОРОВ

Мишин А.В., Лугинина А.П., Борщевский В.И.

ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)», Центр исследований молекулярных механизмов старения и возрастных заболеваний, Долгопрудный

Рецепторы, сопряжённые с G белком (GPCR), представляют собой важный класс мембранных рецепторов, участвующих в многочисленных физиологических процессах, таких как передача сигналов, рост клеток, метаболизм и иммунный ответ. GPCR составляют около 30% всех современных лекарственных целей, что подчеркивает их значимость для фармакологии и медицины. Понимание структурно-функциональных характеристик GPCR имеет ключевое значение для разработки новых лекарственных препаратов, особенно для лечения таких заболеваний, как рак, диабет, сердечно-сосудистые и неврологические расстройства. Актуальность исследования GPCR также обусловлена их сложной структурой и динамикой, что требует инновационных подходов для детального изучения их функций и механизмов взаимодействия с различными лигандами и сигнальными белками.

Структурные исследования GPCR позволяют детально понять механизмы их активации и взаимодействия с различными молекулами, что критически важно для рационального дизайна лекарств. Без понимания трехмерной структуры GPCR невозможно понять все аспекты молекулярных механизмов их функционирования и эффективно предсказывать, как различные лиганды и другие молекулы взаимодействуют с рецепторами, что затрудняет разработку высокоэффективных и избирательных терапевтических агентов.

Созданная в МФТИ многофункциональная исследовательская платформа для углубленного изучения структурных и функциональных аспектов GPCR направлена на решение данных задач и уже показала свою эффективность для определения структур ряда представителей GPCR: цистеинил-лейкотриеновых рецепторов первого и второго типа, а также сфингозин-фосфатных рецепторов пятого типа.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (договор 075-03-2024-117, проект FSMG-2024-0012).

НОВЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПРОТОННЫЕ НАСОСЫ — ЗЕРКАЛЬНЫЕ ПРОТЕОРОДОПСИНЫ

Охрименко И.С.

ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)», Долгопрудный

Открытие микробных родопсинов в бактериях в 2000 г. положило начало исследованиям крупнейшего семейства родопсинов — протеородопсинов, протонных насосов, переносящих через липидный бислой протон за счёт энергии света. Большой загадкой оставалось то, что до сих пор не было описано ни одного бактериального родопсина, переносящего протоны при кислом pH, несмотря на то, что бактерии могут жить в средах с кислым pH. Мы обнаружили и детально исследовали концептуально новую кладу родопсинов и показали, что протеородопсин SpaR из условно-патогенного микроорганизма *Sphingomonas paucimobilis* работает как протонный насос при кислом, но не при нейтральном и щелочном pH, в отличие от архейных и эукариотических протонных родопсинов, которые перекачивают протоны в широком диапазоне pH. Ещё одно уникальное свойство зеркальных протеородопсинов заключается в том, что светозависимый перенос протонов ингибируется миллимольной концентрацией цинка.

Мы показали, что зеркальные протеородопсины широко представлены в условно-патогенных микроорганизмах человека с множественной лекарственной устойчивостью. Наш анализ показал, что кладу зеркальных родопсинов состоит только из граммотрицательных бактерий, принадлежащих к родам *Sphingomonas*, *Patonea* и *Pseudomonas*. Многие виды *Patonea* и *Pseudomonas* хорошо известны как условно-патогенные микроорганизмы, иногда бывающие причиной внутрибольничных инфекций. Проведённый нами анализ имеющихся литературных данных о этих бактериях показывает, что они устойчивы к цинку. Известно, что цинк играет важную роль во взаимодействии патогенных бактерий с хозяином. Патогенные бактерии могут использовать взаимодействие с Zn^{2+} , поскольку роль Zn^{2+} в организме трудно переоценить. Zn^{2+} является важной

частью иммунной системы млекопитающих, в частности, в борьбе с бактериальными инфекциями. Zn^{2+} влияет на множество аспектов иммунитета — как врожденных, так и адаптивных, дефицит Zn^{2+} при старении участвует в изменении баланса иммунных клеток. Ионы цинка играют важную роль в патогенезе болезни Альцгеймера, т.к. присутствие цинка ускоряет агрегацию Аβ. Структурное исследование представителя новой клады зеркальных родопсинов — SpaR из *Sphingomonas paucimobilis* показало, что полость/затворная архитектура пути транслокации протонов больше напоминает каналные родопсины, чем известные родопсины.

Источники финансирования: 23-14-00160 РФФ.

МАЛОУГЛОВОЕ РАССЕЯНИЕ В ИССЛЕДОВАНИЯХ СТРУКТУРЫ МЕМБРАННЫХ БЕЛКОВ И МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕОБРАЗОВАНИЙ В ЛИПИДНЫХ СИСТЕМАХ ДЛЯ КРИСТАЛЛИЗАЦИИ

Рижиков Ю.Л.

ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», Долгопрудный

Объединённый институт ядерных исследований, Дубна

Малоугловое рассеяние (МУР) является методом, основанном на рентгеновской или нейтронной дифракции, широко применяемым для изучения супрамолекулярной структуры вещества. В биофизике, молекулярной и структурной биологии МУР используется при исследовании растворов белков и иных высокомолекулярных соединений, мембран, длиннопериодических структур, таких как липидные мезофазы, и т.д.

Представляемый доклад посвящён примерам использования МУР для исследований самосборки белковых комплексов, в том числе комплексов мембранных белков [1–4], а также изучению структуры и динамики морфологических преобразований матриц при кристаллизации мембранных белков [5–6]. Обсуждаются условия экспериментов и особенности обработки данных МУР при работе с мембранными белками и мембраномиметиками.

Литература

1. Okhrimenko I.S. et al. Mirror proteorhodopsins // Commun. Chem. 2023. Vol. 6. № 1. P. 88.
2. Ryzhykau Yu.L. et al. Molecular model of a sensor of two-component signaling system // Sci. Rep. Nature Publishing Group. 2021. Vol. 11. № 1. P. 10774.
3. Ryzhykau Yu.L. et al. Ambiguities in and completeness of SAS data analysis of membrane proteins: the case of the sensory rhodopsin II-transducer complex. Acta Crystallogr. Sect. D Struct. Biol. 2021. 77. 1386–1400.
4. Osipov S.D. et al. I-Shaped Dimers of a Plant Chloroplast FOF1-ATP Synthase in Response to Changes in Ionic Strength // Int. J. Mol. Sci. MDPI AG. 2023. Vol. 24. № 13. P. 10720.
5. Ishchenko A. et al. Chemically Stable Lipids for Membrane Protein Crystallization // Cryst. Growth Des. American Chemical Society.

2017. Vol. 17. № 6. P. 3502–3511.

6. Murugova T.N. et al. Mechanisms of membrane protein crystallization in 'bicelles' // Sci. Rep. Nature Publishing Group. 2022. Vol. 12. № 1. P. 1–17.

Источники финансирования. Исследование с применением малоуглового рассеяния для контроля морфологии кристаллизационного матрикса при кристаллизации мембранных белков методом 'in meso' выполнено при поддержке РНФ № 24-14-00295.

ПОДГОТОВКА РЕЦЕПТОРА GPR17 ДЛЯ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Сафронова Н.А., Садова А.А., Шевцов М.Б., Куркин Т.С., Борщевский В.И., Мишин А.В.

ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)», Долгопрудный

Рецепторы, сопряженные с G белком (англ. G protein-coupled receptors — GPCR) — семейство рецепторов, включающее примерно 800 белков с 7 трансмембранными спиралями. GPCR составляют ~4% от кодирующего белки генома человека и вовлечены в самые разные процессы: зрение, вкус, обоняние, эмбриональное развитие, регуляция аппетита и др.

Человеческий рецептор GPR17 класса GPCR регулирует формирование миелиновой оболочки в мозге. Рецептор экспрессируется в клетках-предшественниках олигодендроцитов на определенной стадии их развития, а именно до начала формирования миелина. Искусственно созданная устойчивая экспрессия GPR17 у мышей приводит к нарушению формирования миелина и к симптомам, схожим с симптомами рассеянного склероза. Кроме того, недавние исследования показали, что GPR17, экспрессирующийся в ЖКТ, принимает прямое участие в процессах регулирования аппетита и контроля уровня глюкозы в крови. Всё вышесказанное делает GPR17 привлекательной мишенью для разработки лекарственных препаратов – селективных ингибиторов данного рецептора. Для разработки высокоспецифичных препаратов с минимальными побочными эффектами необходимо знать структуру высокого разрешения рецептора в неактивной конформации. В настоящее время точная структура лиганд-связывающего кармана GPR17 и, в частности, структура его неактивной конформации, неизвестна. В данных обстоятельствах не вызывает сомнений значимость исследования с целью определить пространственную структуру данного рецептора.

В данной работе исследуется человеческий рецептор GPR17 класса GPCR.

Мы создали ряд генно-инженерных конструкций рецептора для экспрессии в клетках насекомых Sf9 и дальнейшей очистки. Набор точечных мутаций, модификации рецептора,

а также протокол выделения и очистки были оптимизированы для получения наибольшего выхода белка и его наилучшей стабильности. В итоге был получен мономерный образец данного рецептора в мицеллах из детергента, проведены попытки кристаллизации. Также был получен образец рецептора в комплексе с моноклональным антителом к партнерному белку (anti-BRIL Bag2) и с нанотелом, аффинным к этому антителу. В настоящее время проводятся эксперименты по определению структуры GPR17 методом криоэлектронной микроскопии.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (договор 075-03-2024-117, проект FSMG-2024-0012).

ВЛИЯНИЕ ВТОРИЧНЫХ АНТИТЕЛ НА РЕЗУЛЬТАТЫ ВЕСТЕРН-БЛОТТИНГА α -СУБЪЕДИНИЦЫ ПИРУВАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ОБРАЗЦАХ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Борисова Н.Р.¹, Артюхов А.В.^{2,3}, Буник В.И.^{2,3,4}

¹ФГОАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Институт клинической медицины им. Н.В. Склифосовского, Москва

²ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Москва

³ФГОАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Кафедра биохимии, Москва

⁴ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва

Кровь — доступный и информативный объект для биохимических исследований *in vivo*, включая анализ экспрессии белков методом вестерн-блоттинга для персонифицированной медицины. Однако до трети всех белков крови составляют иммуноглобулины, что может осложнять детекцию минорных белков при разной специфичности вторичных антител (АТ-II).

Целью данной работы является сравнение разных АТ-II при вестерн-блоттинге альфа-субъединицы пируватдегидрогеназы (ПДГА) в образцах цельной крови человека.

Материалы и методы. Цельную кровь и сыворотку человека разводили в 12 раз буфером для образцов и наносили на гель по 10 мкл. Гомогенат сердца крыс и лизат клеток человека использовали как положительные контроли. После электрофореза, полусухого переноса и блокировки в 5% растворе BSA мембраны инкубировались с первичными антителами (АТ-I) к ПДГА (CST #3205, 1:5000), затем с одним из АТ-II. Использовали конъюгированные с пероксидазой АТ-II козы против иммуноглобулинов кролика фирм Имтек (P-GAR Iss, против IgG, IgM, IgA) и CST (#7074, против IgG) в разведении 1:3000, соответствующим (АТ-II CST) или выше (АТ-II Имтек) рекомендованного производителями. Инкубацию мембран с АТ-II без инкубации с АТ-I использовали для отрицательного контроля. Сигналы хемилюминесценции нормировали на общий белок в геле.

Результаты. Митохондриальная ПДГА является минорным белком крови человека,

поскольку эритроциты лишены митохондрий. Полоса, соответствующая по весу зрелой ПДГА (40 кДа), определилась обоими АТ-II лишь в образцах сердца и клеток человека, проинкубированных с АТ-I. В крови и сыворотке АТ-II Имтек проявляли полосу 50 кДа вне зависимости от инкубации с АТ-I, но интенсивность полосы 50 кДа в крови была выше при инкубации с АТ-I. В сыворотке АТ-II Имтек проявили и ряд дополнительных полос высокой интенсивности в интервале от 23 до 150 кДа, причем полосы 100 и 50 кДа в сыворотке были сравнимой интенсивности. Полоса 50 кДа по весу соответствует тяжелой цепи IgG. Возможно, получение АТ-II Имтек к IgG, IgM, IgA кролика повысило их реактивность к иммуноглобулинам человека, не выраженную у АТ-II CST на IgG кролика.

Закключение. АТ-II Имтек сильнее реагируют с белками крови и сыворотки человека, чем АТ-II CST, что может приводить к артефактам при изучении минорных белков крови.

ПОЛУЧЕНИЕ ОДНОЦЕПОЧЕЧНОГО ВАРИАБЕЛЬНОГО ФРАГМЕНТА ИНГИБИТОРНОГО АНТИТЕЛА К PAPP-A 1-41 И ТЕСТИРОВАНИЕ ЕГО АКТИВНОСТИ НА КЛЕТОЧНЫХ МОДЕЛЯХ

Гущеваров Д.А.¹, Постников А.Б.², Серебряная Д.В.¹

¹ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Биологический факультет, Москва

²Хайтест, Финляндия

Инсулиноподобные факторы роста IGF-I и IGF-II (Insulin-like growing factors) являются ключевыми регуляторами роста и регенерации организмов, опосредуя процессы пролиферации и поддержания жизнеспособности клеток. Большая часть секретируемого клетками IGF находится в комплексе с IGFBP — белками, связывающими IGF (Insulin-like growing factors binding protein). Биологическая доступность IGF регулируется путем протеолиза IGFBP под действием специфических протеаз. В результате происходит высвобождение биологически активного IGF, который взаимодействует с клеточными рецепторами и реализует свои функции. Единственной протеазой, способной расщеплять в физиологических условиях белок IGFBP-4, является PAPP-A — белок плазмы А, ассоциированный с беременностью (Pregnancy-associated plasma protein A). Основными мишенями PAPP-A в организме являются белки IGFBP-4 и IGFBP-5, причем в связывании белка IGFBP-4 участвует его С-концевой LNR3 фрагмент. Естественными ингибиторами протеолитической активности PAPP-A являются станниокальцин и proMBP, которые полностью блокируют активность PAPP-A в отношении всех субстратов. Кроме этого, были получены одноцепочечные вариabельные фрагменты (ScFv) ингибиторного антитела 1-41 (ScFv 1-41), специфичного к LNR3 эпитопу PAPP-A, связывание с которыми блокирует протеолитическую активность PAPP-A в отношении IGFBP-4 *in vitro*. Однако ингибирование активности PAPP-A в экспериментальных клеточных моделях пока остается не до конца решенной задачей.

Целью настоящей работы было создание одноцепочечного вариabельного фрагмента ингибиторного антитела к PAPP-A и тестирование его ингибиторной активности на различных клеточных культурах.

Нуклеотидная последовательность ScFv 1-41 с гистидиновым тагом была синтезирована в компании Tsingke (Китай) и встроена в вектор pET23a+ с использованием рестриктаз NdeI и XhoI. Экспрессию полученного белка проводили в клетках Rosetta 2(DE3)pLysS. Полученный белок очищали на Ni-NTA агарозе. Тестирование ингибиторных свойств ScFv в отношении PAPP-A проводили с использованием неопитоп-специфичного флуориметрического анализа с использованием антител к эпитопу IGFBP-4, образующемуся в результате PAPP-A-специфичного протеолиза.

Показано, что полученные ScFv 1-41 ингибируют протеолитическую активность PAPP-A как *in vitro*, так и на первичной нейроглиальной культуре в 3 раза. В дальнейшем планируется тестирование полученных ScFv на первичных культурах, полученных из различных тканей.

Источники финансирования. Исследование выполнено при поддержке гранта Российского Научного Фонда № 24-25-00051 «Исследование регуляции биодоступности IGF как адаптивного механизма при гипертрофических изменениях миокарда».

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МЕМБРАН-СВЯЗАННОГО ЦИТОХРОМА P450(51) ЧЕЛОВЕКА И ЕГО ФЛАВОНОИДНОГО ИНГИБИТОРА ЛЮТЕОЛИН 7,3'-ДИСУЛЬФАТА

Калужский Л.А.^{1,2}, Яблоков Е.О.¹, Гнеденко О.В.¹, Буркатовский Д.С.³, Маслов И.В.³, Богородский А.О.³, Ершов П.В.¹, Цыбрук Т.В.⁴, Зелепуга Е.А.⁵, Руцкова Т.А.⁵, Козловская Э.П.⁵, Дмитриев П.С.⁵, Гилеп А.А.^{1,4}, Борщевский В.И.^{3,6}, Струшкевич Н.В.⁷, Иванов А.С.¹

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

³ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)», Центр исследований молекулярных механизмов старения и возрастных заболеваний, Долгопрудный

⁴ГП «Институт биоорганической химии НАН Беларуси» (ИБОХ НАН), Минск, Республика Беларусь

⁵ФГБНУ «Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова» ДВО РАН, Владивосток

⁶Объединенный институт ядерных исследований (ОИЯИ), Дубна

⁷Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Сколковский институт науки и технологий», Москва

Цитохромы P450 (CYP) играют важную роль в окислительных превращениях многочисленных эндогенных и экзогенных соединений [1]. Известно, что липидный состав биологической мембраны может влиять на активность CYP и его пространственную ориентацию [2]. При этом мало что известно о том, как состав мембран влияет на лиганд-связывающие свойства CYP. Сульфатированные производные флавоноидов могут транспортироваться через клеточную мембрану с помощью белков-переносчиков [3], а их пассивный транспорт через клеточные мембраны заметно менее эффективен, чем у несulfатированных форм [4], что может говорить о менее выраженном родстве к клеточной мембране. В данной работе [5] мы изучили влияние липидного состава мембраны на взаимодействие встроенного в нее CYP51A1 с флавоноидом-ингибитором лютеолин-7,3'-дисульфатом (ЛДС) [6]. Для этого была использована SPR-технология с формированием бислоистой липидной мембраны на поверхности оптического чипа биосенсора [7] и микроскопия визуализации времени жизни флуоресценции (FLIM) [8]. Самая низкая равновесная константа диссоциации комплекса CYP51A1/ЛДС наблюдалась в случае мембран, содержащих холестерин или сфингомиелин. Наблюдалась взаимосвязь кинетических параметров взаимодействия CYP51A1 и ЛДС с вязкостью мембраны и общим зарядом. Специфический липидный состав мембраны, обусловленный

содержанием холестерина и/или сфингомиелина, может играть важную роль в регуляции взаимодействия низкомолекулярных лигандов с CYP. Работа посвящена памяти д.б.н. Александра Алексеевича Артюкова (ТИБОХ) – разработчика метода получения ЛДС.

Литература

1. Anzenbacher, P.; Anzenbacherova, E // Cell. Mol. Life Sci. 58 (2001) 737–747.
2. Krishnarajuna, B. et al. // Anal. Chem. 94 (2022) 11908–11915.
3. Wong, CC et al. // Biochem. Pharmacol.. 84 (2012) 564–570.
4. Roubalova, L. et al. // Bioorg. Med. Chem. 23 (2015) 5402–5409.
5. Kaluzhskiy, L. et al. // Biochim. Biophys. Acta – Biomembranes 1866 (2024) 184286.
6. Kaluzhskiy, L. et al. // Molecules, 26 (2021) 2237.
7. Erb E.-M. et al. // Anal. Biochem. 280 (2000) 29–35
8. Levitt J.A. et al. // J. Phys. Chem. C 113 (2009) 11634–11642

Источники финансирования: Работы по экспрессии и очистке CYP51A1 финансировались БРФФИ (грант № X23RNF-090). SPR-анализ и получение ЛДС выполнены при финансовой поддержке РНФ (грант № 23-44-10009). SPR анализ выполнялся на оборудовании ЦКП «Протеом человека» ИБМХ (Россия). Работы по измерению времени жизни флуоресценции финансировались Министерством науки и высшего образования РФ (проект ФСМГ2024-0012).

ПОЛОВОЙ ДИМОРФИЗМ ВЗАИМОСВЯЗЕЙ МЕЖДУ НАД⁺, ТИАМИНДИФОСФАТОМ, АКТИВНОСТЬЮ ТРАНСКЕТОЛАЗЫ И ВОЗРАСТОМ ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ

Карлина И.С.¹, Соловьева О.Н.², Балашова Н.В.^{3,4}, Сидорова О.П.⁵, Буник В.И.^{1,2,6}

¹ФГОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

²ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Москва

³ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского» (МОНИКИ), кафедра клинической лабораторной диагностики, Москва

⁴ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы (РУДН), кафедра диетологии и клинической нутрициологии, Москва

⁵ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский институт им. М.Ф. Владимирского» (МОНИКИ), кафедра неврологии, Москва

⁶ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва

Тиамин (витамин В₁) — предшественник кофермента тиаминдифосфата (ТДФ), необходим для метаболизма глюкозы — незаменимого источника энергии для нервной ткани.

Цель данной работы — сравнить взаимосвязи ТДФ, окисленного никотинамидадениндинуклеотида (НАД⁺), активности транскетолазы (ТК) и возраста у мужчин и женщин без диагностированных патологий и при наследственной периферической моторно-сенсорной нейропатии Шарко–Мари–Тута (ШМТ).

В цельной венозной крови 20 здоровых людей (7 мужчин и 13 женщин), 16 пациентов с ШМТ (7 мужчин и 9 женщин) и 6 пациенток с ШМТ после приема тиамин (возраст 16–70 лет) определяли активность ТК и количества ТДФ и НАД⁺. Сравнивали достоверные ($p < 0,05$) корреляции рассматриваемых параметров по Спирмену.

С возрастом в крови здоровых женщин, но не мужчин, растет содержание ТДФ и падает НАД⁺. Активность эндогенно насыщенного ТДФ ТК (холоТК) растет с возрастом у здоровых женщин и мужчин, но лишь у мужчин рост холоТК сопровождается падением содержания НАД⁺. Таким образом, холоТК у здоровых женщин положительно коррелирует с возрастом, но не коррелирует с НАД⁺, тогда как у здоровых мужчин положительная корреляция холоТК с возрастом сопровождается отрицательной корреляцией с НАД⁺. Половой диморфизм соотношения холоТК и НАД⁺ у здоровых людей

сопряжен с присущими лишь женщинам корреляциями полной активности ТК с активацией ТК ТДФ и с холоТК. По-видимому, разная регуляция ТК крови ТДФ у здоровых мужчин и женщин определяет половой диморфизм возрастных корреляций холоТК с ТДФ и НАД⁺. Это предположение подтверждает тенденция обратного соотношения уровней ТДФ и НАД⁺ в крови здоровых женщин, но не мужчин.

Большинство исследованных корреляций и их половой диморфизм исчезают при ШМТ, где у обоих полов наблюдается лишь положительная корреляция между общей ТК и холоТК. Такие изменения тиамин-зависимого метаболизма в ШМТ согласуются с ростом уровня насыщения ТК ТДФ при патологии. В группе пациенток ШМТ после приема тиамин возникает отрицательная корреляция между уровнем ТК активности и НАД⁺, присущая здоровым мужчинам. Однако такая «мужская» корреляция после приема тиамин пациентками ШМТ сопровождается отрицательной корреляцией между активностью ТК и ТДФ, отсутствующей у здоровых людей.

Таким образом, мы показали наличие полового диморфизма взаимосвязей возраста и параметров тиамин-зависимого метаболизма в крови здоровых людей, исчезающего при ШМТ. Половой диморфизм тиамин-зависимого метаболизма здоровых людей сопряжен с разной регуляцией ТК ТДФ и с половым диморфизмом возрастных изменений уровней ТДФ и НАД⁺.

КОНКУРЕНТНОЕ И НЕКОНКУРЕНТНОЕ ИНГИБИРОВАНИЕ ПРОСТАГЛАНДИН-Н-СИНТАЗЫ ИНДОМЕТАЦИНОМ В ЗАКРЫТЫХ И ОТКРЫТЫХ СИСТЕМАХ

Кривошей А.В.¹, Вржещ П.В.^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», Международный учебно-научный биотехнологический центр, Москва

²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва

Действие нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) в организме человека основано на ингибировании фермента простагландин-Н-синтазы (PGHS). Принято считать, что взаимодействие PGHS с ингибиторами происходит по двухстадийному механизму, который состоит из быстрой обратимой стадии (с конкурентным характером связывания ингибитора) и медленной стадии. Однако было показано, что взаимодействие PGHS с ингибиторами (на примере напроксена) в состоянии равновесия имеет наблюдаемый неконкурентный характер. Традиционные кинетические исследования *in vitro* проводятся в закрытых системах, не предполагающих постоянного притока фермента, субстратов и т.д., в то время как организм представляет собой открытую систему с синтезом и деградацией фермента, а также с внешней регуляцией притока субстратов. Таким образом, параметры закрытых систем могут совершенно не соответствовать поведению открытых систем (например, *in vivo*). В частности, ранее с помощью теоретического анализа было показано, что в открытых системах в стационарном состоянии ингибиторы PGHS медленного действия ведут себя как полностью конкурентные.

В настоящей работе исследовали взаимодействие PGHS с ингибитором индометацином и определяли основные характеристики ингибирования в закрытых и открытых системах. Для экспериментов *in vitro* использовали изоформу PGHS-1 из везикулярных желез барана. Циклооксигеназную активность фермента определяли амперометрическим методом по изменению концентрации растворённого кислорода. Полученные данные анализировали с помощью программного пакета Origin, а также пакета Optimization Toolbox языка MATLAB.

В режиме инициации реакции ферментом было подтверждено наличие конкурентного ингибирования для быстрой стадии связывания PGHS с индометацином. Затем в режиме практического равновесия (при достаточном времени преинкубации с ферментом до начала реакции) был показан неконкурентный характер ингибирования индометацином, что объясняется медленной диссоциацией фермент-ингибиторных комплексов. Затем с помощью численного моделирования соответствующей открытой системы было подтверждено, что зависимости потока продукта (скорости накопления продукта) соответствуют конкурентному ингибированию.

Полученные результаты могут сыграть важную роль для дальнейших фармакологических исследований НПВП *in vivo*.

Источники финансирования. Средства федерального бюджета. Работа выполнена с использованием оборудования, приобретенного за счет средств Программы развития Московского университета.

РОЛЬ ФЕРМЕНТОВ СИСТЕМЫ РЕПАРАЦИИ ЧЕЛОВЕКА OGG1 И APE1 В ВОЗНИКНОВЕНИИ «ДРАЙВЕРНЫХ» МУТАЦИЙ В G-БОГАТОМ ФРАГМЕНТЕ ПРОМОТОРНОЙ ОБЛАСТИ ГЕНА ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПТАЗЫ ТЕЛОМЕРАЗЫ

Кубарева Е.А.¹, Савицкая В.Ю.², Сныга В.Г.², Дятлова Е.А.³, Монахова М.В.¹, Долинная Н.Г.², Жарков Д.О.³, Зверева М.Э.²

¹ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Москва

²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», Химический факультет, Москва

³ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск

Гетероциклические основания ДНК, источник генетической информации, повреждаются окислительными агентами, что играет значительную роль в развитии онкологических заболеваний у человека. Гуанин чаще других гетероциклических оснований модифицируется во время окислительного стресса. Одним из основных продуктов окисления 2'-дезоксигуанозина в клетке является 8-оксо-7,8-дигидро-2'-дезоксигуанозин (8-охоГ), который может образовывать пару с dA, приводя к трансверсии dG:dC в T:dA. За узнавание и удаление модификации 8-охоГ в ДНК отвечает система эксцизионной репарации оснований (ЭРО), а именно фермент 8-оксогуанин-ДНК-гликозилаза (OGG1 у эукариот). Образующийся в результате действия OGG1 апуриновый (AP) сайт узнается и процессируется эндонуклеазой APE1. Анализ генома человека показал наличие тканеспецифичных мутаций, связанных с образованием 8-охоГ, в G-богатых областях промоторов различных генов, способных формировать G-квадруплексы (G4). Одной из причин возникновения «драйверных» мутаций может быть нарушение функционирования OGG1 и APE1 в области G4.

Для проверки этой гипотезы был выбран 96-звенный фрагмент промотора гена обратной транскриптазы теломеразы человека (TERT), G-богатая цепь которого потенциально способна к формированию tandemного параллельного квадруплекса. Окислительные замены G на 8-оксоГ или AP-сайт в положении 228, 242, 243, 242/243 или 250 относительно точки инициации транскрипции данного

промотора в некодирующей G-богатой цепи, а также AP-сайты в этих позициях вместо dC в комплементарной кодирующей C-цепи связаны с онкогенезом.

С помощью экспериментальных методов нами убедительно доказано влияние структурных особенностей G4 на эффективность удаления повреждений, локализованных внутри них, ферментами OGG1 и APE1 при сохранении высокого сродства к модифицированной ДНК. Закрепление тканеспецифичных мутаций в промоторе гена TERT может быть результатом неэффективного катализа гидролиза ДНК ферментами OGG1 и APE1 в случае локализации повреждения в положениях 228 и 250 G-богатой цепи в условиях образования G4 (100 мМ KCl) и в положении 250 в комплементарной C-богатой цепи. Возможно, что изменения структуры ДНК в этих позициях нарушают механизм действия рассматриваемых ферментов, связанный с необходимостью «выворачивания» 8-оксогуанина или AP-сайта, их расположения в специальной полости активного центра белка и дистанцирования от неповрежденных оснований.

Источники финансирования. Работа поддержана Российским научным фондом (проект № 21-14-00161).

К ВОПРОСУ О РЕГУЛЯТОРНОЙ РОЛИ ТРАНСКЕТОЛАЗЫ И НЕКОТОРЫХ МЕТАБОЛИТОВ ПЕНТОЗОФОСФАТНОГО ПУТИ В БИОСИНТЕЗЕ ФОСФОРИБОЗИЛПИРОФОСФАТА В ЭРИТРОЦИТАХ

Кубышин В.Л.¹, Садовничий В.В.²

¹Гродненский государственный аграрный университет, Гродно, Республика Беларусь

²Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь

В экспериментах *in vitro* исследовали влияние рибозо-5-фосфата, равновесной смеси фосфопентоз, полученной с помощью высокоочищенного препарата рибозофосфатизомеразы и рибулозофосфат эпимеразы, глюкозо-6-фосфата, АТФ на скорость синтеза фосфорибозилпирофосфата (ФРПФ) в лизированном препарате эритроцитов крыс.

Установлена высокая чувствительность фосфорибозилпирофосфат синтетазы (ФРПФС) эритроцитов к концентрации рибозо-5-фосфата ($K_m=0,18$ мМ), АТФ ($K_m=0,36$ мМ), фосфопентоз, глюкозо-6-фосфата. Внесение высокоочищенного препарата транскетолазы(ТК) в лизаты эритроцитов сопровождается блокированием биосинтеза (ФРПФ). С увеличением активности вносимого фермента это действие усиливалось. Следовательно, интенсивность ТК реакций можно рассматривать как регуляторный фактор, контролирующий уровень концентрации Р-5-Ф субстрата-предшественника ФРПФ.

Так как ингибирование ФРПФС зависело от длительности инкубации гемолизатов с экзогенной ТК, есть основание предположить существенную регуляторную роль продуктов ТК-трансальдолазных реакций в исследуемом процессе. Высокая активность ТК обуславливает интенсивную утилизацию пентозофосфатов, тем самым снижая концентрацию Р-5-Ф-субстрата ФРПФ синтетазы. В эффекте ТК на биосинтез ФРПФ гемолизатами эритроцитов решающее значение могут иметь продукты ТК реакции как ингибиторы синтетазы ФРПФ.

Возможное влияние на синтез ФРПФ субстратами гликолиза — фосфорилированными гексозами — установлено в эксперименте, где преинкубация гемолизатов эритроцитов крыс с глюкозо-6-фосфатом в различных концентрациях существенно снижает количество ФРПФ. Следовательно, помимо

эффекторного действия Р-5-Ф, синтез ФРПФ в клетке находится под контролем глюкозо-6-фосфата и, возможно, других фосфорилированных сахаров.

В независимом эксперименте по ингибированию ТК окситиамином уровень ФРПФ в ткани почки экспериментальных крыс опытного варианта ($98,7\pm12,9$) был достоверно выше (в 1,7–2,0 раза), чем в контроле ($52,4\pm5,1$; $P<0,01$). Этот эффект наблюдался через 24 ч после воздействия антиметаболита, когда активность ТК ткани почки снизилась на 30–40%. Более длительное воздействие антиметаболита в условиях насыщения вызвало снижение активности фермента до 60% от активности фермента контрольных животных. Повышение концентрации ФРПФ объясняется торможением ферментативной активности ТК реакции, за счет которой осуществляется утилизация фосфорилированных форм пентоз, в том числе Р-5-Ф, но также и снижением метаболизма ФРПФ по пути биосинтеза нуклеиновых кислот.

ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ ПОРФИРИНОВОГО КОЛЬЦА В СОСТАВЕ ЦИТОХРОМА С С КАРДИОЛИПИНОМ С ПОМОЩЬЮ АКТИВИРОВАННОЙ КУМАРИНАМИ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕЦИИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ГЕТЕРОГЕННОГО КАТАЛИЗАТОРА

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

¹ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

²ФГБОУ ВО «Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана (национальный исследовательский университет)», Москва

³ФГОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

⁴ФГАОУ ВО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет», Пермь

⁵ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Москва

Введение. 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 C_{314} и C_{334} — перехватывают возбуждение у триплетно-возбужденных кетонов, образующихся при рекомбинации перекисных радикалов по механизму Рассела и являются флуоресцентными зондами. Моделирование порфиринового кольца в составе цитохрома С с кардиолипином в окружении природных красителей флуоресцентных зондов кумаринов C_{314} и C_{334} показало, что при нейтральном рН гем в цитохроме С существует в низкоспиновой конфигурации, при этом хемилюминесценция люминола на 3–4 порядка выше, чем самих возбужденных кетонов

Материалы и методы. Точность нашего исследования определяется наличием кардиолипина для стабилизации рН, тушением Fe^{2+} и присутствием природных красителей кумаринов C_{314} и C_{334} . Факторы, которые искажают параметры моделирования порфиринового кольца в составе цитохрома С с кардиолипином в окружении флуоресцентных зондов кумаринов C_{314} и C_{334} : недостаточное добавление пероксида водорода, избыточное количество азота (II), метанола, денатурация белка, изменение конформации цитохрома С в комплексе цитохрома С с кардиолипином. Проанализированы системы липопероксидазной и квазилипоксигеназной реакций.

Результаты. Цитохром С в комплексе с кардиолипином отличается от нативного цитохрома следующими 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 С. (3). Обладает ферментативной активностью. (4). Катализирует образование липидных радикалов в мембране в окружении обоих флуоресцентных зондов природных красителей кумарина C_{314} и кумарина C_{334} . (5). Ферментативная активность зависит не только от концентрации цитохрома С 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 рН гем в цитохроме С существует в низкоспиновой конфигурации, и железосодержащий центр шестиугольно координирован пирролическими атомами азота из порфиринового кольца и аксиальными лигандами Met (80) и His (18) апопротеина

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

ФЕРМЕНТЫ ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ЧЕЛОВЕКА, МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ

Мухаметова Л.И.

ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова», Химический факультет, Москва

Фибринолиз — это серия взаимосвязанных ферментативных реакций, протекающих на поверхности тромба. Ключевой фермент плазмин (Pm) разрушает фибрин тромба. Активность фибринолитической системы (FS) контролируется ингибиторами Pm и ингибиторами активаторов плазминогена (PAs). Ферменты FS могут быть использованы как маркеры при терапии тромбозов, воспалении и распространении онкозаболеваний. Для оценки активности ферментов FS известны несколько подходов: 1) измерение собственных активностей с помощью хромогенных субстратов, или 2) измерение фибринолитических активностей PAs. Однако измерение собственных активностей ферментов FS в плазме крови возможно только для плазминогена (Pg), измерение фибринолитической активности на фибриновых пластинах не позволяет дифференцировать tPA и uPA.

Цель работы: разработка высокочувствительных методов определения активности PAI-1, tPA и uPA, анализ потенциально активного Pg, в плазме крови здоровых доноров и больных AIM.

Для определения концентрации активного PAI-1 был разработан метод, основанный на добавлении к плазме избытка tPA, который необратимо связывает весь плазменный PAI-1, и измерении остаточной активности tPA с помощью сопряженной системы реакций. Остаточная активность tPA обратно пропорциональна концентрации PAI-1 в плазме. Разработанный микрометод позволяет детектировать до 0,1 нМ PAI-1. Для определения индивидуальных активностей tPA и uPA был разработан метод сопряженных реакций активации плазминогена в присутствии или отсутствии растворимого фибрин-мономера, основываясь на разной специфичности к фибрину двух PAs мы смогли определить активности двух ферментов индивидуально. В плазме крови 4-х здоровых доноров и 11-ти больных AIM, отобранных до лекарствен-

ной терапии были изучены концентрации ферментов FS. В плазме здоровых доноров уровень активного Pg соответствовал норме (1,35-1,58 μ M), активность PAI-1 не определялась. Уровень активного Pg у 8-и больных AIM был в пределах нормы, в то время как у 3-х больных он был очень низким. В плазме большинства больных активность PAI-1 была повышена.

Таким образом в данной работе разработаны методики определения активностей PAI-1, tPA и uPA. На примере больных AIM показано, что у пациентов наблюдается повышенная активность PAI-1 при нормальном уровне активного Pg, что может быть связано с полиморфизмом гена PAI-1, а очень низкий уровень активного Pg может быть вызван полиморфизмом его гена, вызывающим мутацию в близи активного центра Pg и к потере им потенциальной активности.

Работа выполнена в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова 121041500039-8.

8-ОКСОГУАНИН В СОСТАВЕ G-БОГАТЫХ МОТИВОВ: ВЛИЯНИЕ НА СТРУКТУРУ ДНК И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ГЛИКОЗИЛАЗЫ OGG1 ЧЕЛОВЕКА

Сныга В.Г.¹, Савицкая В.Ю.¹, Дятлова Е.А.², Жарков Д.О.², Долинная Н.Г.¹, Зверева М.Э.¹, Кубарева Е.А.³

¹ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», Химический факультет, Москва

²ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск

³ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Москва

Экзационная репарация оснований (ЭРО) — основной механизм удаления поврежденных гетероциклических оснований из последовательности ДНК. ЭРО играет важную роль в поддержании стабильности генома и предотвращении развития заболеваний. Один из важных участников ЭРО — ДНК-гликозилазы, высокоспецифичные к определенному типу повреждений. 8-Оксо-7,8-дигидро-2'-дезоксигуанозин (8-охоG), возникающий в результате действия активных форм кислорода на dG в G-богатых последовательностях ДНК, способных к образованию G4, является субстратом бифункциональной 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазы OGG1 у эукариот. Сниженная активность фермента в G-богатых районах может способствовать возникновению и закреплению мутаций.

Цель работы — установить влияние 8-охоG в составе G-богатых последовательностей на функционирование OGG1 и структуру квадруплекса.

В качестве контрольной модельной системы выбраны 41-звенные фрагменты ДНК, представляющие собой параллельный квадруплекс мотива (GGGT)₄ с модификацией 8-охоG в каждом из трактов в одном из трех положений.

Методом кругового дихроизма (КД) показано образование G4 параллельного типа для всех одноцепочечных фрагментов, за исключением позиций 15, 19, 23 и 27, дестабилизирующих формирование G4. Удаление 8-охоG ферментом OGG1 происходило по одинаковому принципу для всех тетрад: средние положения G репарировались хуже, чем боковые. Основной объект исследования — G-богатый фрагмент некодирующей

цепи промотора гена теломеразы обратной транскриптазы человека hTERT.

Мутации в гене hTERT чаще всего представлены заменами G>A в 228, 242, 243, 242/243, 250 и двойной заменой в 242/243 положении относительно точки инициации транскрипции. Получены пять 96-звенных фрагментов, в каждом из которых в одно из этих положений введен(ы) 8-охоG. Методом КД показано формирование параллельных квадруплексов независимо от положения 8-охоG. Удаление 8-охоG белком OGG1 из положения 242/243 происходило наиболее эффективно, так же, как и из положений 242 и 243. Значительное снижение активности OGG1 зафиксировано для положений 228 и 250. Степень удаления ферментом OGG1 из дуплексов по сравнению с одноцепочечными ДНК выше для всех позиций 8-охоG и для 41- и 96-звенных систем, что свидетельствует о влиянии образования G4 на функционирование OGG1. Возникновение 8-охоG в G-богатых областях затрудняет действие OGG1 как внутри мультиквадруплексной структуры TERT промотора, так и одного параллельного G4, а положение модификации влияет на эффективность удаления 8-охоG.

Источники финансирования. Работа поддержана Российским научным фондом (проект № 21-14-00161).

ДЕЙСТВИЕ МОЧЕВОЙ КИСЛОТЫ НА АКТИВНОСТЬ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ

Филиппаки И.В., Зуйков С.А., Одарченко Т.С.

ФГБОУ ВО «Донецкий государственный медицинский университет им. М. Горького» Минздрава России, Донецк

Ключевым аспектом в патогенезе опухолей является нарушение метаболизма пуриновых нуклеотидов и углеводов, что приводит к усилению потребления глюкозы и повышению образования лактата — конечного продукта гликолиза. При этом ведущая роль отводится росту экспрессии и активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ). Так как оба эти метаболические пути локализованы в цитоплазме, логично предположить наличие между ними взаимодействий.

Цель. Определение возможного влияния мочево́й кислоты на активность ЛДГ.

Материалы и методы. Для оценки влияния мочево́й кислоты на активность ЛДГ гемолизаты крови 16 условно здоровых людей делили на 2 серии (контрольную и опытную). По 0,02 мл образцов обеих серии попарно инкубировали при 37 °С в течение 10 мин в 0,8 мл буфера, содержащего 2,0 мМ пирувата (контрольная серия) или 2,0 мМ пирувата и 0,9 мМ мочево́й кислоты (опытная серия). Активность ЛДГ в сравниваемых сериях оценивали по скорости убыли НАДН с помощью SPECORD 200 PLUS (Analytik Jena, Германия) при 340 нм. Показатель активности фермента нормировали на содержание гемоглобина в исследуемых образцах.

Результаты и обсуждение. Среднее значение показателя активности ЛДГ в опытной серии оказалось почти на 40% ниже, чем в контроле, когда предварительную инкубацию гемолизата эритроцитов проводили без мочево́й кислоты, соответственно $3,40 \pm 2,00$ мкат/гНб и $5,51 \pm 2,45$ мкат/гНб. Обнаруженные различия средних показателей статистически значимы при $p=0,004$. Выраженное ингибирующее влияние мочево́й кислоты на активность ЛДГ сказывается не только на предпочтительной траектории окисления углеводов, но и на предполагаемом участии данного фермента в патогенетических механизмах развития и прогрессии злокаче-

ственных новообразований и даже на эффективности химиотерапии. Согласно величине константы термодинамического равновесия, направление реакции, катализируемой ЛДГ, смещено в сторону образования лактата. Отсюда следует, что ингибирующее действие МК на активность ЛДГ тормозит образование лактата, препятствуя регенерации окисленного НАД⁺. Последнее ограничит скорость гликолиза, интенсификация которого характерна для злокачественно трансформированных клеток.

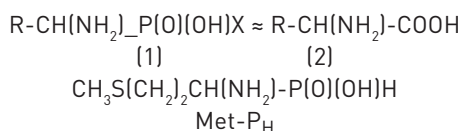
Заключение. Полученные результаты свидетельствуют, что предварительная 10-минутная инкубация гемолизата эритроцитов в присутствии мочево́й кислоты в концентрации 0,9 мМ приводит к статистически значимому угнетению активности ЛДГ. Обнаруженный эффект мочево́й кислоты отмечается в подавляющем большинстве (90%) использованных образцов периферической крови.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФОСФОАНАЛОГОВ S-АДЕНОЗИЛМЕТИОНИНА И S-АДЕНОЗИЛГОМОЦИСТЕИНА С ДНК-МЕТИЛТРАНСФЕРАЗАМИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Филонов В.Л., Хомутов А.Р.

ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН, Москва

Замена карбоксильной группы аминокислот на фосфорсодержащий фрагмент приводит к двум основным семействам аналогов. Аминофосфонистые кислоты (1, X=H), в отличие от аминокислот (2), поскольку фосфонистая группа (один заряд, сплюснутый тетраэдр) лучше имитирует плоскую однозарядную карбоксильную группу, чем фосфоновая (двухзарядная, тетраэдр).



Так, фосфонистый аналог метионина (Met-PH) обладает хорошей фунгицидной активностью, а также подавляет рост лейкозных клеток L1210, где он превращается в соответствующий аналог S-аденозилметионина (AdoMet-PH). Тем не менее, взаимодействие AdoMet-PH с метилтрансферазами не исследовалось.

Dnmt3a представляет собой *de novo* ДНК-метилтрансферазу млекопитающих, ответственную за формирование рисунка метилирования ДНК. AdoMet-PH и AdoMet-P5 оказались субстратами Dnmt3a, причём лишь в 2 раза худшими в сравнении с AdoMet. В то же время соответствующие фосфоаналоги S-аденозилгомоцистеина (AdoHcy-PH и AdoHcy-P5) являются ингибиторами Dnmt3a, уступающими природному AdoHcy только в 3–4 раза. Оказалось, что различия в геометрии и заряде фосфорсодержащего фрагмента фосфонистых и фосфоновых аналогов не влияют на эффективность взаимодействия с Dnmt3a как в случае аналогов AdoMet, так и в случае аналогов AdoHcy [1]. В то же время фосфоаналоги AdoMet и AdoHcy не взаимодействуют с ДНК-метилтрансферазой Dnmt1, ответственной за

поддержание рисунка метилирования при репликации ДНК у млекопитающих. Такие различия оказались неожиданными с учётом высокой степени гомологии каталитических доменов Dnmt1 и Dnmt3a.

Таким образом, фосфоаналоги AdoMet оказались первыми донорами метильной группы, позволяющими дискриминировать активность поддерживающей и *de novo* ДНК-метилтрансфераз млекопитающих. Стоит отметить, что фосфоаналоги AdoMet химически существенно стабильнее AdoMet, что делает их также удобными и ценными инструментами исследования метилтрансферазных реакций.

Литература

1. Филонов В.Л., Хомутов М.А., Сергеев А.В., Хандажинская А.Л., Кочетков С.Н., Громова Е.С., Хомутов А.Р. Взаимодействие ДНК-метилтрансферазы Dnmt3a с фосфорорганическими аналогами S-аденозилметионина и S-аденозилгомоцистеина. Молекулярная Биология, 57, 717–725 (2023).

Источники финансирования. Грант РФФИ № 22-14-00291.

Указатель авторов

Абакумов М.А.	190	Арбатский М.С.	99	Бельская Л.В.	125, 128
Абакумова Т.О.	65	Арзуманян Л.К.	236	Бельских Э.С.	136, 143, 199, 223
Абаленихина Ю.В.	58, 269, 382, 420	Аристов М.Р.	90	Бения Р.М.	222
Абдуллаева В.К.	400	Аркус М.Л.	140	Бердалин А.Б.	33
Абдуллин Т.И.	183, 207, 285	Арнаутова А.О.	203	Бердников А.К.	54
Абдуллина А.И.	100	Артамонов А.Ю.	174	Березовский М.В.	12
Абдуразаков А.	247	Артемова Д.А.	92, 95	Берзина М.Я.	203
Абдурахманова М.Ж.	363	Артемова И.А.	364	Берсон Ю.М.	369
Абдюшева Я.Р.	152	Артемьева К.А.	35	Бикбаева Г.И.	186
Абрамичева П.А.	25, 27	Артемьева М.М.	75, 221, 227	Билан Д.С.	63, 378, 392, 398
Абрамова А.А.	96	Артюхов А.В.	239, 425	Блинова В.Г.	96
Абрамова О.В.	33	Арутюнян А.В.	67, 375	Богатыренко Т.Н.	270
Абрамова Т.А.	256	Арутюнян И.В.	92, 98, 239	Богородский А.О.	427
Абрашина И.В.	379	Асланова М.А.	82	Боденко В.В.	416
Агафонова М.Н.	220, 329	Атаева Е.М.	242, 246	Бойко С.А.	336
Агостинелли Э.	211	Атрощенко М.М.	199	Бойченко С.С.	9, 69, 100, 101, 104
Адашева Д.А.	221, 227, 229	Атякшин Д.А.	30	Боков Р.О.	275
Азадова Г.Я.	260	Афанасьев С.Г.	267	Болдырева Е.В.	172
Азарова Ю.Э.	311	Беленикин М.С.	119	Бондарук А.А.	9
Азьмуко А.А.	224	Бабарико Д.В.	308	Борзов А.А.	20
Айтмухамбетова И.Р.	279, 324	Бабкина Л.А.	364, 381	Борисов В.Б.	271
Акберова Н.И.	294	Багдасарян А.А.	93	Борисова Н.А.	278
Акимов А.В.	270	Баданина Д.М.	237	Борисова Н.Р.	425
Акимов П.А.	312	Бадун Е.Г.	31, 124	Бороздина Н.А.	215
Акопян Ж.А.	106	Бадюлина В.И.	295, 296	Борщевский В.И.	421, 424, 427
Алашева М.М.Х.	300	Бажанова Е.Д.	53, 76	Ботнарюк Н.А.	126
Александрова А.А.	366	Бакакина Ю.С.	308	Бочарников А.Д.	26
Александрова А.В.	333	Баклашев В.П.	36, 51	Бочаров Г.А.	163, 168
Александркина В.В.	35	Бакурова Е.М.	365	Бочаров Э.В.	418
Алексеев М.А.	310	Балакин К.В.	220	Браже Н.А.	63
Алексеева А.П.	342	Балакина А.С.	80	Бразовская Е.Ю.	174
Алексеева Л.А.	253	Балашова Н.В.	222, 428	Брезгин С.А.	107, 286
Алибаева Э.И.	201	Балдина О.А.	44, 138	Брезгунова А.А.	26, 27
Аликина Ю.А.	174	Бандовкина В.А.	78, 326, 395	Бржозовский А.Г.	272
Аллаярова У.Ю.	270	Баронец В.Ю.	140	Бричагина А.А.	90
Алферов А.А.	142, 151	Бартош Б.	45	Бровин А.Н.	69, 100, 102, 103, 104
Андрецова С.С.	108	Барыкин Е.П.	56	Брускин С.А.	40
Андреюк Д.С.	33	Басалова Н.А.	99, 106	Бугрова А.Е.	272
Андрианова Н.В.	25, 26, 27, 29	Бахронов И.А.	249	Будунова М.В.	355
Андрющенко А.В.	33	Бежанидзе Е.З.	401	Буздин А.А.	252
Аникин А.А.	339	Безверхняя Е.А.	416	Букша И.А.	90
Антипов В.А.	230	Безвугляк О.О.	237	Булатова Е.С.	220
Антипова Н.В.	144, 247, 260, 268	Безнос О.В.	42, 48	Булыгина И.Н.	181
Антипова О.М.	202	Бей Л.	211	Буник В.И.	278, 425, 428
Антипова Ю.Е.	205	Бейгуленко Д.В.	334	Буравков М.С.	55
Антонов В.А.	123	Бекасова О.Д.	335	Бурденный А.М.	257
Антонов В.Г.	295, 296	Бекбаева И.В.	266	Буркатовский Д.С.	427
Антонова М.М.	334	Белашов А.В.	248	Бутакова Н.С.	402
Антонова О.В.	33	Беленчиков А.А.	372	Бутузова Д.А.	99
Ануфриева К.С.	259	Белик Е.В.	21, 225	Бухвалов И.Б.	30
Анцеева С.	45	Беликов Н.Е.	204	Бушмина О.Н.	34
Аракаев О.Р.	117	Беликова В.А.	91	Буян М.И.	26
Аракелова А.Ю.	78	Белова М.А.	329	Быков И.М.	141
Арапиди Г.П.	236, 255, 259, 266	Белоглазкина Е.А.	408	Бяхова М.М.	119
Арапова Ю.Ю.	309	Белоглазкина Е.К.	416		
		Белоглазова С.А.	223		
		Белоус Е.М.	37		
		Белоусов В.В.	63, 65, 74, 392		

Вавилов Н.Э.	349, 350	Гагулаева Б.Б.	313	Грушецкий Н.А.	118
Вакуленко М.Ю.	66	Гаджиева Ф.Т.	382, 420	Грядунев Д.А.	33
Валинурова М.В.	285	Газизова Г.Р.	65	Губернаторова Е.О.	50, 51
Валихов М.П.	336, 343	Галагудза М.М.	22	Губич О.И.	83
Варфоломеев С.Д.	204	Галиева А.А.	103	Гулиа Л.Д.	222
Варфоломеева А.Р.	142	Галимов К.Ш.	314	Гуржиханова М.Х.	114
Варшавская К.Б.	56	Галимов Ш.Н.	314	Гусарева М.А.	326
Василевская Е.Р.	81	Галимова А.Р.	82	Гусев Д.В.	217
Василевский А.А.	154	Галимова Э.Ф.	314	Гусев К.О.	277
Васильев А.В.	392	Галимшина З.Р.	202	Гусев О.А.	65
Васильев В.Б.	238, 369	Галкин Г.В.	275	Гусева Е.А.	347
Васильева Е.О.	326	Галкин М.А.	306	Гусякова О.А.	127, 130
Васильева К.В.	63	Галкина С.И.	367, 368	Гущеваров Д.А.	75, 426
Васильева О.С.	329	Ганеев Т.И.	322	Гюльмамедов Д.Н.	300
Васильчикова Е.А.	259	Ганцова А.	60	Давыдов В.В.	360
Васина Л.В.	306	Ганцова Е.А.	95, 239	Даиоб К.	207
Васькейкина М.Ю.	161	Гапонова Т.В.	368	Даниленко О.В.	308
Васюкова А.А.	343	Гаранин А.Ю.	173, 412	Даренская М.А.	371
Вахитов В.А.	206	Гасилина О.А.	218	Дахневич А.Я.	104
Вахитова Ю.В.	147, 209	Гаспарян М.Э.	268	Дашинимаев Э.	239
Вахрушев Н.С.	22	Гельперина С.Э.	334, 336, 404	Деев Р.В.	259
Великанова Л.И.	321			Деев С.М.	265
Венина А.Р.	111	Герштейн А.С.	345, 405	Демидов О.Н.	50, 51
Вепхвадзе Т.Ф.	349, 350	Гилеп А.А.	427	Демидова Е.О.	53, 76
Вереникина Е.В.	309	Гильмиярова Ф.Н.	44, 127, 131	Демина О.В.	204
Веретененко И.И.	419			Демьяненко С.В.	59
Вержибская Т.Ю.	117	Гилязова И.Р.	314	Денисов Е.В.	114
Веселова О.М.	224	Гладилина Ю.А.	96	Деркач К.В.	315, 316, 331
Вечканов Е.М.	366	Гладких И.Н.	215, 287		
Виговский М.А.	106	Гладышев В.Н.	94	Дерявко Ю.В.	287
Викторович Н.Н.	273	Гмошинский И.В.	89	Джассим З.М.	244
Винель П.К.	32, 150	Гнеденко О.В.	427	Джауари С.С.	106
Виницкая А.Г.	57	Говорун В.М.	259	Дженкова Е.А.	250
Винокуров А.Ю.	77	Голенкина Е.А.	367, 368	Джуманиязова Э.Д.	110
Вирясова Г.М.	367, 368	Голиков М.	45	Джэппи Д.	74
Вишнякова П.А.	60, 98, 93, 95, 239, 291	Головин А.В.	167	Дзантиев Б.Б.	11
		Голубева О.Ю.	174	Дзариева Ф.М.	201
Владимиров Г.К.	432	Гольц В.А.	276	Дзугкоев С.Г.	317, 372
Власкина Е.Р.	409	Гончарова Е.П.	233	Дзугкоева Ф.С.	317, 372
Власова В.В.	146	Горбачева И.В.	127, 131	Дмитренко П.С.	427
Власова Л.Д.	129	Горбова А.В.	67	Дмитриев А.В.	158
Вознюк А.А.	403	Горбунов Н.П.	238, 369	Дмитриев С.Е.	94
Волкова А.А.	161, 165, 171	Горин Д.А.	406	Добаева Н.М.	365
		Горошинская И.А.	242	Доброхотов И.В.	224
Володин В.В.	107	Горудко И.В.	370	Долгарева С.А.	34
Володина Ю.Л.	264	Горшков М.В.	348	Доленко Т.А.	186
Володяев И.В.	432	Горячева И.Ю.	344	Долинная Н.Г.	430, 434
Волох О.И.	85	Горячева О.А.	344	Донцова О.А.	347
Волошин Н.С.	19, 106, 274	Градинарь М.М.	58	Дружкова И.Н.	268
		Грачев А.Н.	142	Друцкая М.С.	50, 51
Волошина Е.Д.	274	Гривцова Л.Ю.	30	Дубенская Н.А.	394
Волчков Е.В.	114	Григорьев Г.П.	407	Дугина В.А.	325
Вольхин Н.Н.	218, 310	Григорьев С.Н.	288	Дунаев А.Г.	92
Воробьева А.В.	148	Григорьева Д.В.	370	Дутова С.В.	24
Воронин К.А.	116	Григорьева Е.Р.	277	Дылева Ю.А.	21, 225
Воронина Т.А.	283	Гринькова Е.Я.	173	Дьяченко Е.И.	128
Воронова А.Д.	108	Гришин А.С.	237	Дьяченко И.А.	215
Воронцова М.В.	323	Гришин Д.А.	408	Дя Г.А.	75
Ворохобина Н.В.	321	Громенко Д.Д.	314	Дятлова Е.А.	430, 434
Вржещ П.В.	429	Громенко И.Д.	314	Евдолюк С.В.	318
Вьюшков В.С.	118, 240	Громова Е.В.	379	Евсеенков О.В.	175
Габдуллина К.Ф.	202	Грудинина Н.А.	243, 369	Евстигнеев М.П.	176
Гаврилюк Л.А.	126, 241	Груздева О.В.	21, 225	Егидарова Е.Ю.	243

Егоров А.Д.	9, 69, 100, 101, 102, 103, 104	Зверева С.Д.	340	Иомдина Е.Н.	49
Егорова А.В.	186	Звягина В.И.	136, 143, 199, 223	Исаева М.О.	269
Егорова Е.Н.	226	Згода В.Г.	347, 349, 350, 353	Исакова А.А.	268
Едемская Е.В.	410	Здерева П.С.	189	Итов А.Б.	116
Елесина Е.А.	74	Зеленова Э.Д.	178	Ишкаева Р.А.	207, 285
Елецкая Б.З.	203	Зелепуга Е.А.	427	Ишметова Д.В.	206
Елизарова А.Ю.	238	Зелинская И.А.	228	Ишмуратов Г.Ю.	206
Елисеев А.А.	16	Зельцер А.Г.	33	Кавиладзе М.Г.	260
Елисеева Д.Д.	96	Зельчан Р.В.	416	Каданцева Е.Я.	412
Елсукова Е.И.	52	Зендер М.М.	71, 281, 388	Казакова А.Н.	112, 115, 116
Ельчанинов А.В.	60, 98, 95, 97, 239	Зенкова М.А.	134, 233, 253, 261	Казакова Е.М.	248
Емельянова А.А.	278	Зеркаленкова Е.А.	112, 115, 116	Казакова Р.Р.	220
Емельянова М.А.	33	Зерний Е.Ю.	49	Казаров А.А.	20
Еноктаева О.В.	279	Зимилькина Д.Р.	282	Казимагомедова Э.Ш.	300
Ергешов А.А.	285	Зинченко О.В.	123	Казимиров П.В.	294
Ерещенко А.А.	130	Златник Е.Ю.	250	Казначеева Е.В.	277
Еримбетов К.Т.	205, 280	Золина Л.В.	319	Какурина Г.В.	245, 249
Ерлыкина Е.И.	415	Золотарева Е.И.	365	Калачева Е.А.	334
Ермаков А.М.	66	Золотов Н.Н.	283	Калашникова Д.А.	36
Ермаков И.М.	75	Зорина И.И.	315, 320	Калашникова И.В.	179
Ермаков С.С.	15	Зоркина Я.А.	33	Калдыбаева А.Б.	211
Ермакова Г.А.	141	Зоров Д.Б.	25, 27, 29	Калинин Р.Е.	23
Ермоленко Ю.В.	334	Зорова Л.Д.	25, 26, 27, 29	Калинина Е.В.	214, 264, 377
Ершов П.В.	427	Зотова Л.В.	379	Калинина И.И.	116
Есенина А.С.	269	Зубарева О.Е.	79	Калинина Н.И.	328
Есефьева Т.Ю.	336	Зубова А.В.	376	Калинина О.В.	22
Ефименко А.Ю.	99, 106	Зуйков С.А.	435	Калиновский А.П.	290
Ефимова А.А.	256	Зуков Р.А.	151	Калиновский Д.В.	265
Ефимова С.С.	302	Зыбина Н.Н.	151	Калугина В.В.	321
Ефремов Р.Г.	153, 419	Ибрагимов М.К.	113	Калужский Л.А.	427
Жарков Д.О.	430, 434	Иваненко Г.А.	123	Камалов М.И.	207
Жарнакова Ю.С.	111	Иванов А.	45	Камилов Ф.Х.	322
Жарова М.В.	139	Иванов А.В.	286	Каминская Л.А.	84
Жданов Д.Д.	96, 211, 264	Иванов А.М.	133	Кананыхина Е.Ю.	97
Жданова А.В.	373	Иванов А.С.	427	Кандалинцева Н.В.	270
Жданова О.Б.	135	Иванов И.А.	93	Каплиева И.В.	78, 242, 246, 326, 395
Жедяев Р.Ю.	349	Иванов М.	60	Капустин Р.В.	375
Жёлтиков А.М.	74	Иванов М.В.	348	Карабельский А.В.	102, 103
Жердев А.В.	11	Иванов С.М.	155, 159	Карагяур М.Н.	19, 106
Жернов Ю.В.	272	Иванова А.Д.	378	Карандашов И.В.	286
Жуденков К.В.	164	Иванова В.П.	284	Каримова А.О.	217
Жуков М.С.	90	Иванова Г.В.	322	Карлина И.С.	428
Жукова Е.С.	374	Иванова Е.А.	283	Карнаухова И.В.	86
Жур Н.В.	318	Иванова Е.С.	366	Карпенко М.Н.	73
Журавицкий П.О.	83	Иванова О.	45	Карпенко О.А.	33
Заболотнева А.А.	356	Иванова О.М.	236, 259, 266	Карпов А.А.	22
Заварзина Я.И.	154	Иванова Т.В.	387	Карпова С.Г.	195
Зайко О.А.	281, 388	Игнатов К.Б.	231	Карсунцева Е.К.	108
Зайцев А.В.	214	Игнатов С.Г.	185	Карташов В.В.	230
Зайцева С.В.	177	Игнатова Н.К.	129, 148	Каршиева С.Ш.	345, 178, 185, 194, 282, 341
Закирова Н.Ф.	286	Иконников А.В.	114	Карягина В. Е.	60, 239
Залозная И.В.	67, 375	Иконникова А.Ю.	33	Карягина-Жулина А.С.	177
Замай Г.С.	10, 417	Иксанова А.Г.	220	Касабов К.А.	35
Замай С.С.	12, 13, 417	Ильичева Е.Ю.	244	Катруха А.Г.	75, 221
Замай Т.Н.	10, 417	Ильясова К.Р.	112, 115	Катруха В.А.	63, 378
Замятнин А.А.	286	Имянитов Е.Н.	111	Кацуба К.Е.	173, 180
Захарова Г.С.	252			Качанов А.В.	107
Захарова М.В.	79				
Зверева М.Э.	430, 434				

Качесова П.С.	78, 242, 246	Кондашевская М.В.	35	Кубарева Е.А.	430, 434
Кашина А.В.	259	Кондрахин П.Ю.	62	Кубышин В.Л.	431
Каюмов А.Р.	220	Кондуракий А.А.	409	Кудан Е.В.	403
Кветкина А.Н.	287, 302	Конев А.С.	191	Кудрявцев А.А.	16
Кесаева Л.А.	139	Коновалова Д.Ю.	28	Кудрявцев Д.С.	93
Кибардин А.В.	265	Кононихин А.С.	272	Кудрявцев И.В.	238
Киенская К.И.	409	Константинова И.Д.	203	Кудрявцева С.С.	64
Килина О.Ю.	24	Контарева Е.Г.	333	Кудряшова Е.В.	401, 408
Киреев Б.В.	162	Конюхова А.С.	208	Кудряшова О.М.	65
Кирилина И.В.	357	Коптеева Е.В.	375	Кузнецов А.А.	255
Кириллов Н.А.	288	Копылов А.М.	201	Кузнецова В.С.	316
Кириченко Д.А.	417	Копылова С.В.	303, 307	Кузнецова Е.В.	183
Кириченко Е.В.	396	Кордюкова М.Ю.	65	Кузнецова О.Ю.	131, 138
Кириченко Е.Ю.	66	Корневский А.В.	375	Кузьмин В.А.	214
Киселева В.	98, 239	Коркунов Р.Ю.	324	Кузьмин С.В.	84
Кисляк И.А.	299	Корнилин Д.В.	28	Кузьмин Ю.Б.	142, 151
Кичемазова Н.В.	289	Корнякова В.В.	380	Кузьмина У.Ш.	147, 209
Кичкайло А.С.	12, 417	Королев В.А.	364, 381	Кукалия О.Н.	193
Клёсова Е.Ю.	311	Королев Д.В.	219, 410	Кулебякин К.Ю.	19, 274, 323, 328
Клименко Д.И.	53, 76	Королёва П.И.	14	Кулебякина М.А.	99, 106
Климович А.А.	287, 293	Королевская Л.Б.	146	Кулеш В.С.	168, 169
Клычников О.И.	99	Корольков А.И.	140	Кунах Е.А.	234
Ковалева И.В.	120	Короткова Н.В.	23	Куркин Т.С.	424
Ковалёва О.А.	272	Корсаков М.К.	218	Курмышев М.В.	33
Ковалева О.В.	142, 151	Коршунов Д.А.	249, 292	Курьяков В.Н.	184
Ковалева П.А.	178, 181, 196	Косинский Ю.А.	170	Кусков А.Н.	409
Коваленко Е.В.	85	Косова Е.В.	119	Кухарский М.С.	42
Коваленко Е.Н.	379	Костевич В.А.	238, 369	Кушлинский Н.Е.	142, 151
Коваленко Т.Ф.	247	Костин А.А.	30	Кушнаревич Н.Ю.	49
Ковтун О.Г.	248	Костромицкий Д.Н.	267	Кушнерев К.С.	409
Ковтун О.П.	84, 117	Костюк А.И.	63, 398	Лаврухин М.С.	109
Ковшова Т.С.	334, 336	Костюк Г.П.	33	Лагарькова М.А.	75, 259
Кожухов П.К.	182	Костюкова Е.В.	382	Лагунин А.А.	158
Козлов А.А.	53, 76	Костюшев Д.С.	107, 286	Лазарева О.А.	291
Козлов А.В.	127, 130	Костюшева А.П.	107, 286	Лактионов П.П.	36
Козлов К.С.	140	Косырева А.М.	98, 110	Лактюшкин В.С.	38
Козлов Н.А.	121	Котов И.С.	117	Ланин А.А.	63, 74, 392
Козлов С.А.	290	Котова Д.А.	378	Ланкин В.З.	224, 384
Козловская Э.П.	427	Котякова К.Ю.	185	Ларенков А.А.	402
Колесников Д.О.	277	Кочанова П.Д.	382	Ларин С.С.	265
Колесников Е.Н.	395	Кочеткова А.А.	88	Ларионова О.С.	109, 289
Колесников И.Е.	186	Кочкалда Ю.И.	123	Ларькина М.С.	416
Колесникова А.С.	90	Кочкина С.О.	151	Лашкин А.И.	266
Колесникова И.М.	358, 362	Кошечкин С.И.	85	Лебедев А.А.	276
Колесникова Л.И.	371	Кошманова А.А.	417	Лебедев П.А.	28
Колесникова М.А.	261	Кравцова Е.А.	113	Лебедев Е.Н.	86, 319
Колесникова О.А.	337	Краморенко Н.В.	354	Лебедева О.С.	75
Колесов Д.В.	291	Красильников С.Э.	263	Лебедь Т.Л.	318
Колмаков И.Г.	408	Краснобаева А.В.	325	Левада Е.В.	339
Коловская О.С.	13, 417	Краснов Г.	45	Леваков С.А.	144
Коломийцева Д.Ю.	18, 20	Краснов К.С.	268	Левченко А.А.	432
Колотьева Н.А.	54, 61, 127	Кривицкая А.В.	160	Левченко И.Н.	432
Колпаков Ф.А.	62, 166	Кривошеев А.С.	167	Леднев Е.М.	349, 350
Комарова Е.Ф.	250, 309	Кривошей А.В.	429	Лейченко Е.В.	215, 287, 293, 302
Комарова Е.Ю.	250	Криницына А.А.	119	Лелевич В.В.	57
Комарова М.В.	28	Кроленко Е.В.	359	Леонов С.В.	333
Комашко К.Ю.	323	Кропотова Е.С.	68	Леонова Е.	60
Комедчикова Е.Н.	337, 338	Крутецкая З.И.	295, 296	Лесовая Н.С.	78, 395
Комиссаров А.А.	190	Крутецкая Н.И.	296	Лизунов А.В.	276
Кондакова И.В.	245, 249, 267, 292	Кручинский Н.Г.	318	Липатов И.А.	90
		Крыльский Е.Д.	383, 396	Лисицын А.А.	321
		Крюков Д.О.	94		
		Крючков Н.П.	61		

Лисовская О.А.	42	Маринич Т.В.	318	Могулевцева Ю.А.	40
Литвинова Н.А.	18	Маркелов М.Л.	232, 234	Мозалёва А.С.	300
Литвинчук А.В.	37	Марков А.В.	233	Молчанов О.Е.	182, 187, 192, 193, 197, 216
Литвяков Н.В.	113	Марков О.В.	263	Монахова М.В.	430
Лобачева А.С.	140	Марсянова Ю.А.	136, 143, 223	Морина И.Ю.	316
Логашенко Е.Б.	251, 263	Мартусевич А.К.	39, 135, 351, 385	Морозкина С.Н.	210
Логвинович О.С.	37	Мартьянов А.С.	111	Морозова А.Ю.	33
Логинов В.И.	257	Мартюшова В.Г.	105	Морозова И.О.	33
Ломов Н.А.	118, 240	Марьясина С.С.	27	Морозова К.И.	63
Лохонина А.В.	95, 98, 110	Маслов И.В.	427	Морозова О.В.	41, 299
Лугинина А.П.	421	Масчан А.А.	116	Мосевичкий М.И.	68
Лужков В.Б.	156	Масчан М.А.	112, 114, 115, 116	Москвитина И.Е.	71, 281, 388
Лузан Н.А.	417	Матвеева И.В.	199	Московцев А.А.	217
Лукин А.Ю.	204	Матис М.Дж.	241	Моторжина А.В.	339
Лукина М.М.	236, 259, 266	Матяш Е.В.	15	Мочалова Е.Н.	259
Лукьяненко К.А.	10, 417	Матюшевская А.О.	414	Мощенко А.А.	63, 74
Лукьянов Д.А.	191	Махмедова А.Э.	294	Муравьев Г.С.	69
Лунёв А.С.	402	Мачнева И.В.	86	Мурин И.В.	193, 197
Лупатов А.Ю.	258	Мачулкин А.Э.	402, 416	Муронец В.И.	64, 70
Луппов Д.В.	252	Машкарина А.Н.	149	Мустафаева А.Р.	90
Лусс А.Л.	409	Медведева А.С.	230	Мухаметдинова Д.В.	228
Лушников А.А.	248	Медведева М.В.	256	Мухаметова Л.И.	433
Лысакова Е.В.	38	Медведева Н.А.	75, 221	Мухина И.Г.	301
Львов В.А.	196	Медяник И.А.	237	Мышковец Н.С.	37
Лямзаев К.Г.	368	Меерович Г.А.	282	Назаркина И.А.	44, 138
Лянгузов А.Ю.	133	Мезенцев А.В.	40	Назаров А.А.	188
Ляо С.	26	Мельников Д.О.	136, 143	Назаров В.В.	39, 385
Ляпина А.М.	289	Мельникова Н.Б.	415	Назаров И.Р.	73
Мавлютова Е.Б.	43	Мельницкая А.В.	295	Назимова С.В.	332
Магазенкова Д.Н.	244	Меньшов А.С.	215	Наточий И.О.	52
Магомедова Д.Р.	364	Меньщикова Е.Б.	386, 393	Науменко В.А.	411
Мазур Д.В.	144, 247, 260, 268	Меняйло М.Е.	114	Наумов Л.Л.	63
Мазур Е.С.	226	Меркель К.П.	360	Неборак Е.В.	43, 211
Мазуренко Н.Н.	121	Мерхер Ю.Б.	333	Недогреева О.А.	74
Майзель С.Г.	84	Мжаванадзе Н.Д.	23	Недопёкина Д.А.	209
Майстренко Д.Н.	182, 192, 193, 197, 216	Миколайчук О.В.	187, 192, 216	Недоспасов С.А.	50, 51
Макарец Ю.А.	185, 341	Миленина Л.С.	296	Нежкина Н.Н.	39
Макаров А.А.	56	Милова А.И.	381	Немашкалова Л.А.	78
Макарова Е.А.	282	Милютина Ю.П.	375	Немтарев А.В.	183, 207
Макарова Е.Л.	132	Минакова В.В.	297	Немцова М.В.	119
Макарова Е.С.	288	Минская Е.С.	102	Непчелина В.П.	413
Макарова М.В.	119	Миронов А.Ф.	203	Нескубина И.В.	326, 395
Макеева А.В.	227	Миронова К.А.	137	Нешев Н.И.	394
Маклецова М.Г.	66	Миронова Н.Л.	253	Низамов И.С.	285
Максимов Д.А.	36	Мирошниченко Е.	98	Никитин А.А.	196
Малеваная Е.В.	321	Мирошниченко С.К.	254	Никитин М.П.	259
Малек А.В.	173, 180	Мирхамидова Ф.	363	Никитина Е.В.	220
Малиновская Ю.А.	334, 336	Мисюрин А.В.	139	Никитина Н.А.	211
Малмакова А.Ю.	211	Митусова К.А.	414	Никитина О.А.	371
Малоголовкин А.С.	103	Митькевич В.А.	56	Никитич А.А.	162, 165
Малыгина Н.М.	133	Михайлов А.В.	387	Никифоров А.И.	212, 410
Мальцев Д.И.	74	Михайлова А.А.	162	Николаев А.А.	43
Мамедли З.З.	151	Михайлова Д.М.	251	Николаев Е.Н.	272
Мамедов А.Т.	95	Михайлова М.Е.	298	Николаева Е.Д.	417
Манаева В.П.	387	Михель А.В.	67	Николенко М.В.	279
Манжуло И.В.	27	Мишин А.В.	421, 424	Никулин М.П.	121
Манских В.Н.	27	Мишина А.В.	217	Нишанбаев С.	363
Маньшина А.А.	186	Мишина А.Е.	164	Новиков Т.М.	71, 281, 388
Маргиева О.И.	317, 372	Мищенко Д.В.	270	Новиков Ф.Н.	152

Новикова И.А.	250	Перегуд Д.И.	140	Постников А.Б.	75, 426
Новикова С.В.	54, 61, 376	Перетягин П.В.	46	Поташникова Д.М.	27
Новикова С.Е.	353	Пермикин Ж.В.	117	Походня Ю.Г.	308
Новичкова Г.А.	116	Пермяков С.Е.	49	Почечуев М.С.	63
Новичкова М.Д.	377	Пермякова Е.С.	185, 341,	Прайменко Н.А.	287
Нодель М.Р.	42		345, 405	Примак А.Л.	106
Норио Мийоши	214	Песков К.В.	161, 162,	Принс М.	241
Носова А.Е.	63		163, 164,	Приходько И.В.	15
Нохрина Е.С.	117		165, 168,	Прищеп П.Л.	142
Нуриева Э.Р.	206		169, 170,	Пронин И.Н.	201
Обвинцева О.В.	280		171	Пронина В.В.	17
Обернихин С.С.	313, 332	Пестерева Н.С.	73	Пронина И.В.	257
Обозина А.С.	340	Петров С.А.	407, 416	Протас А.В.	187, 192,
Обухова Л.М.	237	Петров С.Ю.	49		216
Овсенева М.И.	169	Петрова А.В.	255	Прохорова Ж.В.	371
Овсепян А.А.	20	Петрова А.С.	214, 264	Процветкина А.В.	116
Оганесян О.Г.	49	Петрова Е.С.	386, 393	Прудникова В.Н.	303
Оглодина Д.А.	109	Петрова Т.А.	133	Пряхин А.В.	297
Оглодина Д.Г.	289	Петросова К.А.	402	Пряхин Е.Е.	414
Одарченко Т.С.	435	Петросян Э.Г.	144, 260	Психа Б.Л.	394
Олейник А.С.	386, 393	Петрунина Н.А.	63	Пугачев М.В.	220
Олейник С.А.	396	Петрушанко И.Ю.	56	Пустовалова М.В.	333
Ольхов А.А.	195	Петухов С.С.	310	Пучкова Л.В.	244
Ольшанская Ю.В.	112, 115,	Печальнова А.С.	320	Пыльчикова Ю.Ю.	273
	116	Пилип А.Г.	186	Разуваев Г.А.	383
Ольшевская В.А.	214	Писаренко О.И.	224	Райцев С.Н.	136, 143
Орлова М.А.	349	Плевако Д.С.	173, 412	Резекина А.И.	144, 260
Орлова Е.А.	39	Плегунова С.В.	190	Решетин Д.С.	277
Осипов Я.О.	36	Плетюшкина О.Ю.	368	Решетов И.В.	108
Осипова Н.Г.	33	Плосконос М.В.	43, 211	Ригер Т.О.	117
Осипович М.А.	139	Плотников Е.Ю.	25, 26, 27,	Рижиков Ю.Л.	423
Осмаков Д.И.	290		29	Рогинская А.И.	79
Осминкина Л.А.	16	Плотников Е.В.	416	Рогов А.В.	400
Оспельникова Т.П.	41, 299	Поволоцкий А.В.	191	Рогожин Д.В.	142
Островский В.А.	192	Погодин П.В.	157	Рогожин Е.А.	304
Остроумова О.С.	302	Погорелова Ю.А.	78, 242,	Родионова В.В.	339
Охрименко И.С.	422		246, 395	Родькин С.В.	66
Очнева А.Г.	33	Подгорный О.В.	74	Розанова Н.А.	54, 376
Павелкина В.Ф.	379	Подъячева Е.Ю.	228	Розов А.В.	74
Павленко А.П.	302	Позднякова М.А.	374	Романов С.Е.	36
Павленко Т.А.	42, 48	Поздышев Д.В.	256	Романова И.В.	316
Павлов К.А.	33, 140	Позиллов М.К.	363	Романова Ю.М.	367, 368
Павлова Г.В.	201	Покладюк А.Ю.	170	Романыхчева А.А.	217
Павлова О.В.	140	Покровский В.С.	195, 239,	Ромах Л.П.	386, 393
Павлович С.В.	258		299	Рубцов М.А.	118, 240
Павлятенко И.В.	326	Поливанова А.Г.	413	Рудик А.В.	158
Пак В.А.	123	Полищев Д.Е.	36	Румянцев С.А.	357, 358,
Панасенко О.М.	370, 389	Полонилов А.В.	311		359, 362
Панина Л.В.	339	Поляков И.В.	160	Руцкова Т.А.	427
Панкратов В.С.	432	Помыткин И.А.	390	Рыбцов С.А.	38
Панькин Д.В.	186	Пономарев А.И.	117	Рыбчинская Э.Е.	145
Папонов Б.В.	189, 198	Пономарева Н.И.	107, 286	Рычкова Л.В.	371
Парамонова П.С.	213	Попкова Д.В.	215, 287	Рябинин И.А.	352
Парнова Р.Г.	72	Попов В.С.	328	Саакян С.В.	342
Парфенова Л.В.	202	Попов Д.В.	349, 350	Саатов Т.С.	327
Патутина О.А.	254	Попов К.А.	141	Сабанцев М.О.	102
Пахалкова Е.В.	128	Попова Е.А.	187, 192	Савилов В.Б.	33
Пацаев Т.Д.	179	Попова О.В.	387	Савин И.А.	233, 253
Пацап О.И.	65	Попова Т.Н.	383, 396	Савицкая В.Ю.	430, 434
Пашковская О.А.	251	Попова Е.А.	216	Савченко Е.А.	201
Певзнер И.Б.	25, 26, 27,	Поповичева А.Н.	351	Сагайдак О.В.	119
	29	Поройков В.В.	155, 158	Сагакянц А.Б.	250
Первушин Н.В.	16	Поспелова Т.И.	261	Садова А.А.	424

Садовничий В.В.	431	Симкин И.В.	61	Степаничев М.Ю.	74
Садовская Я.О.	218	Симонова М.А.	203	Степанова О.В.	108, 178
Сайдакова Е.В.	146	Синицкий А.И.	32	Степовая Е.А.	399
Саидова А.А.	27	Синцова О.В.	215, 287	Стилиди И.С.	121
Салахиева Д.В.	183, 207	Синяговская Т.В.	107	Стрельник А.Д.	329
Салмина А.Б.	376	Сироткина А.А.	18, 20	Стрелева О.В.	117
Самойлова Е.А.	263	Складнев Д.А.	342	Струшкевич Н.В.	427
Самойлова Е.М.	36	Скобелева К.В.	277	Студнева И.М.	224
Самохин Н.В.	90	Скоморохова Е.А.	244	Суворов А.Н.	243
Санина Н.А.	208, 305	Скуреева А.А.	401, 408	Судакова Е.А.	223
Сапожников С.В.	220	Слынько Е.Е.	139	Судьина Г.Ф.	367, 368
Саранчина Ю.В.	24	Смирнов И.П.	350	Супонин А.А.	53, 76
Саратовских Е.А.	305	Смирнова И.П.	126	Сурикова Е.И.	78, 395
Сардушкин М.В.	409	Смирнова О.	45	Сусова О.Ю.	282
Сарыгина Е.В.	119	Смирнова О.В.	229	Сухачёв В.С.	155, 159
Сарыглар Р.Ю.	194, 258	Смирнова О.Д.	179	Сучков И.А.	23
Сафенкова И.В.	11	Смирнова Ю.Д.	247	Сучкова О.Н.	382, 420
Сафронова Н.А.	424	Снежкина А.	45	Сюняков Т.С.	33
Сашенкова Т.Е.	270	Снежко А.В.	395	Сяткин С.П.	211
Сваровский Д.А.	267	Снежкова Ю.В.	228	Сяхович В.Э.	308
Светличный В.А.	13	Снетков П.С.	210	Талышев В.А.	251, 263
Свирина Е.А.	259	Снигирева Е.Д.	229	Тарасова И.А.	348
Свищевская Е.В.	265	Сныга В.Г.	430, 434	Татарникова И.С.	251, 263
Седых С.Е.	105	Собина И.О.	16	Татарский В.В.	214, 264
Сексте Э.А.	276	Соболева А.Г.	92, 98	Теребилина Н.Н.	140
Селезнева И.А.	44, 138	Соколов А.В.	238, 243, 369, 370	Терехин Г.А.	47
Селиверстов А.Н.	237	Соколов В.В.	162, 166, 171	Терехина Н.А.	47, 132, 312
Селин А.Д.	47	Соколов И.А.	25	Тиманн М.	30
Семашкова Е.А.	129	Соколов Р.А.	74	Тимофеева А.М.	105
Семёнов К.Н.	187, 192, 213, 182, 193, 197, 198, 216	Соколова А.Н.	189	Тимохина Е.П.	332
Семёнов С.Д.	272	Соколова Е.М.	394	Тимошин А.А.	224
Семенова Е.А.	15	Соколова Ю.О.	53, 76	Тихазе А.К.	384
Семенова М.Г.	82	Соколовская С.В.	39	Тиханович А.В.	110
Семенова Н.В.	371	Солдаткина О.И.	112, 115, 116	Тихонов А.С.	107
Семенова Н.Ю.	228	Солнцева А.А.	326	Тихонова О.В.	353
Семенович Д.С.	26	Соловьева А.Г.	46, 385, 415	Ткачук В.А.	106, 328
Семерикова Т.В.	104	Соловьева Е.В.	191	Томилова А.О.	350
Семьянов А.В.	63	Соловьева М.А.	306	Торопова Я.Г.	228
Сенатов Ф.С.	177	Соловьева Н.А.	353	Трактиров Д.С.	73
Сенатов Ф.С.	178, 181, 194, 196	Соловьева О.Н.	278, 428	Трепятики Л.К.	78, 242, 246, 326, 395
Сенин И.И.	49, 391, 397	Соловьёва К.П.	33	Третьякова М.С.	416
Сенькова А.В.	233, 253, 261	Солопова О.Н.	217	Трофимов Ю.А.	419
Сергеева А.Д.	63, 392	Солотёнков М.А.	74	Трусов Н.В.	89
Сергиев П.В.	347	Соляникова И.П.	348	Трухачева Д.Ю.	194
Серебрякова Л.И.	224	Сопова Ю.	60	Тужилкин А.Н.	39, 135
Серебряная Д.В.	75, 221, 227, 229, 426	Сорокин В.В.	342	Туркин А.В.	20
Середа Е.Е.	245, 249	Сорокин М.И.	252	Турсунова Ю.Д.	365
Серых А.Е.	386, 393	Сорокина М.А.	65	Тутунарь А.Н.	396
Сиденко Е.А.	249, 262	Сорокина У.Е.	145	Тухватуллин А.В.	147
Сидоренко Д.А.	275	Сосновцева А.О.	343	Тырина Е.А.	275
Сидорова М.В.	224	Спивак А.Ю.	209	Тышковский А.Э.	94
Сидорова О.П.	278, 428	Спирина Л.В.	120	Тюлина В.В.	49, 397
Сидорова Ю.С.	88	Спудулите В.Г.	234	Тюрин-Кузьмин П.А.	16, 328
Сизиков А.А.	340	Стальнова Д.	60	Тяглик А.Б.	63
Силачев Д.	60	Старателева Ю.А.	307	Угольников Я.А.	161, 171
		Стасюк Е.С.	416	Угрюмов М.В.	42
		Стельмах К.Д.	203	Уколов А.И.	123
		Стельмашук О.А.	77	Уланова П.В.	119
		Степаненко А.А.	108, 343	Уразов Д.О.	64
				Урядова Г.Т.	289

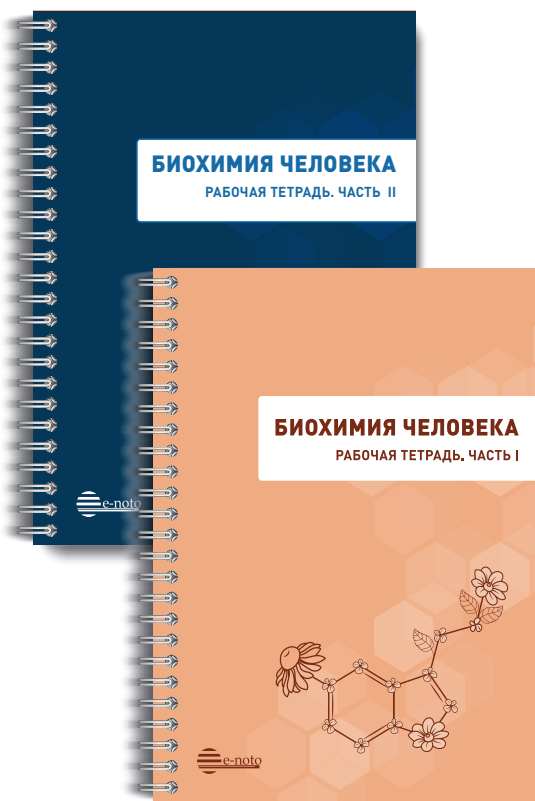
Урясьев О.М.	223	Цаур Г.А.	117, 122	Шатрова Ю.М.	32, 150
Усачёв В.А.	323	Цветков И.	98	Шафигуллина З.Р.	321
Усачев К.С.	304	Цвиренко С.В.	117	Шахмурова Г.А.	363
Усачев М.А.	364, 381	Цейликман В.Э.	90	Шахпаронов М.И.	247
Успенская М.В.	210	Цейликман Д.-М.В.	90	Шахристова Е.В.	399
Учасова Е.Г.	21	Цейликман О.Б.	90	Шварц А.П.	79
Учасова Е.Г.	225	Цикуниб А.Д.	91	Швырёв Д.А.	246
Учеваткина А.Е.	352	Цопина А.С.	74	Шебардина Н.Г.	49
Ушакова В.М.	33	Цыбрук Т.В.	427	Шевелева М.П.	49
Фадеев Р.С.	268	Цыганов М.М.	113, 120	Шевцов М.Б.	424
Фарафонова Т.Е.	353	Цыганова И.В.	121	Шевченко А.Н.	242, 246
Фатхудинов Т.Х.	60, 95, 98, 239	Цюпка Д.В.	344	Шевченко Н.А.	309
Фатхуллин Р.Ф.	361	Чадин А.В.	108, 178	Шевченко Н.В.	126
Фатькина Н.Б.	326	Чеваненко В.В.	63, 398	Шейн В.Е.	227, 229
Фафанова Е.М.	329	Чеботарев А.С.	63, 392	Шейнова А.Д.	50
Федорова В.А.	109, 289	Чекини Д.А.	119	Шемчук О.С.	198, 306
Фёдорова Е.И.	413	Чередник М.К.	373	Шендер В.О.	26, 236, 255, 259
Федорова О.И.	129, 148	Черемисина О.В.	245, 267	Шенкман Б.С.	275
Федоровский А.П.	19	Черемных А.И.	181, 196	Шестакова М.В.	350
Федорос Е.И.	272	Черкесова К.С.	26	Шестопалов А.В.	355, 357, 358, 359, 360, 362
Федосеева Е.Д.	33	Черненко Е.Е.	320	Шетнев А.А.	218
Федотов А.Б.	63, 74	Чернов Н.Н.	377	Шеферов И.А.	415
Федотов И.В.	63, 74	Черногубова Е.А.	149	Шикарева Н.Н.	42
Федотова А.А.	63	Черных И.В.	58	Шиндяпин В.В.	51
Федотовская В.Д.	417	Чернышева А.А.	343	Шипелин В.А.	89
Федулова Л.В.	82	Черняк Б.В.	368	Шипулин Г.А.	232, 234, 235
Фелькер Е.В.	364, 381	Чертova Р.Ю.	364, 381	Шипунова В.О.	337, 338, 340, 346
Фечина Л.Г.	117	Черярина Н.Д.	326	Широкова А.А.	61
Филатенкова Т.А.	243	Чеснокова Н.Б.	42, 48	Шитикова А.М.	199
Филатова А.А.	253	Четверикова Е.А.	122	Шишкина В.С.	108
Филимонов Д.А.	158	Чехонин В.П.	108, 343	Шишпарёнок А.Н.	96
Филина М.Н.	247	Чечехин В.И.	328	Шлихт А.Г.	354
Филиппаки И.В.	435	Чечехина Е.С.	106	Шнайдер П.В.	236, 255, 259, 266
Филиппова Л.В.	352	Чечушков А.В.	386	Шонина А.К.	90
Филиппова М.А.	33	Чиглинцева Д.А.	254	Шошина О.О.	85
Филонов В.Л.	436	Чижевская С.Ю.	120	Шпаков А.О.	315, 316, 320, 330, 331
Финашутина Ю.П.	139	Чистяков Д.В.	49	Шпаков А.В.	349
Фокина М.А.	55	Чойнзонов Е.Л.	245, 249	Шпакова Е.А.	331
Франциянц Е.М.	78, 246, 326, 395	Чувпило С.А.	38, 102	Штанский Д.В.	185, 341, 405
Фролова А.С.	286	Чугунов А.О.	154	Штиль А.А.	214, 264
Фролова Е.В.	352	Чугунова Е.В.	371	Штырлин Н.В.	220
Фурса Г.А.	108, 178	Чуланов В.П.	107, 286	Штырлин Ю.Г.	220, 329
Хазиев Р.М.	220	Чумаков С.П.	232	Шульмейстер Г.А.	212
Халиулин А.В.	373	Чупрынин В.Д.	258	Шумеев А.Н.	38
Хан И.И.	195, 239	Шабалина А.В.	13	Шумило М.В.	219
Хан О.И.	195	Шабанов П.Д.	276	Шумянцева В.В.	14, 17
Харисова А.Р.	79	Шагимарданова Е.И.	65	Шуриберко А.В.	124
Хасан А.Ш.	264	Шайбакова Ю.Д.	345, 405	Щелчкова Н.А.	237
Ходонов А.А.	204	Шаймарданов А.Т.	322	Щербатюк Т.Г.	374
Хозяинова А.А.	114	Шакарян Э.Г.	395	Щербицкая А.Д.	67
Холоденко И.В.	265	Шамова О.В.	174	Щулькин А.В.	58, 269, 382, 420
Холоденко Р.В.	265	Шамшурин М.В.	90	Эпиташвили А.Е.	90
Хомутов А.Р.	436	Шарапов М.Г.	384	Эсметьева М.В.	285
Храмеева Е.Е.	94	Шарапова Н.В.	319		
Храмова Ю.В.	63, 392, 378, 398	Шарло К.А.	275		
Храпова М.В.	386, 393	Шаройко В.В.	182, 187, 192, 193, 197, 198, 213, 216		
Хренова М.Г.	160	Шаронов Д.С.	123		
Хубулова А.Е.	317	Шаронова Т.В.	180		
Худина Е.А.	344	Шатилов В.А.	90		
Царева В.В.	32	Шатова О.П.	362		

Ю К.Ю.	211
Югай В.В.	121
Юнусова Н.В.	249, 267
Юрова М.Н.	272
Юрченко Т.С.	20
Юсубалиева Г.М.	51
Юсубов М.С.	416
Юсупова З.Ш.	400
Юшков А.В.	200
Яблоков Е.О.	427
Яглов В.В.	332
Яглова Н.В.	313, 332
Ягодкина К.А.	148
Яголович А.В.	268
Яичков И.И.	310
Яковлев Е.В.	61
Яковлева И.И.	53, 76
Якуненков А.В.	52
Якунина Е.Ю.	151
Якупова Э.И.	26, 350
Якушева Е.Н.	58, 269, 382, 420
Январев Д.	45
Ярыгин К.Н.	258
Ячменева Л.А.	381
Яшин К.С.	237



Основы биохимии. Второе издание, переработанное и дополненное. Учебное пособие для студентов медицинских вузов / под ред. Н.Н. Чернова, В.С. Покровского. — М.: Е-нот, 2024. — 392 с. — ISBN 978-5-906023-38-4

Основы биохимии — учебное пособие, цель которого состоит в том, чтобы сделать изучение биохимии более лёгким и структурировать знания студентов при подготовке к коллоквиумам и экзаменам. Второе издание существенно переработано и дополнено новыми разделами: «Пути передачи сигнала в клетке», «Клеточные мембраны», «Окислительный стресс». Другие разделы стали более точными и наглядными. Учебное пособие предназначено для студентов и преподавателей химических, биологических и медицинских вузов, биохимиков, биологов, медиков, а также широкого круга читателей, интересующихся биохимией. Оно станет для студента незаменимым помощником благодаря лаконичной структуре изложения и удобной «навигации».



Биохимия человека. Рабочая тетрадь. Ч. II.: учебное пособие для студентов, обучающихся по специальности «Лечебное дело» / О.М. Кузнецова, В.И. Иванова-Радкевич, В.С. Покровский. — М.: Е-нот, 2023. — 256 с. — ISBN 978-5-906023-37-7

Биохимия человека. Рабочая тетрадь. Ч. I.: учебное пособие для студентов, обучающихся по специальности «Лечебное дело» / О.М. Кузнецова, В.И. Иванова-Радкевич, В.С. Покровский. — М.: Е-нот, 2023. — 228 с. — ISBN 978-5-906023-31-5



Биохимия человека. Обмен углеводов.
Учебное пособие / В.С. Покровский. — М.:
Е-нота, 2022. — 360 с. — ISBN 978-5-906023-
32-2.

- Углеводы: строение и функции
- Переваривание углеводов
- Трансмембранный транспорт моносахаридов
- Гликолиз
- Глюконеогенез
- Пентозофосфатный путь
- Синтез гликогена
- Распад гликогена
- Обмен фруктозы
- Обмен галактозы
- Обмен гликозаминогликанов
- Гликозилирование белков
- Клинико-биохимические аспекты патогенеза, диагностики и лечения сахарного диабета



Биохимия человека. Обмен липидов.
Учебное пособие / В.С. Покровский. — М.:
Е-нота, 2023. — 496 с. — ISBN 978-5-906023-
34-6

- Строение и функции липидов
- Переваривание липидов
- Транспорт липидов в кровотоке
- Синтез триацилглицеролов
- Липолиз
- Синтез жирных кислот
- Окисление жирных кислот
- Обмен кетоновых тел
- Метаболизм холестерина
- Стероидные гормоны
- Обмен желчных кислот
- Жирорастворимые витамины
- Перекисное окисление липидов
- Эйкозаноиды
- Обмен глицерофосфолипидов
- Обмен сфинголипидов
- Ожирение: клинико-биохимические аспекты

Материалы конференции
«Биохимия человека 2024»

Под общей редакцией В.С. Покровского.

Технический редактор *А.В. Сардушкина*
Редактор канд. биол. наук *М.Э. Суханова*
Компьютерная верстка *Д.Ю. Жантурина*
Оформление обложки *Д.Ю. Жантурина*

Подписано в печать 00.00.2024. Формат 70x100 1/16
Бумага офсетная. Печать офсетная. Объём 36,4 усл. печ. л.
Тираж 500 экз. Заказ № 2680

ООО «Е-ното»
142103, Московская обл., г. Подольск,
ул. Бронницкая, д. 14, ком. 29
Тел.: (495) 643 02 49
e-mail: info.enoto@gmail.com
www.e-noto.ru

Отпечатано в АО «ИПК «Чувашия»
428019, г. Чебоксары, пр. И. Яковлева, 13

ISBN 978-5-906023-40-7



Вдохновляем
на научные
открытия!



SkyGen

8(800)333-12-26 sales@skygen.com



