



БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ  
ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ И КЛЕТОЧНОЙ ИНЖЕНЕРИИ НАН БЕЛАРУСИ  
БЕЛОРУССКОЕ ОБЩЕСТВЕННОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ  
ФОТОБИОЛОГОВ И БИОФИЗИКОВ

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ, МЕМБРАННЫЕ  
И КЛЕТОЧНЫЕ ОСНОВЫ  
ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ БИОСИСТЕМ**

**К 100-летию белорусской академической науки**

**Тезисы докладов  
международной научной конференции,  
Пятнадцатого съезда Белорусского общественного  
объединения фотобиологов и биофизиков**

**Республика Беларусь, Минск, 15–17 июня 2022 г.**

Научное электронное издание

Минск, БГУ, 2022

ISBN 978-985-881-415-1

© БГУ, 2022

УДК 557.3(06)  
ББК 28.071я431

**Редакционная коллегия:**

доктор биологических наук, профессор, академик НАН Беларуси *И. Д. Волотовский* (гл. ред.);  
доктор биологических наук, профессор,  
член-корреспондент НАН Беларуси *Е. И. Слобожанина*;  
доктор биологических наук, профессор,  
член-корреспондент НАН Беларуси *Л. Ф. Кабашикова*;  
доктор биологических наук, профессор *Н. Г. Аверина*;  
доктор биологических наук *В. Г. Вересов*;  
доктор биологических наук, доцент *Г. Г. Мартинович*;  
доктор биологических наук, доцент *Д. Г. Щербин*;  
кандидат биологических наук *А. В. Вчерашня*;  
кандидат медицинских наук *А. Е. Гончаров*;  
кандидат биологических наук *Н. В. Козел*;  
кандидат биологических наук *Л. М. Лукьяненко*;  
кандидат биологических наук *А. Г. Полешко*;  
кандидат физико-математических наук *А. И. Хмельницкий*;  
кандидат биологических наук *Е. В. Шамова*;  
*В. М. Абашкин*

**Рецензент**

доктор биологических наук, профессор, академик НАН Беларуси *И. Д. Волотовский*

**Молекулярные**, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем. К 100-летию белорусской академической науки [Электронный ресурс] : тез. докл. междунар. науч. конф., Пятнадцатого съезда Белорус. обществ. об-ния фотобиологов и биофизиков, Респ. Беларусь, Минск, 15–17 июня 2022 г. / Белорус. гос. ун-т ; редкол.: И. Д. Волотовский (гл. ред.) [и др.]. – Минск : БГУ, 2022. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM). – ISBN 978-985-881-415-1.

Представлены тезисы докладов международной научной конференции «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем» и Пятнадцатого съезда Белорусского общественного объединения фотобиологов и биофизиков.

Организаторами конференции и съезда выступили Белорусский государственный университет, Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Белорусское общественное объединение фотобиологов и биофизиков.

---

**Минимальные системные требования:**

PC, Pentium 4 или выше; RAM 1 Гб; Windows XP/7/10; Adobe Acrobat.

Оригинал-макет подготовлен в программе Microsoft Word.

На русском, белорусском и английском языках

В авторской редакции

Ответственный за выпуск *О. Д. Бичан*

Подписано к использованию 02.06.2022. Объем 3,0 МБ.

Белорусский государственный университет. Управление редакционно-издательской работы.  
Пр. Независимости, 4, 220030, Минск. Телефон: (017) 259-70-70. email: urir@bsu.by  
<http://elib.bsu.by/>

## ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ

<i>Председатель</i> Волоотовский И.Д.	д.б.н., проф., академик НАН Беларуси
<i>Зам. председателя</i> Мартинович Г.Г.	д.б.н., доцент
<i>Члены программного комитета:</i>	
Аверина Н.Г.	д.б.н., проф., Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (Минск, Беларусь)
Брышевская М.	д.б.н., проф., Университет г. Лодзь. (Лодзь, Польша)
Вересов В.Г.	д.б.н., Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (Минск, Беларусь)
Гончаров А.Е.	к.м.н., доцент, Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (Минск, Беларусь)
Гримм Б.	д-р естественных наук, проф., Институт биологии Университета им. Гумбольдта (Берлин, Германия)
Гусейнов Т.М.	д.б.н., проф., Институт биофизики НАН Азербайджана (Баку, Азербайджан)
Демидчик В.В.	д.б.н., член-корр. НАН Беларуси, БГУ (Минск, Беларусь)
Джагаров Б.М.	д.ф.-м.н., проф., Институт физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси (Минск, Беларусь)
Золотарева Е.К.	д.б.н., проф., Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины (Киев, Украина)
Кабашникова Л.Ф.	д.б.н., член-корр. НАН Беларуси, Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (Минск, Беларусь)
Красновский А.А.	д.б.н., проф., ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН (Москва, Россия)
Панасенко О.М.	д.б.н., проф., ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА России (Москва, Россия)
Осипов А.Н.	д.б.н., проф., член-корр. РАН, МБФ РНИМУ им. Н.И. Пирогова (Москва, Россия)
Решетников В.Н.	д.б.н., проф., академик НАН Беларуси, Центральный ботанический сад НАН Беларуси (Минск, Беларусь)
Рубин А.Б.	д.б.н., проф., член-корр. РАН, МГУ им. Ломоносова (Москва, Россия)
Слобожанина Е.И.	д.б.н., проф., член-корр. НАН Беларуси, Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (Минск, Беларусь)
Тарчевский И.А.	д.б.н., проф., академик РАН, Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН (Казань, Россия)
Твердислов В.А.	д.ф.-м.н., проф., МГУ им. Ломоносова (Москва, Россия)
Фесенко Е.Е.	д.б.н., проф., член-корр. РАН, Институт биофизики клетки РАН (Пушино, Россия)
Шалыго Н.В.	д.б.н., член-корр. НАН Беларуси, БГМУ (Минск, Беларусь)
Щербин Д.Г.	д.б.н., Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (Минск, Беларусь)

# СОДЕРЖАНИЕ

## ФОТОСИНТЕЗ И ФОТОБИОЛОГИЯ

- Khanishova M.A., Tagiyeva K.R., Azizov I.V.** EFFECT OF NaCl ON PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF WHEAT AND MAIZE GENOTYPES ..... 19
- Sadigova K.A., Gulizade S.F.** PHENOLOGY AND APPLICATION OF *MACLURA AURANTIACA* NUTT. SPECIES IN ABSHERON CONDITIONS ..... 20
- Бажин А.С., Нарушко М.В., Субботин А.М., Мальчевский В.А., Симонова Е.О.** ФОТОСИНТЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ОВСА ПОСЕВНОГО НА РЕКУЛЬТИВИРОВАННЫХ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ЗАБОЛОЧЕННЫХ ПОЧВАХ..... 21
- Братенкова В.А., Мартынов А.А., Боме Н.А., Колоколова Н.Н.** РЕАКЦИЯ ГЕНОТИПОВ *TRITICUM AESTIVUM* L. НА ОБРАБОТКУ СЕМЯН НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА ПО НАКОПЛЕНИЮ И ДЕГРАДАЦИИ ХЛОРОФИЛЛА В ЛИСТЯХ ..... 22
- Вершиловская И.В., Гладков Л.Л., Клеицкий Д.В., Маес В., Крук Н.Н.** АРОМАТИЧНОСТЬ СВОБОДНЫХ ОСНОВАНИЙ КОРРОЛОВ В НИЖНЕМ ТРИПЛЕТНОМ T1 СОСТОЯНИИ..... 23
- Вершиловская И.В., Клеицкий Д.В., Крук Н.Н., Гладков Л.Л., Маес В.** ВЛИЯНИЕ АРОМАТИЧНОСТИ НА NH-ТАУТОМЕРНОЕ РАВНОВЕСИЕ В СВОБОДНЫХ ОСНОВАНИЯХ КОРРОЛОВ ..... 24
- Вечтомова Ю.Л., Телегина Т.А., Нехорошев М.В., Геворгиз Р.Г., Крицкий М.С.** ХАРАКТЕРИСТИКА КАРОТИНОИДОВ ТИЛАКОИДНЫХ МЕМБРАН ЦИАНОБАКТЕРИИ *ARTHROSPIRA PLATENSIS*..... 25
- Викс Т.Н., Кабашникова Л.Ф.** ВЛИЯНИЕ ГРИБА *BIPOLARIS SOROKINIANA* SACC. (ШОЕМ.) НА КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ ПАРАМЕТРАМИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ХЛОРОПЛАСТОВ И ОКСИДЛИТЕЛЬНОГО СТАТУСА У ПРОРОСТКОВ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ ..... 26
- Ибрагимова У.Ф.** ВЛИЯНИЕ СОЛЕВОГО СТРЕССА НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГЕНОТИПОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ..... 27
- Ивашин Н.В., Терехов С.Н.** СПЕКТРЫ РЕЗОНАНСНОГО КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ И СТРУКТУРА Ni-КОМПЛЕКСОВ РЯДА ПОРФИРИНОВ В ОСНОВНОМ И В ФОТОВОЗБУЖДЕННЫХ СОСТОЯНИЯХ ..... 28
- Ивашин Н.В.** МЕХАНИЗМ ЗАВИСИМОСТИ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ СВОЙСТВ ТЕТРААРИЛТЕТРАЦИАНОПОРФИРАЗИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ ОТ ВЯЗКОСТИ 29
- Ильючик И.А., Никандров В.Н.** ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ *CHLORELLA VULGARIS* ПРИ ДОБАВЛЕНИИ  $MnCl_2$  В ПИТАТЕЛЬНУЮ СРЕДУ ..... 30

<b>Кабачевская Е.М., Суховеева С.В., Трофимов Ю.В., Баркун М.Ю.</b> ВЛИЯНИЕ СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА СВЕТОДИОДНЫХ ЛАМП НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ, МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАСТЕНИЙ БАЗИЛИКА, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ФЕНИЛПРОПАНОИДНЫМ МЕТАБОЛИЗМОМ.....	31
<b>Кабашникова Л.Ф.</b> ПРИРОДНЫЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СОЕДИНЕНИЯ: МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ НА РАСТЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ В АГРОТЕХНОЛОГИЯХ.....	32
<b>Козел Н.В., Медведева Е.И., Ковальчук В.А., Самович Т.В.</b> ФОТОХИМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ФОТОСИСТЕМ В КЛЕТКАХ <i>HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS</i> ПРИ ДЕЙСТВИИ СВЕТА ВЫСОКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ.....	33
<b>Курьянчик Т.Г., Козел Н.В.</b> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -НЕЗАВИСИМЫЙ МЕХАНИЗМ ИНДУКЦИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ЛИСТЯХ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ.....	34
<b>Лазнев К.В., Авдеева Е.В., Игнатович Я.С.</b> 3D МОДЕЛИ НА ОСНОВЕ АЛЬГИНОВОЙ КИСЛОТЫ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ <i>CHLORELLA VULGARIS</i> .....	35
<b>Неверов К.В., Обухов Ю.Н., Малеева Ю.В., Крицкий М.С.</b> ДИМЕР ХЛОРОФИЛЛА В БЕЛКАХ СЕМЕЙСТВА WSCP –ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОР ОКИСЛЕНИЯ ДОНОРОВ ЭЛЕКТРОНА.....	36
<b>Плавский В.Ю., Дудинова О.Н., Плавская Л.Г., Третьякова А.И., Микулич А.В., Собчук А.Н., Ананич Т.С., Крученок Ю.В., Нагорный Р.К., Леусенко И.А., Якимчук С.В., Будевич А.И., Богданович Д.М.</b> ФОТОФИЗИЧЕСКИЕ И ФОТОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ РЕГУЛЯТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ВИДИМОЙ ОБЛАСТИ СПЕКТРА НА КЛЕТКИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ.....	37
<b>Плавский В.Ю., Дудинова О.Н., Плавская Л.Г., Собчук А.Н., Третьякова А.И., Микулич А.В., Ананич Т.С., Нагорный Р.К., Леусенко И.А., Якимчук С.В.</b> СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ НАКОПЛЕНИЯ ЭНДОГЕННЫХ ПОРФИРИНОВ РАКОВЫМИ И НЕТРАНСФОРМИРОВАННЫМИ КЛЕТКАМИ В УСЛОВИЯХ <i>IN VITRO</i> .....	Ошибка! Закладка не определена.
<b>Плавский В.Ю., Дудинова О.Н., Плавская Л.Г., Собчук А.Н., Ананич Т.С., Третьякова А.И., Микулич А.В., Леусенко И.А., Якимчук С.В., Le Hang Dang, Ngoc Quyen Tran</b> ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА И АДРЕСНАЯ ДОСТАВКА ФИТОХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ И ПАКЛИТАКСЕЛА, ИНКАПСУЛИРОВАННЫХ В ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ НАНОНОСИТЕЛИ.....	39
<b>Самович Т.В., Чепелева Е.В., Свечко А.Д., Козел Н.В.</b> СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА КЛЕТОК <i>DUNALIELLA SALINA</i> ПРИ АЗОТНОМ ГОЛОДАНИИ.....	40
<b>Симонова Е.О., Симонов О.А., Мальчевский В.А.</b> ПРИМЕНЕНИЕ АСИМПТОТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ СПЕКТРАЛЬНОГО АНАЛИЗА БАКТЕРИАЛЬНЫХ СУСПЕНЗИЙ.....	41

<b>Тюлькова Е.Г., Савченко Г.Е.</b> ВЛИЯНИЕ ПРЕДЕЛЬНЫХ И АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ В ЛИСТЯХ ОВСЯНИЦЫ ТРОСТНИКОВОЙ ( <i>FESTUCA ARUNDINACEA SCHREB.</i> ).....	42
<b>Филиппова Г.Г.</b> ОСОБЕННОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПЕПТИДНОГО ЭЛИСИТОРА AtPep НА ФОНД ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ В ПРОРОСТКАХ ГОРОХА, ВЫРАЩЕННЫХ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ОСВЕЩЕНИЯ.....	43
<b>Хрущев С.С., Плюснина Т.Ю., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б.</b> МЕЗОМАСШТАБНЫЕ ПОДХОДЫ К МОДЕЛИРОВАНИЮ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ.....	44
<b>Яковлева О.В., Алексеев А.А., Тодоренко Д.А., Братковская Л.Б., Маторин Д.Н.</b> ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ РАСТЕНИЙ В ГОРОДСКИХ УСЛОВИЯХ С ПРИМЕНЕНИЕМ ИНДУКЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА .....	45

## **МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОФИЗИКА**

<b>Zorin V., Zorina T., Kravchenko I., Kablov I., Kutsevol N.</b> INFLUENCE OF SERUM CONCENTRATION ON THE PHOTOSENSITIZERS EXIT FROM THEIR COMPLEXES WITH TEMPERATURE-SENSITIVE DEXTRAN-POLY (N-ISOPROPYLACRYLAMIDE) COPOLYMER.....	47
<b>Аверина Н.Г., Савина С.М., Дремук И.А., Емельянова А.В., Прищепчик Ю.В.</b> МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ БИОСИНТЕЗА АНТОЦИАНОВ В КОЛЕОПТИЛЯХ РАСТЕНИЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ( <i>TRITICUM AESTIVUM L.</i> ) РАЗНЫХ СОРТОВ.....	48
<b>Аверина Н.Г., Емельянова А.В.</b> МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПЕРЕСТРОЙКИ И РЕГУЛЯЦИЯ БИОСИНТЕЗА АНТОЦИАНОВ В РАСТЕНИЯХ ОЗИМОГО РАПСА ( <i>BRASSICA NAPUS L.</i> ) ПОД ДЕЙСТВИЕМ 5-АМИНОЛЕВУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ .....	49
<b>Агейко С.А., Степура И.И., Степура В.И., Валько Н.Г., Смирнов В.Ю., Янцевич А.В.</b> РАДИОЛИЗ И ФОТОЛИЗ ТИАМИНА В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ В ПРИСУТСТВИИ АМИНОКИСЛОТ И БЕЛКОВ. ПРОДУКТЫ ОКИСЛЕНИЯ ВИТАМИНА В <sub>1</sub> В АЭРОБНЫХ УСЛОВИЯХ.....	50
<b>Арабей С.М., Слонская С.В.</b> СПЕКТРАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОЦЕССОВ СОЛЬВАТАЦИИ МОЛЕКУЛ ОКТАБУТОКСИФТАЛОЦИАНИНА В ИНДИВИДУАЛЬНЫХ РАСТВОРИТЕЛЯХ .....	51
<b>Благова А.В., Степанов Г.О., Осипов А.Н.</b> ОБРАЗОВАНИЕ ПОР В МЕМБРАНАХ ЛИПОСОМ, ИНДУЦИРОВАННОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕМ ФОСФАТИДНОЙ КИСЛОТЫ И ЦИТОХРОМА С В ПРИСУТСТВИИ ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА .....	52
<b>Буглак А.А.</b> ФОТОНИКА ПТЕРИНОВЫХ БИОМОЛЕКУЛ – ПЕРСПЕКТИВЫ ДЛЯ МЕДИЦИНЫ.....	53
<b>Василевская Е.Д., Скоростецкая Л.А., Литвинко Н.М.</b> АКТИВНОСТЬ ФОСФОЛИПАЗЫ А <sub>2</sub> И НАСЫЩЕННОСТЬ СРЕДЫ КИСЛОРОДОМ.....	54

<b>Григорьева Д.В., Горудко И.В., Реут В.Е., Панасенко О.М., Соколов А.В.</b> ФЛУОРЕСЦЕИН КАК ПЕРСПЕКТИВНОЕ СОЕДИНЕНИЕ ДЛЯ СЕЛЕКТИВНОГО ОБНАРУЖЕНИЯ БРОМНОВАТИСТОЙ КИСЛОТЫ.....	55
<b>Зорин В.П., Коблов И.В., Кравченко И.Е.</b> СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АРИЛПОРФИРИНОВ С МОНОМЕРНЫМИ И ПОЛИМЕРНЫМИ ПРОИЗВОДНЫМИ ЦИКЛОДЕКСТРИНА .....	56
<b>Ильючик И.А., Никандров В.Н.</b> ВЛИЯНИЕ $MnCl_2$ НА АКТИВНОСТЬ ПРОТЕИНАЗ.....	57
<b>Карпушенкова В.С., Фалетров Я.В., Шкуматов В.М.</b> NBD-АЗИДОАНИЛИН И ОЦЕНКА ЕГО СВОЙСТВ КАЧЕСТВЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ПРОБЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ БЕЛКОВ.....	58
<b>Костюченко Н.С., Хрусталёва Т.А., Хрусталёв В.В.</b> ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ И ПОЛЯРНОСТИ РАСТВОРИТЕЛЯ НА ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТИРОЗИНА.....	59
<b>Кузмицкая П.В., Урбанович О.Ю.</b> ГЕНЫ, КОДИРУЮЩИЕ ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ ФАКТОРЫ СЕМЕЙСТВА TRINELIX, У ЯБЛОНИ.....	60
<b>Кузмицкая П.В., Урбанович О.Ю.</b> ГЕНЫ, КОДИРУЮЩИЕ САМТА, В ГЕНОМЕ ЯБЛОНИ.....	61
<b>Лепешкевич С.В., Сазанович И.В., Пархоц М.В., Гилевич С.Н., Джагаров Б.М.</b> ВЛИЯНИЕ КОНФОРМАЦИОННОЙ РЕЛАКСАЦИИ НА КИСЛОРОДСВЯЗЫВАЮЩИЕ СВОЙСТВА $\alpha$ И $\beta$ СУБЪЕДИНИЦ ГЕМОГЛОБИНА ЧЕЛОВЕКА .....	62
<b>Луговский А.А., Белько Н.В., Гусаков Г.А., Гурский А.Л., Тарасов Д.С.</b> КОМПЛЕКС БЕНЗТИАЗОЛОВОГО КРАСИТЕЛЯ С ДЕТОНАЦИОННЫМ НАНОАЛМАЗОМ В КАЧЕСТВЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ЗОНДА .....	63
<b>Маскевич А.А., Плигин Е.И., Луговский А.А., Воропай Е.С., Глебович Т.С., Степура В.И.</b> СПЕКТРАЛЬНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ПРОЦЕССОВ АГРЕГАЦИИ И ВСТРАИВАНИЯ В АМИЛОИДНЫЕ ФИБРИЛЛЫ АНИОННОГО ПРОИЗВОДНОГО ТИОФЛАВИНА.....	64
<b>Маскевич А.А., Плигин Е.И., Луговский А.А., Воропай Е.С., Сулацкая А.И., Кузнецова И.М., Туроверов К.К., Степура В.И.</b> ОСОБЕННОСТИ ФЕРСТЕРОВСКОГО ПЕРЕНОСА ЭНЕРГИИ ЭЛЕКТРОННОГО ВОЗБУЖДЕНИЯ МЕЖДУ МОЛЕКУЛАМИ БЕНЗТИАЗОЛОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ ПРИ ИХ ВСТРАИВАНИИ В АМИЛОИДНЫЕ ФИБРИЛЛЫ .....	65
<b>Набиева Н.Д.</b> РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ ПОЛУЧЕНИЯ КОСМЕТИЧЕСКИХ И МЕДИЦИНСКИХ МАСЕЛ НА ОСНОВЕ МАСЛЯНОЙ ФРАКЦИИ ЗАГЛИНСКОЙ НЕФТИ .....	66
<b>Никоненко Н.А., Иванов А.А., Инсарова Н.И.</b> ИК СПЕКТРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ЭФИРОВ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ БИОМЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ.....	67

Пархоц М.В., Лепешкевич С.В., Мкртчян Л.В., Закоян А.А., Гюльханданян А.Г., Сеферян Т.Е., Гюльханданян Г.В., Джагаров Б.М. ВЛИЯНИЕ ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ НА ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРОВАННОЕ ОБРАЗОВАНИЕ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА КАТИОННЫМИ ПИРИДИЛПОРФИРИНАМИ .....	68
Плигин Е.И., Воропай Е.С., Луговский А.А., Маскевич А.А. СПЕКТРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА НОВОЙ СТИРИЛОВОЙ ПРОИЗВОДНОЙ ТИОФЛАВИНА Т .....	69
Семенов Д.А., Куприенко О.С., Вашкевич И.И., Свиридов О.В. СПЕКТРАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ СВЯЗЫВАНИЯ ИОНОВ МЕТАЛЛОВ С РЕКОМБИНАНТНЫМ ЛАКТОФЕРРИНОМ ЧЕЛОВЕКА .....	70
Семенов Д.А., Вашкевич И.И., Владыко А.С., Свиридов О.В. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ КОНКУРЕНТНОГО СВЯЗЫВАНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ЛАКТОФЕРРИНА ЧЕЛОВЕКА И ВИРУСА SARS-CoV-2 С ГЕПАРАНСУЛЬФАТ ПРОТЕОГЛИКАНАМИ..	71
Старовойтова В.А., Фалетров Я.В., Шкуматов В.М. <i>IN SILICO</i> ПОИСК НОВЫХ КОВАЛЕНТНЫХ ИНГИБИТОРОВ БЕЛКА NSP2 КОРОНАВИРУСА SARS-CoV-2 СРЕДИ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ .....	73
Степуро В.И. ДИНАМИКА ФОТОИНДУЦИРОВАННОГО ВНУТРИМОЛЕКУЛЯРНОГО ПЕРЕНОСА ЗАРЯДА В БЕНЗОТИАЗОЛ-АНИЛИНОВЫХ КРАСИТЕЛЯХ .....	74
Степуро И.И., Агейко С.А., Смирнов В.Ю., Янцевич А.В. ОКИСЛЕНИЕ ТИАМИНА И ТИАМИН-ДИФОСФАТА ПОД ДЕЙСТВИЕМ ВИДИМОГО СВЕТА В ПРИСУТСТВИИ РИБОФЛАВИНА И МОНОФЕНОЛОВ .....	75
Фалетров Я.В., Завалинич В.А., Гвоздев М.Ю., Логинова Н.В., Шкуматов В.М. 7-НИТРОБЕНЗОКСАДИ-4-ИЛ-ОПТО-ФЕНИЛЕНДИАМИН КАК НОВЫЙ ЛИГАНД ДЛЯ МЕТАЛЛОПРОТЕИНОВ: ОЦЕНКА <i>IN SILICO</i> .....	76
Хрусталёв В.В., Хрусталёва Т.А., Шалыго Н.В., Стожаров А.Н., Сапон Е.Г., Побойнев В.В., Акуневич А.А. О ВЛИЯНИИ АМИНОКИСЛОТНОЙ ЗАМЕНЫ Y20W НА ВТОРИЧНУЮ СТРУКТУРУ ПЕПТИДА, СООТВЕТСТВУЮЩЕГО ФРАГМЕНТУ РЕЦЕПТОР-СВЯЗЫВАЮЩЕГО ДОМЕНА ПАРВОВИРУСА В19 .....	77
Шадыро О.И., Самович С.Н., Сосновская А.А., Едимечева И.П., Игнатович Л.В., Хруцкий В.Ю. СВОБОДНОРАДИКАЛЬНАЯ ФРАГМЕНТАЦИЯ ЛИЗФОСФАТИДИЛ-ХОЛИНА В УСЛОВИЯХ ОТСУТСТВИЯ КИСЛОРОДА.....	78

## МЕМБРАННАЯ И КЛЕТОЧНАЯ БИОФИЗИКА

Faletrov Y., Pozniak H., Shkumatov V. SYNTHESIS AND <i>IN SILICO</i> ESTIMATION OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF NEW ALKYNE-CHOLESTEROL CONJUGATE .....	80
Богданова А.В., Амаэбери Н.В., Семенкова Г.Н., Полешко А.Г., Квачева З.Б., Шадыро О.И. МОДИФИКАЦИЯ РЕДОКС-АКТИВНОСТИ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ 2-ГЕКСАДЕЦЕНАЛЕМ.....	81
Будаговская О.Н., Будаговский А.В. ПРОСТРАНСТВЕННАЯ КОГЕРЕНТНОСТЬ СВЕТОРАССЕЯНИЯ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ МИКРОСТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ РАСТИТЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ.....	82



<b>Будаговский А.В., Будаговская О.Н., Соловых Н.В., Маслова М.В., Грошева Е.В.</b> НУЖНА ЛИ КЛЕТКАМ КОГЕРЕНТНОСТЬ СВЕТА? .....	83
<b>Венская Е.И., Лукьяненко Л.М., Скоробогатова А.С., Слобожанина Е.И.</b> ВЛИЯНИЕ АМИЛОИДОВ НА ЛИМФОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА .....	84
<b>Дадашов М.З., Джафар Н.А., Оруджова А.Я., Мамедзаде Ч.С., Джафар Н.Ш., Гусейнов Т.М.</b> ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ПОЛЯ ВЫСОКОГО НАПРЯЖЕНИЯ (50 Гц) НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -АТФ-азы .....	85
<b>Джафарова С.А., Джафар Н.А., Оруджова А.Я., Мамедзаде Ч.С., Умудлу У.Н.</b> ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ НИТРИТА НАТРИЯ НА МЕМБРАНОСВЯЗАННЫЕ ФЕРМЕНТЫ ЭРИТРОЦИТОВ .....	86
<b>Джафарова С.А., Джафар Н.А., Мамедзаде Ч.С., Джафар Н.Ш., Гусейнов Т.М.</b> ВЛИЯНИЕ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ.....	87
<b>Жиленкова А.Е., Юдаева А.Д., Корепанова Е.А.</b> СРАВНЕНИЕ ПОРООБРАЗУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ЦИТОХРОМА С ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОМ рН И В ИЗОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ ТОЧКЕ МЕТОДОМ БЛМ.....	88
<b>Кохан А.Ю., Шамова Е.В.</b> АЛГОРИТМ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ ТОКОВ ЧЕРЕЗ ОДИНОЧНЫЕ ИОННЫЕ КАНАЛЫ ТРОМБОЦИТОВ .....	89
<b>Кубасов С.Ф.</b> НАРУШЕНИЕ ТРАНСПОРТА ЛИПИДОВ В КРОВИ.....	90
<b>Литвинов Н.В., Калаева Е.А., Соколова Л.О., Артюхов В.Г.</b> АМФОТЕРИЦИН В КАК ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ ЗОНД ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ ХОЛЕСТЕРИНА В МЕМБРАНАХ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА.....	91
<b>Мотевич И.Г., Стрекаль Н.Д., Чайковская А.А., Шульга А.В., Шиман О.В., Israa Akram Hantoosh</b> ПРИМЕНЕНИЕ КОНФОКАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ К ЗОНДИРОВАНИЮ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ РАКОВЫХ КЛЕТОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАНОЧАСТИЦ CdSe/ZnS .....	92
<b>Немченко А.А., Путинцева О.В., Артюхов В.Г.</b> ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ ДОНОРОВ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫМ ПРЕПАРАТОМ «МОНОСАН» (PRO.MED.CS PRANA a.s., ЧЕШСКАЯ РЕСПУБЛИКА).....	93
<b>Новицкий И.А., Амаэбери Н.В., Семенкова Г.Н., Хруцкий В.Ю., Шадыро О.И.</b> РЕГУЛЯЦИЯ ФУНКЦИЙ НЕЙТРОФИЛОВ ПАЛЬМИТОКСИАЦЕТОНОМ.....	94
<b>Пашкевич Л.В.</b> ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО САЛИЦИЛАТА НА СОДЕРЖАНИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ИНФИЦИРОВАННЫХ ГРИБОМ <i>BIPOLARIS SOROKINIANA</i> РАСТЕНИЯХ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ.....	95
<b>Пашкевич Л.В., Кабашникова Л.Ф.</b> ВЛИЯНИЕ ГИПЕРТЕРМИИ И САЛИЦИЛАТА НА СОСТОЯНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ПРОРОСТКОВ ЯЧМЕНЯ, ИНФИЦИРОВАННЫХ ГРИБОМ <i>BIPOLARIS SOROKINIANA</i> .....	96

<b>Смирнов А.А., Кабачевская Е.М., Бусько И.И., Волотовский И.Д.</b> ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ ОБЩЕГО СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ОКСИКОРИЧНЫХ КИСЛОТ В ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ В УСЛОВИЯХ ИНФИЦИРОВАНИЯ ФИТОФТОРОЙ.....	97
<b>Стародубцева М.Н., Никитина И.А., Челнокова И.А., Шклярова А.Н., Егоренков Н.И.</b> РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПОВЕРХНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ И НАНОРАЗМЕРНЫХ ЧАСТИЦ ПЛАЗМЫ КРОВИ КРЫС.....	98
<b>Суховеева С.В., Кабачевская Е.М., Волотовский И.Д.</b> СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛЕТОК НАДЗЕМНЫХ ОРГАНОВ РАСТЕНИЙ ТОМАТА ПРИ ДЕЙСТВИИ ГРАВИТАЦИОННОГО СИГНАЛА.....	99
<b>Фалетров Я.В., Глинская Л.И., Барановская А.В., Шкуматов В.М.</b> СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНОГО NBD-ВАНКОМИЦИНА И АНАЛИЗ ЕГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКОЙ МИКРООРГАНИЗМОВ.....	100
<b>Фалетров Я.В., Яковец П.С., Шкуматов В.М.</b> СКРИНИНГ ЭЛЕКТРОФИЛЬНЫХ ФРАГМЕНТОВ ДЛЯ НОВЫХ БЕЛКОВЫХ МЕТОК И ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ НЕ ПЕПТИДНЫХ ИНГИБИТОРОВ КАТЕПСИНОВ.....	101
<b>Челнокова И.А., Стародубцева М.Н., Байрамуков В.Ю., Ронищенко Б.В.</b> ИДЕНТИФИКАЦИЯ РАЗНЫХ НАНОРАЗМЕРНЫХ ЧАСТИЦ В СЛОЖНОКОМПОНЕНТНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДАХ МЕТОДОМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ.....	102
<b>Шаденко В.Н., Сидоров А.В.</b> ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МЕМБРАНЫ ПЕПТИДЕРГИЧЕСКОГО НЕЙРОНА ЦНС МОЛЛЮСКА <i>LYMNAEA STAGNALIS</i> ПРИ ГИПЕРГЛИКЕМИИ.....	103
<b>Шаховская О.В., Матвеевкова Т.Д., Стародубцева М.Н.</b> РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ФИБРОБЛАСТОВ КРЫСЫ.....	104

## МЕДИЦИНСКАЯ БИОФИЗИКА

<b>Amaegberi N.V., Zhang Y., Melnikova E.A., Lukyanava K.A., Shulhanova A.V., Semenkova G.N., Shadyro O.I.</b> MECHANISMS OF CINNAMATES EFFECT ON REACTIVE OXYGEN AND CHLORINE SPECIES GENERATION IN NEUTROPHILS .....	106
<b>Kukharensko L.V., Walheim S., Barczewski M., Gröger R., Schimmel Th., Goltsev M.V.</b> ATOMIC FORCE MICROSCOPY STUDY OF BLOOD CELLS INTERACTION .....	107
<b>Vakhrusheva T.V., Moroz G.D., Grafaskaia E.N., Latsis I.A., Panasenko O.M., Lazarev V.N.</b> AN <i>IN VITRO</i> STUDY OF THE EFFECTS OF A FEW NOVEL SYNTHETIC CATIONIC ANTIMICROBIAL PEPTIDES ON HUMAN PLASMA COAGULATION.....	108
<b>Аль Меселмани М.А., Глинская Н.А.</b> ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ СПЕРМАТОГЕННОГО ЭПИТЕЛИЯ У КРЫС ПРИ ДОЗЕ 0,5 ГР ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ВНЕШНЕГО $\gamma$ -ОБЛУЧЕНИЯ.....	109

<b>Бабенкова И.В., Разживайкин Д.А., Калинин Т.П., Теселкин Ю.О., Осипов А.Н.</b> АНТИОКСИДАНТНАЯ СПОСОБНОСТЬ КОФЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ .....	110
<b>Белько Н.В., Мальтанова А.М., Смоляков А.А., Луговский А.П., Луговский А.А., Позняк С.К., Самцов М.П.</b> СПЕКТРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА РАДИКАЛОВ ИНДОТРИКАРБОЦИАНИНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ.....	111
<b>Войнаровский В.В., Мартинович Г.Г.</b> ДИНАМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -ИНДУЦИРОВАННОГО МЕХАНИЗМА ЗАЩИТЫ ЭРИТРОЦИТОВ .....	112
<b>Волков В.В., Степанов Г.О., Осипов А.Н.</b> ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ, ИНДУЦИРОВАННОЕ ЦИТОХРОМОМ С В ПРИСУТСТВИИ ФОСФАТИДНОЙ КИСЛОТЫ. ПЕРСПЕКТИВНАЯ РОЛЬ В РАЗВИТИИ АПОПТОТИЧЕСКИХ И ФЕРРОПТОТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ.....	113
<b>Герловский Д.О., Литвинко Н.М., Павлюченко Н.И.</b> ХАРАКТЕРИСТИКА ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ МУЖСКОЙ ИНФЕРТИЛЬНОСТИ ПО УРОВНЮ АКТИВНОСТИ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ СПЕРМОПЛАЗМЫ .....	114
<b>Герловский Д.О., Расич В.А., Литвинко Н.М.</b> АКТИВАЦИЯ ПРОЛЕКАРСТВ НА ОСНОВЕ ФОСФОЛИПИДОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ФОСФОЛИПАЗ, ВЫДЕЛЯЕМЫХ МИКРООРГАНИЗМАМИ .....	115
<b>Гулиева Р.Т., Джафар Н.А., Оруджова А.Я., Мамедзаде Ч.С., Умудлу У.Н.</b> СРАВНЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ К НИТРИТНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У ВАКЦИНИРОВАННЫХ SINO VAC-CORONAVAC И ПЕРЕНЕСШИХ COVID-19 .....	116
<b>Екимчик В.В., Коваленко Е.И., Богданова А.В., Голубева Е.Н., Демиденко М.И., Кулагова Т.А.</b> ГЕМОСОВМЕСТИМОСТЬ ГРАФЕНОВЫХ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК.....	117
<b>Журавлева Э.Р., Степанов Г.О., Осипов А.Н.</b> ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФОСФАТИДНОЙ КИСЛОТЫ НА ТЕМПЕРАТУРУ КОНФОРМАЦИОННОГО ПЕРЕХОДА КОМПЛЕКСОВ [ЦИТОХРОМ С + ФОСФОЛИПИДЫ].....	118
<b>Зорина Т.Е., Кравченко И.Е., Коблов И.В., Ермилова Т.И., Шман Т.В., Кустов А.В., Березин Д.Б., Зорин В.П.</b> СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЛОКАЛИЗАЦИИ, РАСПРЕДЕЛЕНИЯ И МЕХАНИЗМОВ ФОТОЦИТОТОКСИЧНОСТИ РЯДА АМИНОПРОИЗВОДНЫХ ХЛОРИНА E <sub>6</sub> В КЛЕТОЧНЫХ СИСТЕМАХ.....	119
<b>Зубрицкая Г.П., Найда Е.Н., Григоренко Е.А., Митьковская Н.П., Слобожанина Е.И.</b> АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОНТРАНСФЕРАЗЫ В ЭРИТРОЦИТАХ ПАЦИЕНТОВ ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ .....	120
<b>Зубрицкая Г.П., Слобожанина Е.И.</b> ВЛИЯНИЕ ИОНОВ ЛИТИЯ НА БИОФИЗИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ БЕЛКОВ И ЛИПИДОВ В ЭРИТРОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА .....	121
<b>Иванов А.А., Козлякова О.В., Королик А.К., Тарасик М.С.</b> ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ИК СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ УРОВНЯ ЛИПОПРОТЕИНОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН .....	122

<b>Иванов В.А., Костевич В.А., Горбунов Н.П., Соколов А.В., Галкина Н.В., Гусев С.А., Островский Е.М., Панасенко О.М.</b> ВЛИЯНИЕ ЕСТЕСТВЕННЫХ МОДУЛЯТОРОВ ФУНКЦИИ НЕЙТРОФИЛОВ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ АГЕНТОВ НА МАРКЕРЫ ГАЛОГЕНИРУЮЩЕГО СТРЕССА В КРОВИ БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА.....	123
<b>Йоник Е.А., Марченков Р.Е., Калинин Д.Д., Терехов И.И., Ефременко Е.Н., Лобанова Н.Р., Торопыгина М.И., Мешков Г.А., Ерохина Я.Р., Прокопова К.И., Ажинова Г.А., Кузнецова Е.В.</b> АУДИОМЕТРИЯ. ИЗМЕРЕНИЯ ПОТЕРИ СЛУХА.....	124
<b>Калинин Д.Д., Марченков Р.Е., Терехов И.И., Йоник Е.А.</b> ИССЛЕДОВАНИЕ АКУСТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ФАНТОМОВ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ .....	125
<b>Козлов А.С., Журавлев С.Г., Егорова О.Н., Медведков О.И., Красновский А.А.</b> ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЯМОГО ВОЗБУЖДЕНИЯ РАСТВОРЕННОГО МОЛЕКУЛЯРНОГО КИСЛОРОДА В БЛИЖНЕЙ ИК ОБЛАСТИ (800-1300 НМ) В СВЯЗИ С ВОПРОСАМИ МОДЕЛИРОВАНИЯ МЕХАНИЗМА ЛАЗЕРНОЙ ТЕРАПИИ .....	126
<b>Конюхова С.П., Степанов Г.О., Осипов А.Н.</b> ОЦЕНКА СВЯЗЫВАНИЯ И ПЕРОКСИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСОВ [CytC - DOPA]. РОЛЬ ФОСФАТИДНОЙ КИСЛОТЫ В МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМАХ КЛЕТочНОЙ ГИБЕЛИ.....	127
<b>Король Ю.Д., Кохан А.Ю., Шамова Е.В.</b> ВЛИЯНИЕ ЦИНКА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА .....	128
<b>Красновский А.А., Бендикис А.С., Гончаров С.Е., Козлов А.С.</b> ЛАЗЕРНАЯ АКТИВАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО КИСЛОРОДА В АЭРИРОВАННЫХ РАСТВОРАХ. ОБСУЖДЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ БИОЛОГИЧЕСКОГО И ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЛАЗЕРОВ .....	129
<b>Мансуров В.А., Трушель Н.А., Гольцев М.В.</b> ДЕФОРМАЦИЯ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ В МЕСТЕ СЛИЯНИЯ ПОЗВОНОЧНЫХ АРТЕРИЙ В БАЗИЛЯРНУЮ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЯЗКОСТИ КРОВИ И СТРОЕНИЯ ЧЕРЕПА .....	130
<b>Мартинovich И.В., Войнаровский В.В., Мартинovich Г.Г.</b> ФАКТОР ТРАНСКРИПЦИИ NRF2 КАК НОВАЯ МИШЕНЬ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ .....	131
<b>Марченков Р.Е., Калинин Д.Д., Терехов И.И., Йоник Е.А.</b> ВЛИЯНИЕ УВЧ-ПОЛЯ НА ФАНТОМЫ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ .....	132
<b>Мурина М.А., Рошупкин Д.И.</b> АНТИАГРЕГАНТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ХЛОРАМИНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АНАЛОГОВ АДЕНОЗИНА .....	133
<b>Панасенко О.М., Иванов В.А., Михальчик Е.В., Горудко И.В., Григорьева Д.В., Басырева Л.Ю., Шмелева Е.В., Гусев С.А., Костевич В.А., Горбунов Н.П., Соколов А.В.</b> МОДИФИЦИРОВАННЫЙ МЕТИЛГЛИОКСАЛЕМ АЛЬБУМИН СЫВОРОТКИ ЧЕЛОВЕКА, СВЯЗЫВАЯСЬ С МИЕЛОПЕРОКСИДАЗОЙ ЛЕЙКОЦИТОВ, ИНГИБИРУЕТ ЕЕ ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ.....	134

<b>Панкова С.М., Холявка М.Г., Байдамшина Д.Р., Каюмов А.Р., Артюхов В.Г. СОЧЕТАННОЕ ДЕЙСТВИЕ УФ-ИЗЛУЧЕНИЯ И ЦИСТЕИНОВЫХ ПРОТЕАЗ НА БАКТЕРИИ В СОСТАВЕ БИОПЛЕНОК.....</b>	<b>135</b>
<b>Петухов В.И., Дмитриев Е.В. СПЕКТРОМЕТРИЯ ВОЛОС: ПРОБЛЕМЫ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ОЦЕНКИ МЕТАЛЛО-ЛИГАНДНОГО ГОМЕОСТАЗА (МЛГ)....</b>	<b>136</b>
<b>Пинчук П.Ю., Чиркин А.А. ОЦЕНКА МОЛЕКУЛЯРНО-СТРУКТУРНОЙ ГОМОЛОГИИ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ПРИ ОТБОРЕ МОДЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ ДЛЯ БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ .....</b>	<b>137</b>
<b>Рощупкин Д.И., Мурина М.А. КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ХЛОРАМИНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АДЕНИНА С ТИОЛАМИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ СРЕДЫ.....</b>	<b>138</b>
<b>Садардинов Д.Н. РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ОРГАНИЗМА КРЫСЫ ПРИ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ .....</b>	<b>139</b>
<b>Садовничук М.Д., Скоробогатова А.С., Венская Е.И., Абашкин В.М., Аляхнович Н.С. ВЛИЯНИЕ ЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА .....</b>	<b>140</b>
<b>Семенкова Г.Н., Адзериho И.Э., Шулганова А.В., Амаэбери Н.В., Новицкий И.А., Серебро А.М., Мотолько С.С., Тихинская Д.В., Владимирская Т.Э. УЧАСТИЕ НЕЙТРОФИЛОВ В ВОСПАЛЕНИИ ПРИ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ .....</b>	<b>141</b>
<b>Сидоренко А.В., Солодуho Н.А. ОЦЕНКА ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЧЕЛОВЕКА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ШУМА И ПРИ НАЛИЧИИ ОПРЕДЕЛЕННЫХ ПАТТЕРНОВ ЭЭГ .....</b>	<b>142</b>
<b>Сучков М.Ю., Степанов Г.О., Осипов А.Н. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИНИЦИИ ФЕРРОПТОТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ КОМПЛЕКСОВ ЦИТОХРОМА С С ФОСФАТИДНОЙ КИСЛОТОЙ .....</b>	<b>143</b>
<b>Тарасов Д.С., Красноперов Н.Н., Самцов М.П. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ НА ОСНОВЕ ИНДОТРИКАРБОЦИАНИНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ С БЕЛКАМИ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА.....</b>	<b>144</b>
<b>Телегина Т.А., Вечтомова Ю.Л., Борзова В.А., Буглак А.А. КОНФОРМАЦИОННАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ФЕНИЛАЛАНИНГИДРОКСИЛАЗЫ – ВАЖНОЕ ЗВЕНО В ПАТОГЕНЕЗЕ ВИТИЛИГО .....</b>	<b>145</b>
<b>Теселкин Ю.О., Бабенкова И.В., Осипов А.Н. МЕХАНИЗМ АНТИОКСИДАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ ВОДНОГО ИЗВЛЕЧЕНИЯ ИЗ ЙЕРБА МАТЕ (<i>Ilex paraguariensis</i>) НА ПРОЦЕСС ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ФОСФОЛИПИДОВ ЛИПОСОМ.....</b>	<b>146</b>
<b>Титов В.Ю., Осипов А.Н., Кочиш И.И., Долгорукова А.М. МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ NO.....</b>	<b>147</b>

**Титов В.Ю., Осипов А.Н., Шалина Р.И., Попова М.В., Иванова Е.А., Ананкина А.А.** ФЕРМЕНТНЫЙ КАЛОРИМЕТРИЧЕСКИЙ СЕНСОР ДАЕТ НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ В ИЗУЧЕНИИ ПАТОГЕНЕЗА И В ДИАГНОСТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ, СВЯЗАННЫХ С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМ ПРОЦЕССОМ ..... 148

**Харитонов Д.В., Алексеева А.О., Ерёмкина Я.В., Бадалов А.А., Волков В.В., Степанов Г.О., Осипов А.Н.** ОЦЕНКА КОНФОРМАЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ И ПЕРОКСИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ЦИТОХРОМА С ПРИ ТЕМПЕРАТУРАХ, ХАРАКТЕРНЫХ ДЛЯ ГИПЕРТЕРМИИ ..... 149

**Шафорост А.С., Воропаев Е.В., Липская Е.А.** МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОВЕРХНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ТЯЖЕЛЫМ ТЕЧЕНИЕМ COVID-19 ..... 150

**Яглова Н.В., Обернихин С.С., Диатроптов М.Е., Тимохина Е.П., Яглов В.В.** ИЗМЕНЕНИЯ ИЗОТОПНОГО СОСТАВА ВОДЫ И ТЕРМОГЕНЕЗ ..... 151

## **НАНОБИОТЕХНОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИЯ**

**Narutyunyan A.A., Aghajanyan A.A., Gabrielyan L.S.** BACTERICIDAL EFFECT OF GREEN SILVER NANOPARTICLES AGAINST *ENTEROCOCCUS HIRAE* ..... 153

**Timotina M., Aghajanyan A.A., Trchounian K., Gabrielyan L.S.** COMPARATIVE STUDY OF EFFECTS OF CHEMICALLY AND GREEN SYNTHESIZED SILVER NANOPARTICLES ON *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ..... 154

**Urban V.A., Veresov V.G.** LIFETIME ANALYSIS OF TIME EVOLUTION OF INTERACTION OF SMALL-MOLECULE INHIBITORS OF PD-1 –PD-L1 AXIS WITH PD-L1 DIMER. .... 155

**Zenkevich E.I., Blaudeck T., Scheinin V.B., Selyshchev O.N., Kulikova O.M., Stroyuk O.L., Raievska O.E., Dzhagan V.N., Koifman O.I., von Borczyskowski C., Zahn D.R.T.** ENERGY TRANSFER AND SINGLET OXYGEN GENERATION IN “SEMICONDUCTOR QUANTUM DOT – PORPHYRIN” NANOASSEMBLIES ..... 156

**Zenkevich E.I.** DEACTIVATION OF EXCITED STATES IN NANOSTRUCTURES CONTAINING Cu-PORPHYRIN MACROCYCLES ..... 157

**Белько Н.В., Мальтанова А.М., Тимошенко А.Г., Лабода Н.В., Луговский А.П., Луговский А.А., Позняк С.К., Самцов М.П.** ПРИМЕНЕНИЕ АЦИЛГИДРАЗОНА РОДАМИНА Б В КАЧЕСТВЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО БИОСЕНСОРА ИОНОВ МЕДИ (II) И ЖЕЛЕЗА (III) ..... 158

**Бобрукевич Д.В., Гончаров А.Е., Антоневиц Н.Г., Семижон П.А.** ПОГЛОТИТЕЛЬНАЯ СПОСОБНОСТЬ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК В ОТНОШЕНИИ ПРОТОТИПА ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ COVID-19..... 159

**Голубева Е.Н., Демиденко М.И., Кулагова Т.А.** SERS-АКТИВНЫЕ ПОДЛОЖКИ НА ОСНОВЕ ЧЕРНОГО КРЕМНИЯ ДЛЯ ХАРАКТЕРИЗАЦИИ НАНОМАТЕРИАЛОВ И ОБНАРУЖЕНИЯ СЛЕДОВЫХ КОЛИЧЕСТВ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ..... 160

**Дембский В.В., Волченкова У.В., Григорович В.В.** ИНТЕРЛЕЙКИН-6 И ЕГО РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ COVID-19 ..... 161

- Денисов А.А., Богданова А.В., Кулагова Т.А., Кузнецова Т.Е., Токальчик Д.П., Пашкевич С.Г.** НАКОПЛЕНИЕ ГРАФЕНОВЫХ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК КЛЕТКАМИ НЕРВНОЙ ТКАНИ КРЫСЫ *IN VIVO* И *IN VITRO* ..... 162
- Зенькевич Э.И.** НАПРАВЛЕННЫЙ ПЕРЕНОС ЭНЕРГИИ В КОНЦЕНТРИРОВАННЫХ РАСТВОРАХ И ХИМИЧЕСКИХ ДИМЕРАХ ТЕТРАПИРРОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ... 163
- Коктыш И.В., Мельникова Я.И., Кулакович О.С., Маскевич С.А.** ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТЕЙ УМЕНЬШЕНИЯ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО СВЯЗЫВАНИЯ КОМПОНЕНТОВ ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ТЕСТ СИСТЕМ НА ПОВЕРХНОСТИ ТВЕРДОЙ ФАЗЫ, СФОРМИРОВАННОЙ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫМИ ПЛЕНКАМИ СЕРЕБРА ..... 164
- Копыцкий А.В., Хильманович В.Н., Стрекаль Н.Д., Мотевич И.Г.** ПРОГРАММНОЕ ОКРАШИВАНИЕ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ СРЕЗОВ ТКАНЕЙ ПО СПЕКТРАМ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК CdSe/ZnS ..... 165
- Кулагова Т.А., Бичан О.Д., Голубева Е.Н., Кохан А.Ю., Шамова Е.В.** ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ГРАФЕНОВЫХ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК ..... 166
- Мельникова Я.И., Коктыш И.В., Кулакович О.С., Маскевич С.А.** ОЦЕНКА ПАРАМЕТРОВ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО СВЯЗЫВАНИЯ БЕЛКОВЫХ МОЛЕКУЛ НА ПОВЕРХНОСТИ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫХ ПЛЕНОК СЕРЕБРА, ПОКРЫТЫХ ПОЛИЛИЗИНОМ..... 167
- Назаренко П.С., Перепечко С.А., Урбан В.А., Вересов В.Г.** ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДАМИ КОМПЬЮТЕРНОЙ СТРУКТУРНОЙ БИОЛОГИИ ПОСТ-ТРАНЛЯЦИОННОЙ РЕГУЛЯЦИИ БЕЛКА PD-L1 БЕЛКАМИ СМТМ6 И СМТМ4..... 168
- Радюк Д.В., Михновец Л.А., Абашкин В.М., Хамицевич А.А., Щербин Д.Г., Бурко А.А., Крютень Н.А.** ФОРМИРОВАНИЕ И СВОЙСТВА НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСА САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ И Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-КИСЛОРОДСОДЕРЖАЩЕГО ГРАФЕНА С ПЕРЕКЛЮЧАЕМОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ ФУНКЦИЕЙ ..... 169
- Ронищенко Б.В., Панарин А.Ю., Терехов С.Н., Челнокова И.А.** ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИЯ ПЛАЗМОННОЙ ПОВЕРХНОСТИ ДЛЯ ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНОГО АНАЛИЗА БИОМОЛЕКУЛ МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ ГИГАНТСКОГО КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ..... 170
- Серченя Т.С., Горбачева И.В., Семижон П.А., Счесленок Е.П., Вашкевич И.И., Свиридов О.В.** БИОАНАЛИТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОЦЕНКИ ЛИГАНД-СВЯЗЫВАЮЩЕЙ И ИММУНОХИМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЕЙ РЕКОМБИНАТНОГО РЕЦЕПТОРА БЕТА-ЛАКТАМНЫХ АНТИБИОТИКОВ VLAR-STD ..... 171
- Церахава М.М., Магіера Я., Іонаў М., Ціў Дж., Мажараль Ж.-П., Брышэўска М., Шчарбін Д.Г.** ЗМЭНЫ Ё БЯЛКОВАЙ СТРУКТУРЫ АЛЬБУМІНА І ТРАМБІНА ПАД УПЛЫВАМ АМФІФІЛЬНЫХ ФОСФАРЗМЯШЧАЛЬНЫХ ДЭНДРОНАЎ ..... 172

## КЛЕТОЧНАЯ ИНЖЕНЕРИЯ И КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ

- Денисов А.А., Никифоров А.В.** АНАЛИЗ ИЗОБРАЖЕНИЙ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ФОРМИРОВАНИЯ НЕЙРОННОЙ СЕТИ НА СУБСТРАТЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ..... 174
- Квачева З.Б., Василевич И.Б., Пинчук С.В., Полешко А.Г., Бутенко А.В., Вологовский И.Д.** КУЛЬТУРЫ ФИБРОБЛАСТОВ И КЕРАТИНОЦИТОВ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА В КАЧЕСТВЕ ОСНОВЫ ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ БИМЕДИЦИНСКИХ КЛЕТОЧНЫХ ПРОДУКТОВ ..... 175
- Корнилова А.И., Домнина А.П., Горячая Т.С., Петросян М.А.** КЛЕТОЧНЫЕ ЛИНИИ ЭНДОМЕТРИЯ КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ ..... 176
- Мантивола В.Э., Лукша В.И., Антоневиц Н.Г., Гончаров А.Е., Дубовская Т.Г., Малашевская А.О.** ОЦЕНКА ДИФФЕРЕНЦИРОВОЧНОГО ПОТЕНЦИАЛА МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА В МИКРОГЛИАЛЬНОМ НАПРАВЛЕНИИ ПО ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРОВ ТМЕМ119 И P2RY12..... 177
- Матиевский К.А., Пинчук С.В., Мусская О.Н., Крутько В.К.** ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ГЕЛЯ ГИДРОКСИАПАТИТА – КОМПОНЕНТА БИОЧЕРНИЛ, НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТКОК ПРИ 3D-БИОПЕЧАТИ..... 178
- Минич Я.С., Антоневиц Н.Г., Гончаров А.Е.** ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ГЕНЕРАЦИИ ТОЛЕРОГЕННЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗНЫХ ИНДУКТОРОВ ПРИ ОДНОВРЕМЕННОМ СОКУЛЬТИВИРОВАНИИ С МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ ОБОНЯТЕЛЬНОЙ ВЫСТИЛКИ ..... 179
- Пинчук С.В., Василевич И.Б., Куликовская В.И., Вологовский И.Д.** ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ОКТЕНИДИНА В РАСТВОРЕ И В СОСТАВЕ ТОНКОПЛЕНОЧНЫХ НОСИТЕЛЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК..... 180
- Полешко А.Г., Пинчук С.В., Мисюкевич А.Ю., Тишук О.И.** ПОЛУЧЕНИЕ И ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КУЛЬТУРЫ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА ИЗ ЭНДОМЕТРИЯ ..... 181
- Полешко А.Г., Пинчук С.В., Тишук О.И., Мисюкевич А.Ю.** ВЛИЯНИЕ БИОДЕГРАДИРУЕМОГО НОСИТЕЛЯ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ КУЛЬТИВИРОВАННЫХ МСК ЭНДОМЕТРИЯ ЧЕЛОВЕКА ..... 182
- Рында Е.Г., Антоневиц Н.Г., Гончаров А.Е., Еременко Ю.Ю., Ниделько А.А., Шулепова Э.А.** СОЗДАНИЕ КУЛЬТУР МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ОБОНЯТЕЛЬНОЙ ВЫСТИЛКИ С УЛУЧШЕННЫМИ ИММУНОСУПРЕССИВНЫМИ СВОЙСТВАМИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НЕИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПОЛОСТИ НОСА..... 183
- Таланкина А.С., Позняк Т.А., Гончаров А.Е.** ДИЗАЙН ЛЕНТИВИРУСНОГО ВЕКТОРА ДЛЯ ТРАНСФЕКЦИИ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК..... 184



**Ткалич Е.С., Позняк Т.А., Ширвель Д.Ю., Большов А.В., Третьяк С.И., Гончаров А.Е.**  
ПОЛУЧЕНИЕ ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ПАРАТИРОЦИТОВ ..... 185

## **ОБРАЗОВАНИЕ В ОБЛАСТИ БИОФИЗИКИ**

**Белая О.Н., Гольцев М.В., Гузелевич И.А.** ПРОФЕССИОНАЛЬНО-ОРИЕНТИРОВАННОЕ СОДЕРЖАНИЕ БИОФИЗИКИ В ВУЗАХ МЕДИЦИНСКОГО ПРОФИЛЯ..... 187

**Кулемзина Т.В.** ИНТЕГРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА В ПОДГОТОВКЕ ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ «БИОФИЗИКА»..... 188

**Кухаренко Л.В., Гольцев М.В., Гузелевич И.А.** ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ СМЕШАННОГО ОБУЧЕНИЯ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ КАЧЕСТВА ВЫСШЕГО МЕДИЦИНСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ ..... 189

**Лещенко В.Г., Инсарова Н.И., Иванов А.А., Шеламова М.А., Лубневская Г.Г.** ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МАТЕМАТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ ПРИ ИЗУЧЕНИИ МЕДИЦИНСКОЙ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ В БГМУ ..... 190

**Стародубцева М.Н., Кузнецов Б.К.** ПРАКТИКО-ОРИЕНТИРОВАННЫЙ ПОДХОД К РАЗРАБОТКЕ ЛАБОРАТОРНОГО ПРАКТИКУМА ПО МЕДИЦИНСКОЙ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИКЕ ДЛЯ СТУДЕНТОВ МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА ..... 191

**Хильманович В.Н.** МОДЕЛЬ БИОФИЗИЧЕСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ В МЕДИЦИНСКОМ ВУЗЕ ..... 192

**Шеламова М.А., Лещенко В.Г., Инсарова Н.И.** РАЗВИТИЕ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ СТУДЕНТОВ ..... 193

# **ФОТОСИНТЕЗ И ФОТОБИОЛОГИЯ**

## **EFFECT OF NaCl ON PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF WHEAT AND MAIZE GENOTYPES**

**Khanishova M.A., Tagiyeva K.R., Azizov I.V.**

*Institute of Molecular Biology and Biotechnologies ANAS, Baku, Azerbaijan*

Salinity is one of the abiotic stress factors decreasing plant productivity. The salinization of soils over time is particularly dangerous. The limitation of agricultural and fertile lands is an obstacle to meeting the food requirements of the population. The purpose of the research was to study the effect of sodium chloride on the physiological and biochemical characteristics of wheat and maize genotypes, to identify varieties tolerant to salinity. The objects of the study were parental and hybrid wheat forms grown under normal and salinity (0,98% NaCl) conditions. The objects of the study were the genotypes of wheat Gobustan, Mirbashir-128, Barakatli-95, Garabagh, Gyrmzygul, Sharg and their generation hybrids Garabagh×Gobustan, Gobustan×Barakatli-95, Gobustan×Gyrmzygul, Barakatli-95×Gobustan, Gobustan×Garabagh, Garabagh×Mirbashir, Garabagh×Sharg. The object of research was also the genotypes of maize Zagatala-420, Zagatala-514, Zagatala-68, Gurur and first generation F<sub>1</sub> hybrid Zagatala-68×Gurur. To develop new, pure lines, salt tolerance of hybrids and parental forms was assessed based on physiological indices in the grain filling stage of the vegetation. When studying salt-tolerance of hybrids and parental forms, differences were detected in the relative amounts of chlorophyll (*a+b*), carotenoids, RWC, as well as the photochemical activity of chloroplasts. The effect of salt on the amount of chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, and carotenoids, which are the main physiological indicators, is manifested in different ways in both hybrids and parental forms. Based on the changes in the amount of pigments under salinity, the parental forms Garabagh, Gobustan, and Sharg were more tolerant. One of the most useful indicators of wheat is grain yield. High salt concentrations contributed to a decrease in grain yield. Among the genotypes, according to this indicator, the most salt tolerant were the hybrids Barakatli-95×Gobustan and Garabagh×Mirbashir-128. At a salt concentration of 150 mM, the content of pigments and the activity of chloroplasts in the Zagatala-420 and Zagatala-514 genotypes decreased, while in the Gurur and Zagatala-68 varieties they remained at the control level. At a salt concentration of 200 mM, the activity of photosystem II of the Zagatala-420 and Zagatala-514 genotypes decreases to a greater extent than in the Gurur and Zagatala-68 varieties. The Gurur and Zagatala-68 varieties and the Gurur×Zagatala-68 hybrid were found to be resistant to a salt concentration of 200 mM.

## PHENOLOGY AND APPLICATION OF *MACLURA AURANTIACA* NUTT. SPECIES IN ABSHERON CONDITIONS

Sadigova K.A., Gulizade S.F.

*Institute of Dendrology of ANAS, Baku, Azerbaijan*

**Abstract.** Phenological observations at different phases of vegetation on the species *Maclura aurantiaca* Nutt. introduced in Absheron and cultivated in cultural conditions (beginning of new shoots, budding phase (beginning, end), flowering phase (beginning, mass, end), fruit and maturation), the directions of use of the species were studied. The species *Maclura aurantiaca* Nutt., belonging to the genus *Maclura*, which has a multifaceted economic significance, decorative features and resistance to environmental factors, is widely used in the protection of greenery (laying fences and protective forest strips) in the dry subtropical climate of Absheron.

**Introduction.** In today's world, environmental protection is a pressing issue. Therefore, along with the development of the economy, raising the socio-cultural level of the population, the protection and rehabilitation of nature is always in the focus of the state. In solving such issues, it is important to improve the environment of residential areas and industrial enterprises, to build new recreation areas. In carrying out landscaping works, evergreen and deciduous trees and shrubs are widely used in accordance with local soil and climatic conditions, attracting attention with their decorative and exotic beauty. One of such plants is *Maclura aurantica* Nutt., which has a special place in the flora of Azerbaijan.

**Conclusion.** *Maclura aurantiaca* Nutt. is a very strong, long-lived plant. The composition of the fruits of this species is very rich, which allows it to be used in medicine for medicinal purposes. When branched, the tree can be shaped well. It is a valuable dye plant. As a result of scientific research, it became clear that the orange mackle type develops normally when provided with agro-technical care in the conditions of Absheron. Therefore, it is expedient to widely use the species *Maclura aurantiaca* Nutt., belonging to the genus *Maclura*, which has important economic diversity, decorative features and resistance to environmental factors, in the protection of greenery (laying fences and protective forest strips) in the dry subtropical climate of Absheron.

### Bibliographic references

1. Oruj Ibadli, Aliya Zargarli. What do you know about plant names? Baku, "Science", 2009, p. 26.
2. Mayis Gasimov, Tofiq Mammadov. Phytotherapy. Baku, "Science", 2014, p.51.
3. Mammadov TS Azerbaijan dendroflora, III volume, "Elm" edition, Baku, p. 246-248.
4. T.S. Mammadov, AS Ibrahimov, F.X. Nabiyeva. Taxonomic spectrum of Absheron flora. Baku, "Science", p. 254.
5. Methods of phenological observations in botanical gardens of the USSR // Bulletin. Ch. botaniy sada AN. USSR, 1979, issue 113, p. 3-8.
6. Ə.O. Iskenderov. Evaluation of perspectives of rare wood species of the Caucasus in the conditions of Absheron // Bullet GBS M .: Science, 1993, issue 169, p. 8-10.

## ФОТОСИНТЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ОВСА ПОСЕВНОГО НА РЕКУЛЬТИВИРОВАННЫХ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ЗАБОЛОЧЕННЫХ ПОЧВАХ

Бажин А.С., Нарушко М.В., Субботин А.М., Мальчевский В.А., Симонова Е.О.

ФГБУ Федеральный исследовательский центр Тюменский научный центр Сибирского отделения РАН, Тюмень, Россия.

Активное освоение нефтяных месторождений приводит к нарушению практически всех природных компонентов. Нефтяные разливы и отходы вошли в перечень наиболее стойких опасных загрязнителей, влияющих на все компоненты биоценоза [1]. Для рекультивации нефтезагрязненных земель используются различные методы – механические, химические, биологические. В этой связи актуален поиск экологически безопасных методов и подходов, не представляющих угрозы для жизни и здоровья человека и окружающей среды. В данной работе производили оценку влияния степени очистки нефтезагрязненных заболоченных почв в буровых шламах (контроль – 467,0 мг/кг (0,000467%); БШ-1 – 180 000,0 мг/кг (0,18%); БШ-2 – 140 000,0 мг/кг (0,14%); БШ-3 – 17 000,0 мг/кг (0,017 %); БШ-4 – 14 000,0 мг/кг (0,014%)) на фотосинтетическую активность овса посевного (*Avena sativa* L.) в условиях Крайнего Севера. Семена овса посевного высевали в буровой шлам разной степени очистки. Оценивалась всхожесть проростков, морфометрические показатели и содержание пигментов фотосинтеза: хлорофиллов *a* (Хл.*a*), *b* (Хл.*b*) и каротиноидов (*k*), соотношение Хл.*a*/Хл.*b*, отношение суммы хлорофиллов к каротиноидам (Хл.*a*+Хл.*b*)/*k*, сумму пигментов фотосинтеза Хл.*a*+Хл.*b*+*k*. Содержание пигментов фотосинтеза определяли стандартным методом на спектрофотометре «КФК-3» [2]. Установлено, что всхожесть семян *Avena sativa* L. и морфометрические показатели злаковых были снижены относительно контрольных показателей во всех опытных группах ( $p > 0,05$ ) и напрямую зависели от концентрации нефтепродуктов в почвах. Остаточное содержание тяжелых фракций нефтепродуктов ( $< 0,18\%$ ) в буровых шламах вызывает в овсе посевном повышение уровня хлорофилла *a* и *b* ( $p > 0,05$ ), коэффициентов (Хл.*a*+Хл.*b*)/*k* и Хл.*a*+Хл.*b*+*k* во всех вариантах эксперимента и снижение содержания каротиноидов и соотношения Хл.*a*/Хл.*b* ( $p > 0,05$ ).

Таким образом, использование злаковых культур (овса посевного) является перспективным, необходимым и экологически безопасным способом завершения рекультивационной очистки нефтезагрязненных заболоченных почв. А при использовании его с фитостимуляторами на основе бактерий, выделенных из дисперсных обводненных пород, перешедших в мерзлое состояние, значительно повысит эффективность рекультивационных мероприятий. Микроорганизмы, сохранившие жизнеспособность в течение длительного времени в условиях низких температур и замедленного метаболизма и вынужденные адаптироваться к неблагоприятным факторам среды, обладают высокой приспособляемостью к почвенно-климатическим условиям Западной Сибири.

Работа выполнена по госзаданию на 2021-2030 годы. «Пространственно-временные явления и процессы, протекающие в водах суши Сибири в условиях современного техногенеза и изменения климата» (Приоритетное направление 1.15.11. Программа 1.15.11.1).

### Библиографические ссылки

1. Петухова Г.А. Механизмы устойчивости организмов к нефтяному загрязнению среды // Монография. Тюмень: изд-во ТюмГУ, 2008. 172с.
2. Корнилов А.Л., Петухова Е.С. Биотестирование загрязненных сред: методы биотестирования и биоиндикации в оценке состояния окружающей среды // Издательство ТюмГУ, 2012. 41с.

## РЕАКЦИЯ ГЕНОТИПОВ *TRITICUM AESTIVUM* L. НА ОБРАБОТКУ СЕМЯН НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА ПО НАКОПЛЕНИЮ И ДЕГРАДАЦИИ ХЛОРОФИЛЛА В ЛИСТЬЯХ

Братенкова В.А., Мартынов А.А., Боме Н.А., Колоколова Н.Н.

ФГАОУ ВО «Тюменский государственный университет», Тюмень, Россия

На сортах яровой мягкой пшеницы, выращиваемых в агроценозах Тюменской области, изучается биологический эффект наносеребра [1]. Для понимания структурно-функционального состояния растений сортов Омская 36, Тюменская 29, Новосибирская 31 после обработки семян в растворах наночастиц серебра (Ag 0,5; 1,0; 1,5%; экспозиция 3 часа), определяли содержание хлорофилла в клетках флаговых листьев на разных стадиях фенологического развития (выход в трубку, колошение, цветение, молочная спелость, тестообразная спелость) с помощью оптического счетчика SPAD 502 Plus. Максимальное количество хлорофилла зарегистрировано в период колошение-цветение. При формировании зерновок наблюдалось начало деградации хлорофилла, которая была наиболее выражена в контроле, что указывает на более быстрое старение листьев.

На основании корреляционного анализа выявлена взаимосвязь между количеством хлорофилла в листьях и высотой растений, а также линейными размерами листьев (длина, ширина). Коэффициент корреляции с высотой растений за 2018-2021 гг. составил 0,53, при этом отмечено усиление связи в 2018 и 2019 гг. ( $r = 0,68$  и  $0,63$ ) и ослабление в 2021 г. ( $r = 0,32$ ). Устойчивая по годам исследования корреляция ( $r = 0,33$ ) отмечена с длиной флагового листа, которая в контроле составила 21,4-23,1 см. Под воздействием наночастиц увеличивалась длина листа у сорта Новосибирская 31 во всех вариантах, у сорта Омская 36 в варианте Ag 0,5%. Взаимосвязь между содержанием хлорофилла и шириной листа в среднем за 2018-2021 гг. незначительна ( $r = 0,04$ ), но она усиливается в засушливых 2018 г. ( $r = 0,36$ ) и 2021 г. ( $r = 0,16$ ). Ширина листовой пластинки максимальных значений (1,3 см) достигала при высокой концентрации Ag 1,5%. Наночастицы серебра способствовали увеличению содержания хлорофилла, снижали скорость старения флаговых листьев, что благоприятно отразилось на урожайности. Сопряженность между урожайностью и содержанием хлорофилла прослеживается во все годы исследования, при этом проявляется в большей степени в стрессовых условиях ( $r = 0,69$ , 2020 г.).

В 2020 г. при остром недостатке влаги на фоне высоких температур воздуха и почвы при визуальном обследовании состояния растений обнаружена антоциановая окраска стеблей и листьев у сортов Омская 36 и Тюменская 29 с наибольшим проявлением в вариантах с концентрацией (Ag 1,0% и 1,5%) Известно, что пшеница очень чувствительна к высоким температурам во время репродуктивной фазы, что в итоге отображается в зерновой продуктивности. Эти фенотипические эффекты обусловлены молекулярными модификациями на разных уровнях экспрессии генов и изменениями в накоплении метаболитов [2]. Предположительно, в нашем исследовании накопление антоцианов в стеблях растений способствовало активному поглощению солнечного света, снижая негативное влияние высоких температур и водного дефицита.

### Библиографические ссылки

1. Боме, Н.А. Фитоэффект на сортах *Triticum aestivum* L. Под воздействием наночастиц серебра / Н.А. Боме [и др.] // Биоантиоксидант: материалы X Междунар. конф., посвященной 105-летию со дня рождения академика Н.М. Эмануэля. Москва, 29 сентября-2 октября 2020 г. – М.: РУДН, 2020. – С. 10-11.
2. Leonardis, de A.M. Effects of Heat Stress on Metabolite Accumulation and Composition, and Nutritional Properties of Durum Wheat Grain / A. M. de Leonardis, M. Fragasso, R. Beleggia // International Journal of Molecular Sciences. – 2015. – Vol. 16. – P. 30382-30404.

## АРОМАТИЧНОСТЬ СВОБОДНЫХ ОСНОВАНИЙ КОРРОЛОВ В НИЖНЕМ ТРИПЛЕТНОМ Т<sub>1</sub> СОСТОЯНИИ

Вершиловская И.В.<sup>1</sup>, Гладков Л.Л.<sup>2</sup>, Кленицкий Д.В.<sup>1</sup>, Маев В.<sup>3</sup>, Крук Н.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный технологический университет, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Белорусская государственная академия связи, Минск, Беларусь

<sup>3</sup>Хассельтский университет, Хассельт, Бельгия

Ароматичность является одной из фундаментальных концепций в химии, которая определяет стабильность, реакционную способность, а также физико-химические характеристики молекулярных систем. Для ее количественной оценки применяются различные критерии, которые отражают влияние ароматичности на энергию молекулы, ее магнитные свойства, реакционную способность, структурные параметры и стабильность [1]. Макроцикл молекул порфиринов включает 26 π-электронов и сразу несколько контуров, содержащих 18, 22, или все 26 π-электронов, удовлетворяют правилу ароматичности Хюккеля  $[4n + 2]$ . Молекулы свободного основания коррола также обладают 26 π-электронами, удовлетворяющими правилу ароматичности Хюккеля  $[4n + 2]$ , как и макроцикл свободного основания порфирина. Однако, сокращение размеров, асимметрия, нарушение планарности, а также эффективная NH-таутомеризация в основном и возбужденных состояниях, свойственные корролам, значительно осложняют исследование формирования контура сопряженной π-электронной системы макроцикла, определяющей ароматические свойства этой молекулы. До настоящего времени формирование контура π-сопряжения в макроцикле свободных оснований корролов детально не рассматривалось. С использованием методов квантовой химии в данной работе рассчитана молекулярная геометрия NH-таутомеров свободного основания незамещенного коррола (H<sub>3</sub>K) и трех его производных: 7,13-диметил-8,12-ди-*n*-бутилкоррол (H<sub>3</sub>TAlkK), 2,3,7,13,17,18-гексаметил-8,12-ди-*n*-бутилкоррол (H<sub>3</sub>OAlkK), 10-(4,6-дихлоропиримидинил)-5,15-димезитилкоррол в основном электронном S<sub>0</sub> и нижнем триплетном T<sub>1</sub> состояниях. Для всех анализируемых веществ определена степень ароматичности NH-таутомеров, мерой которой выбран индекс ароматичности I<sub>НОМА</sub> [1]. Обнаружено, что при переходе из основного S<sub>0</sub> в нижнее триплетное T<sub>1</sub> электронное состояние наблюдается снижение ароматичности молекул всех анализируемых соединений. Полученные нами данные находятся в соответствии с правилом Берда об инверсии ароматичности при заселении триплетного T<sub>1</sub> состояния [1]. Сопоставление индексов ароматичности при переходе H<sub>3</sub>K → H<sub>3</sub>TAlkK → H<sub>3</sub>OAlkK иллюстрирует снижение ароматичности как у длинноволнового T<sub>1</sub>, так и у коротковолнового таутомера T<sub>2</sub> в основном S<sub>0</sub> состоянии, а также при заселении нижнего возбужденного триплетного состояния T<sub>1</sub>. Предполагается, что при присоединении к макроциклу коррола периферических заместителей, имеющих отрицательную константу Гаммета, происходит перераспределение электронной плотности между макроциклом и алкильными заместителями и изменение стабильности молекулы.

Таким образом, совокупность представленных результатов указывает на существенное снижение ароматичности при заселении нижнего триплетного T<sub>1</sub> состояния у NH-таутомеров свободных оснований корролов с различной архитектурой периферического замещения.

### Библиографические ссылки

1. Крук Н.Н. Строение и оптические свойства тетрапиррольных соединений. Минск, БГТУ, 2019. – 216 с.

## ВЛИЯНИЕ АРОМАТИЧНОСТИ НА NH-ТАУТОМЕРНОЕ РАВНОВЕСИЕ В СВОБОДНЫХ ОСНОВАНИЯХ КОРРОЛОВ

Вершиловская И.В.<sup>1</sup>, Кленецкий Д.В.<sup>1</sup>, Крук Н.Н.<sup>1</sup>, Гладков Л.Л.<sup>2</sup>, Маес В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный технологический университет, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Белорусская государственная академия связи, Минск, Беларусь

<sup>3</sup>Хассельтский университет, Хассельт, Бельгия

В настоящей работе изучено влияние периферического замещения на степень ароматичности NH-таутомеров свободного основания корролов. В качестве объектов исследования были выбраны NH-таутомеры свободного основания незамещенного коррола (Н<sub>3</sub>К) и производные соединений: замещенный по С<sub>m</sub>-положениям 5,10-мезитил-15-2,6-дихлоропиримидинил-коррол (Н<sub>3</sub>АВ<sub>2</sub>К), замещенные алкильными группами по С<sub>ь</sub>-положениям пиррольных колец макроцикла – 7,13-диметил-8,12-ди-*n*-бутилкоррол (Н<sub>3</sub>ТАлкК) и 2,3,7,13,17,18-гексаметил-8,12-ди-*n*-бутилкоррол (Н<sub>3</sub>ОАлкК). Был вычислен индекс ароматичности  $I_{НОМА}$  [1] для восьми различных контуров  $\pi$ -сопряжения, удовлетворяющих правилу ароматичности Хюккеля ( $4n + 2$ ): для четырех 18-электронных контуров ( $n = 4$ ), для трех 22-электронных ( $n = 5$ ) и для одного, включающего в себя все 26  $\pi$ -электронов ( $n = 6$ ). Индекс ароматичности был рассчитан для таутомеров Т1 и Т2 изученных молекул.

Обнаружено, что для всех соединений большие значения  $I_{НОМА}$  имеют 18-электронные контуры. Это свидетельствует о более эффективном сопряжении именно вдоль этих контуров. Сравнение индексов ароматичности показывает, что для всех изученных молекул длинноволновой таутомер Т1 оказался более ароматичным, чем коротковолновой таутомер Т2. Для Т1 таутомера незамещенного Н<sub>3</sub>К коррола доминирующим является контур 18-4 с максимальным значением  $I_{НОМА} = 0,665$ , а для Т2 таутомера этого же соединения контур 18-2 с  $I_{НОМА} = 0,642$ . Причем для Т1 таутомера имеются контуры сопряжения (18-1, 18-2) с практически одинаковыми значениями  $I_{НОМА}$ , которые близки по значению с доминирующим, чего не наблюдается для Т2 таутомера. Подобная ситуация имеет место и для мезо-замещенного Н<sub>3</sub>АВ<sub>2</sub>К коррола. Сравнение 26- и 22-электронных контуров Т1 и Т2 таутомеров Н<sub>3</sub>К и Н<sub>3</sub>АВ<sub>2</sub> корролов указывает, что степень сопряжения зависит от включения в контур сопряжения фрагментов, содержащих атомы азота пиррольных колец.

При алкилировании макроцикла по С<sub>ь</sub>-положениям пиррольных колец ароматичность молекулы уменьшается по сравнению с незамещенным Н<sub>3</sub>К и мезозамещенным Н<sub>3</sub>АВ<sub>2</sub> корролами как для Т1, так и для Т2 таутомеров. Ароматичность тетраалкилированного Н<sub>3</sub>ТАлкК коррола оказывается больше, чем у октаалкилированного Н<sub>3</sub>ОАлкК коррола. При этом по сравнению с незамещенным Н<sub>3</sub>К корролом у Т1 таутомера этих молекул изменяется доминирующий контур сопряжения, а для Т2 таутомера такого изменения не наблюдается.

Таким образом, изменение свойств NH-таутомеров корролов с различным типом периферического замещения связано с формированием различных контуров сопряжения вдоль макроцикла. Вследствие замещения наблюдается перераспределение электронной плотности между макроциклом и заместителями, которые могут быть в общем случае, как донорами, так и акцепторами электронной плотности.

### Библиографические ссылки

1. Крук Н.Н. Строение и оптические свойства тетрапиррольных соединений. Минск, БГТУ, 2019. – 216 с.



## ХАРАКТЕРИСТИКА КАРОТИНОИДОВ ТИЛАКОИДНЫХ МЕМБРАН ЦИАНОБАКТЕРИИ *ARTHROSPIRA PLATENSIS*

Вечтомова Ю.Л.<sup>1</sup>, Телегина Т.А.<sup>1</sup>, Нехорошев М.В.<sup>2</sup>, Геворгиз Р.Г.<sup>2</sup>, Крицкий М.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского» РАН, Севастополь, Россия

Цианобактерии и, в частности *Arthrospira platensis* (спирулина), синтезируют разнообразные каротиноиды, которые находятся в цитоплазматической и наружной мембранах, в тилакоидных мембранах, а также в составе водорастворимых каротиноид-белковых комплексов [1, 2]. Показано, что в спирулине присутствуют  $\beta,\beta$ -каротин (35%), зеаксантин (31%), миксоксантофилл (31%) и осциллоксантин (3%) в виде гликозидов, эхиненон (2%), 3-гидрокси-эхиненон (1%),  $\beta,\beta$ -каротин-5,8-эпоксид (2%) и криптоксантин (2%) [2]. Каротиноидный пул цианобактерий подвержен значительным вариациям в зависимости от условий освещения и наличия тех или иных веществ, определяющих жизненные процессы цианобактерий. В составе комплексов с белками каротиноиды могут выполнять различные функции: структурные, фотопротекторные, антенные.

Нами был разработан метод выделения каротиноид-белковых комплексов из тилакоидов цианобактерии *Arthrospira platensis* (спирулина) с использованием ультрацентрифугирования при 220000 g в градиенте водного раствора сахарозы. Было получено несколько фракций, содержащих каротиноид-белковые и хлорофилл-каротиноид-белковые комплексы. Выделенные фракции анализировали методами спектроскопии в ИК, видимой и УФ областях спектра и КД-спектроскопии. Особое внимание было уделено каротиноид-белковому комплексу, который выпадал в нерастворимый осадок при ультрацентрифугировании в градиенте сахарозы (20%-50%), поскольку нерастворимый комплекс ранее был получен из сухой биомассы спирулины разработанным нами методом с использованием экстракции смесью Фолча [3]. Методом ВЭЖХ показано, что в составе нерастворимого в воде комплекса находятся ксантофиллы: миксоксантофилл и осциллоксантин. Осадок, полученный при ультрацентрифугировании, а также комплекс, полученный по методу Фолча, были охарактеризованы методами инфракрасной Фурье спектроскопии (FTIR) и широкополосного когерентного антистоксового рамановского рассеяния (VCARS). Обсуждены предполагаемые функции выделенных каротиноид-белковых комплексов в составе тилакоидных мембран цианобактерии *Arthrospira platensis*.

Работа была поддержана РНФ (грант № 21-74-20155).

### Библиографические ссылки

1. Телегина Т.А., Бирюков М.В., Терехова И.В. и др. Выделение и характеристика водорастворимых хромопротеинов цианобактерии *Arthrospira platensis*: С-фикоцианина, аллофикоцианина, каротиноид- и хлорофилл-связывающих белков. // Прикл. биохим. микробиол. 2018. Т. 54. Вып. 6. С. 594-602.
2. Aakermann T., Skulberg O.M., Liaen-Jensen S. A Comparison of the Carotenoids of Strains of *Oscillatoria* and *Spirulina* (Cyanobacteria) // Biochem. System. Ecol. 1992. Vol. 20. № 8. P. 761-769.
3. Телегина Т.А., Геворгиз Р.Г., Нехорошев М.В., и др. Спектральные характеристики каротиноидов из цианобактерии *Arthrospira platensis* в условиях адаптивного ответа на обезвоживание. // Акт. вопр. биол. физ. и хим. 2018. Т. 3. Вып. 4. С. 706-710.

## ВЛИЯНИЕ ГРИБА *BIPOLARIS SOROKINIANA* SACC. (ШОЕМ.) НА КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ ПАРАМЕТРАМИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ХЛОРОПЛАСТОВ И ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТАТУСА У ПРОРОСТКОВ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ

Викс Т.Н., Кабашникова Л.Ф.

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Исследование механизмов иммунного ответа растений приобретает все большее практическое значение в интегрированной защите культурных растений во всем мире. Выявление корреляционных взаимосвязей между защитными реакциями растений при патогенезе и функциональным состоянием хлоропластов имеет важное значение для понимания механизмов адаптации растений при биотическом стрессе.

Исследования проводили на зеленых проростках ярового ячменя сорта Рейдер, выращенных на водопроводной воде при 22 °С в течение разного времени. Длина светового периода полихроматического белого света (120 мкмоль квантов м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>) составляла 16 ч. Часть растительного материала заражали грибом *Bipolaris sorokiniana* путем равномерного опрыскивания водным раствором, содержащим 10<sup>6</sup> спор/мл. Анализ проводили через 24 ч после инокуляции патогеном. При статистической обработке данных для подсчета коэффициента корреляции  $r$  использовали программу *Statistica 10.0* (StatSoft).

Фотосинтетические пигменты являются структурными компонентами фотосинтетических мембран и обеспечивают преобразование энергии света при фотосинтезе. Известна тесная положительная взаимосвязь между суммарным содержанием хлорофиллов и каротиноидов, что подтверждено и в наших экспериментах. Так, у 5-дневных молодых и 12-дневных стареющих проростков ячменя уровень корреляции между содержанием зеленых и желтых пигментов составил ( $r = 1$ ) как в здоровых, так и в инфицированных листьях. У зрелых 9-дневных проростков в контрольных образцах также наблюдалась высокая положительная корреляция ( $r = 1$ ) между этими параметрами, но в инфицированных растениях отмечено снижение корреляционной зависимости ( $r = 0,65$ ), что свидетельствует о нарушении сопряженности биосинтеза фотосинтетических пигментов. Положительная корреляционная взаимосвязь также выявлена между содержанием каротиноидов и активных форм кислорода (АФК) у инфицированных проростков, величина которой снижалась в онтогенезе: у 5-дневных ( $r = 0,99$ ); у 9-дневных ( $r = 0,77$ ) и у 12-дневных ( $r = 0,63$ ).

Установлена отрицательная взаимосвязь между активностью перекисного окисления липидов (ПОЛ) и общим содержанием АФК у здоровых ( $r = -0,97$ ) и инфицированных ( $r = -1$ ) 5-дневных проростков, а также у инфицированных 9-дневных проростков ( $r = -1$ ). У инфицированных 12-дневных растений эта взаимосвязь оказалась положительной и достигала высоких значений ( $r = 1$ ). У 5-дневных здоровых проростков выявлена тесная положительная корреляция между коэффициентом эффективности фотосинтеза, суммарным содержанием хлорофиллов ( $r = 0,96$ ) и активностью ПОЛ ( $r = 1$ ), а также активностью антиоксидантных ферментов – пероксидазы ( $r = 1$ ) и аскорбатпероксидазы ( $r = 1$ ). Положительная корреляция получена между скоростью видимого фотосинтеза и активностью пероксидазы у молодых и зрелых листьев ячменя, однако у стареющих проростков она оказалась отрицательной: у здоровых ( $r = -0,99$ ) и у инфицированных ( $r = -0,77$ ) растений.

Таким образом, корреляционный анализ параметров структурно-функционального состояния хлоропластов и окислительного статуса у проростков ячменя позволил выявить разную степень их взаимодействия, как в онтогенезе проростков, так и при инфицировании патогенным грибом *Bipolaris sorokiniana*.

# ВЛИЯНИЕ СОЛЕВОГО СТРЕССА НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГЕНОТИПОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Ибрагимова У.Ф.

Институт молекулярной биологии и биотехнологий НАН Азербайджана, Баку,  
Азербайджан

Засоленность почвы, являясь одним из экстремальных факторов окружающей среды, оказывает серьезное влияние на развитие и продуктивность сельскохозяйственных растений [1]. В мире каждый год миллионы тонн сельскохозяйственной продукции теряются по причине засоленности почв. Высокая засоленность, являясь причиной осмотического, ионного и окислительного стрессов, приводит к гибели растения [2]. Осмотический стресс как проявление дефицита воды является причиной ослабления тургора, увядания, закрытия устьиц, приостановки роста клеток. С другой стороны, негативное влияние ядовитых ионов таких как  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$ , которые накапливаются в клетках в избыточном количестве, приводит к нарушению нормального течения метаболических процессов. Солевой стресс также приводит к окислительному стрессу, происходящему за счет возникновения активных форм кислорода. В этот момент в различных компонентах клетки происходят изменения: мембраны повреждаются, образуются пероксиды липидов, активность ферментов снижается, белки окисляются и в ДНК имеют место повреждения [3].

В проведенной нами исследовательской работе изучены свойства устойчивости к засолению 4 различных генотипов вида *Triticum aestivum* L., полученные путем биохимических анализов.

В листьях растений  $\text{NaCl}$  становился причиной снижения содержания ионов  $\text{K}^+$  и увеличения содержания ионов  $\text{Na}^+$ . В подвергнутых стрессу растениях по сравнению с контролем самое высокое соотношение  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  было отмечено в генотипах Мирбашир-128 и Гобустан, а самое низкое – в генотипах Фатима и Зирве-80. Во всех исследованных нами генотипах содержание МДА под воздействием  $\text{NaCl}$  повышалось. В чувствительных генотипах содержание МДА по сравнению с контролем было в 2,3-3,4 раза выше. В устойчивых сортах же это увеличение не превышало 1,6 раза.

150 мМ концентрация  $\text{NaCl}$  вызывала резкое повышение содержания пролина и растворимых сахаров. В генотипах Мирбашир-128 и Гобустан содержание пролина по сравнению с контролем было выше в 4,1-4,6 раза, а в генотипах Фатима и Зирве-80 – было выше в 1,9-2,2 раза. Содержание растворимых сахаров у генотипов Мирбашир-128 и Гобустан было выше соответственно в 1,6-1,7 раз, в то время как у генотипов Фатима и Зирве-80 в 1,2 раз выше. Эти результаты показывают, что генотипы Мирбашир-128 и Гобустан во время солевого стресса способны лучше защищаться от окислительного повреждения.

## Библиографические ссылки

1. Sun ZW, Ren LK, Fan JW, Li Q, Wang KJ, Guo MM, Wang L, Li J, Zhang GX, Yang ZY, Chen F, Li X.N. Salt response of photosynthetic electron transport system in wheat cultivars with contrasting tolerance. *Plant Soil Environ.* 2016; 62: 515-521.
2. Zeehan M., Lu M., Sehar Sh., Holford P, Wu F. Comparison of biochemical, anatomical, morphological and physiological responses to salinity stress in wheat and barley genotypes differing to salinity tolerance. *Agronomy*, 2020;10:127.
3. Isayenkov SV, Maathuis FJM (2019) Plant Salinity Stress: Many Unanswered Questions Remain. *Frontiers in Plant Science* 10.

## СПЕКТРЫ РЕЗОНАНСНОГО КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ И СТРУКТУРА Ni-КОМПЛЕКСОВ РЯДА ПОРФИРИНОВ В ОСНОВНОМ И В ФОТОВОЗБУЖДЕННЫХ СОСТОЯНИЯХ

Ивашин Н.В., Терехов С.Н.

*Институт физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Фотовозбужденные Ni-комплексы порфиринов, как и многие металлопорфирины с открытой оболочкой, быстро релаксируют через несколько электронных состояний. Некоторые из них включают изменения электронной конфигурации атома металла и могут быть использованы в каталитических целях. Наиболее информативными методами идентификации такого рода состояний являются рентгеновская [1] и РКР спектроскопия [2] с временным разрешением. При определенных условиях возбуждения такие состояния могут быть заселены и зарегистрированы с использованием обычного метода РКР. Целью данной работы являлось установление природы таких возбужденных состояний и их структурных особенностей на примере Ni(II)-октаалкилпорфиринов и их моно-мезо-метил производных с использованием методов РКР и молекулярного моделирования.

Проведено квантово-химическое моделирование структуры и колебательных состояний Ni-комплексов ряда порфиринов в основном и в возбужденных состояниях, соответствующих заселению вакантной  $d_{x^2-y^2}$  орбитали. Показано, что для конфигураций  $(a_{1u}, d_{x^2-y^2})$ ,  $(a_{2u}, d_{x^2-y^2})$ ,  $(d_{z^2}, d_{x^2-y^2})$  и  $(d_{xy}, d_{x^2-y^2})$  имеет место расширение макроцикла, приводящее к понижению структурно чувствительных частот колебаний  $\nu_{10}$ ,  $\nu_2$ ,  $\nu_3$ ,  $\nu_4$ . Полученные данные позволяют соотнести спектр РКР Ni-ОЭП, регистрируемый спустя 3 пс после  $\pi\pi^*$  фотовозбуждения макроцикла [2], с заселением конфигурации  $(a_{2u}, d_{x^2-y^2})$ , соответствующей переносу заряда с макроцикла на центральный атом металла. Спектр РКР Ni-ОЭП с задержкой  $\sim 100$  пс, а также аналогичный спектр, регистрируемый при импульсном наносекундном фотовозбуждении в режиме насыщения, хорошо соответствуют рассчитанному спектру в конфигурации  $(d_{z^2}, d_{x^2-y^2})$ .

На примере ряда Ni(II)-этиопорфиринов (Ni-ЭП) и их моно-мезо-метил производных рассмотрено влияние стерического напряжения в одном из мезо-положений на структуру и частоты колебаний  $\nu_{10}$ ,  $\nu_2$ ,  $\nu_3$ ,  $\nu_4$  в основном и в возбужденном  $d_{z^2} \rightarrow d_{x^2-y^2}$  состояниях. Показано, что в основном состоянии для мезо-производных характерно небольшое вытяжение макроцикла вдоль оси  $C_m(CH_3)-C_m(H)$  и значительное неплоскостное искажение макроцикла по типу рифления. Переход в электронную конфигурацию  $(d_{z^2}, d_{x^2-y^2})$  сопровождается существенным уменьшением деформации рифления. Большое различие конформаций в основном и в возбужденном состояниях  $d_{z^2} \rightarrow d_{x^2-y^2}$  для мезо-производных Ni-ЭП позволяет предположить его меньшее время жизни в сравнении с таковым для Ni-ЭП.

Работа выполнена при финансовой поддержке ГПНИ «Фотоника и электроника для инноваций 1.8».

### Библиографические ссылки

1. Shelby M.L., Lestrangle P.J., Jackson N.E. et. al. Ultrafast excited state relaxation of a metalloporphyrin revealed by femtosecond x-ray absorption spectroscopy // JACS. 2016. Vol. 138. P. 8752–8764.
2. Kruglik S.G., Mizutani Y., Kitagawa T. Time-resolved resonance Raman study of the primary photoprocesses of nickel(II) octaethylporphyrin in solution // Chem. Phys. Lett. 1997. Vol. 266. P. 283–289.

МЕХАНИЗМ ЗАВИСИМОСТИ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ СВОЙСТВ  
ТЕТРААРИЛТЕТРАЦИАНОПОРФИРАЗИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ ОТ  
ВЯЗКОСТИ

Ивашин Н.В.

*Институт физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

К настоящему времени предложены методы, позволяющие осуществлять динамический мониторинг изменения вязкости в клетках раковой опухоли животных в процессе фотодинамической терапии с целью контроля степени ее разрушения [1, 2]. В качестве фотосенсибилизатора с сенсорной функцией вязкости был предложен тетраарилтетрацианопорфиразин  $Pz(Ph)_4(CN)_4$  и его производные [1]. Установлено, что такие соединения сочетают в себе функции фотосенсибилизатора и флуоресцентного сенсора, хорошо накапливаются в околядерной области опухолевых клеток и обладают фотодинамическим эффектом. Целью данной работы было установление механизма влияния вязкости на флуоресцентные свойства  $Pz(Ph)_4(CN)_4$  и его модификаций на основе молекулярного моделирования их структуры в основном и в возбужденных состояниях с учетом макроскопических и специфических взаимодействий с растворителем.

С этой целью проведены квантово-химические расчеты конформационной структуры в основном и в возбужденных состояниях  $Pz(Ph)_4(CN)_4$  и его производных. Показано, что в отсутствие специфических взаимодействий с растворителем для данных соединений характерна плоская структура макроцикла как в основном, так и в возбужденном  $S_1$ -состоянии. Среди низколежащих возбужденных состояний отсутствуют таковые, заселение которых может приводить к тушению флуоресценции за счет заметного изменения положения фенильных колец относительно макроцикла по торсионной координате. Это позволяет исключить отнесение данных соединений к флуоресцентным роторам, как это предполагалось ранее. Установлено, что  $Pz(Ph)_4(CN)_4$  и его производные в растворе образуют сольватные комплексы с кислородсодержащими молекулами растворителя (вода, метанол, этанол, глицерин, тетрагидрофуран) с участием атомов Н и N пиррольных и пирролениновых колец соответственно. Для данных комплексов характерно неплоскостное искажение макроцикла, которое существенно увеличивается в  $S_1$ -состоянии и приводит к большим смещениям периферических заместителей перпендикулярно макроциклу. Конформационная динамика в  $S_1$ -состоянии сопровождается уменьшением энергетического зазора  $\Delta E(S_0-S_1)$ , увеличением спин-орбитального взаимодействия между возбужденными состояниями, а также ангармоничности валентных NH-колебаний. Все эти факторы приводят к уменьшению времени жизни флуоресценции ( $\tau_F$ )  $Pz(Ph)_4(CN)_4$  и их производных в растворе, способствуют зависимости  $\tau_F$  от вязкости среды.

Автор благодарит Вычислительный центр НАН Беларуси за предоставленную возможность проведения расчётов. Работа выполнена при финансовой поддержке ГПНИ «Фотоника и электроника для инноваций 1.8».

#### Библиографические ссылки

1. M. A. Izquierdo, A. Vyšniauskas, Lermontova S. A. et. al Dual use of porphyrazines as sensitizers and viscosity markers during photodynamic therapy // J. Mat. Chem. B. 2015. Voll. 3. P. 1089–1096.
2. Shimolina L.E., Izquierdo M.A., López-Duarte I. et. al. Imaging tumor microscopic viscosity *in vivo* using molecular rotors // Sci. Rep. 2017. 7, 41097; doi: 10.1038/srep41097.

## ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ *CHLORELLA VULGARIS* ПРИ ДОБАВЛЕНИИ $MnCl_2$ В ПИТАТЕЛЬНУЮ СРЕДУ

Ильчук И.А., Никандров В.Н.

Полесский государственный университет, Пинск, Беларусь

Как было выявлено в предыдущих исследованиях при накоплении внутриклеточного белка культура *Ch. vulgaris* в процессе роста и развития проходит функционально-метаболические перестройки, ярко выраженные в интервалах 10-16, 16-22 и 22-40-е сутки. Добавление  $MnCl_2$  в питательную среду в зависимости от концентрации способно изменять характер указанных перестроек [1]. Полученные данные продиктовали необходимость выяснения динамики уровня фотосинтетических пигментов в клетках хлореллы при аналогичных условиях роста. Расчет концентраций пигментов проводили, как описано нами ранее [2]. Исследования выполнены девятикратно, обработаны статистически. В тексте приведены только достоверные данные при  $p \leq 0,05$ .

В интервале 1-7 сутки при всех концентрациях  $MnCl_2$  или при его отсутствии (контроль), наблюдался рост накопления хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов на 39-118, 38-151 и 32-108% соответственно (с максимумом при концентрации  $Mn^{2+}$  0,01 мг/л).

В интервале 10-16 сутки также отмечен рост уровня пигментов во всех исследуемых вариантах: хлорофилла *a* на 16-83%, хлорофилла *b* на 20-101% и каротиноидов на 18-101% (максимальный рост – при концентрации  $Mn^{2+}$  25,00 мг/л).

В интервале 16-22 сутки в контроле и при концентрациях эффектора 0,01-0,10 мг/л выявлен рост накопления хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов на 15-46, 11-52% (максимальный сдвиг – при концентрации  $Mn^{2+}$  0,10 мг/л) и 18-36% (с максимумом при концентрации  $Mn^{2+}$  0,05 мг/л) соответственно. В данный период при концентрациях  $Mn^{2+}$  1,00-25,00 мг/л содержание пигментов снижалось: хлорофилла *a* на 27-47%, хлорофилла *b* на 38-59%, и каротиноидов на 37-58% (с максимумом при концентрации  $Mn^{2+}$  25,0 мг/л). При концентрации эффектора 0,50 мг/л в период 16-22 сутки существенных изменений содержания пигментов фотосинтеза не происходило.

В интервале 22-40 сутки в контроле (кроме хлорофилла *b*, спад его уровня на 13%) и при концентрациях  $Mn^{2+}$  0,025 и 0,50 мг/л (кроме каротиноидов, их рост на 24%) существенных изменений содержания исследуемых пигментов не установлено. При концентрациях эффектора 0,01, 1,00-25,00 мг/л в данный период наблюдался рост уровня хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов на 16-125, 31-161 и 31-151% соответственно (максимальные изменения выявлены при концентрации  $Mn^{2+}$  5,00 мг/л). В указанном временном интервале при концентрациях  $Mn^{2+}$  0,05 и 0,10 мг/л установлено снижение уровня фотосинтетических пигментов: хлорофилла *a* на 21 и 21% соответственно, хлорофилла *b* на 21% (при концентрации  $Mn^{2+}$  0,05 мг/л), и каротиноидов на 16 и 13% соответственно.

Полученные результаты четко демонстрируют, что периоды структурно-метаболических перестроек в клетках культуры *Ch. vulgaris*, выявленные по сдвигам концентрации белка, практически совпадают со сдвигами уровня фотосинтетических пигментов и также зависят от концентрации катионов  $Mn^{2+}$  в среде культивирования.

### Библиографические ссылки

1. Ильчук, И.А., Никандров В.Н. Рост культуры хлореллы (*Chlorella vulgaris*) и накопление белка при добавлении  $MnCl_2$  в питательную среду // Весн. Полес. дярж. ун-та. Сер. прыродазн. навук. 2018. № 1. С. 53–64.
2. Ильчук, И.А., Никандров В.Н. Методические рекомендации по изучению биохимических свойств одноклеточных зеленых водорослей (на примере *Chlorella vulgaris*). Пинск: ПолесГУ, 2020. – 29 с.

## **ВЛИЯНИЕ СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА СВЕТОДИОДНЫХ ЛАМП НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ, МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАСТЕНИЙ БАЗИЛИКА, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ФЕНИЛПРОПАНОИДНЫМ МЕТАБОЛИЗМОМ**

**Кабачевская Е.М.<sup>1</sup>, Суховаева С.В.<sup>1</sup>, Трофимов Ю.В.<sup>2</sup>, Баркун М.Ю.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

<sup>2</sup>*Центр светодиодных и оптоэлектронных технологий НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Среди множества вторичных метаболитов, синтезируемых в растениях, важное место занимают фенольные соединения, в том числе класс фенилпропаноидов. Их образование характерно практически для всех видов растений, так как они выполняют ряд значимых функций в растительной клетке, в том числе укрепление барьерных свойств клеточной стенки, мощная антиоксидантная и антимикробная активность. Кроме того они придают многим видам растений ценные пряно-ароматические свойства.

В связи с высокой биологической активностью фенилпропаноидов актуальным представляется изучение механизмов регуляции их метаболизма, в том числе на уровне экспрессии генов, кодирующих ферменты фенилпропаноидного пути (ФП), при действии различных факторов внешней среды. В данной работе приводятся результаты исследований динамики изменений экспрессии некоторых генов, ассоциированных с ФП, а также биохимических и морфометрических параметров растений базилика при действии такого ключевого для растений физического сигнала как свет.

Изучалось влияние спектрального состава освещения на экспрессию генов 4-кумарат-СоА лигазы (4CL) и эугенолсинтазы (EGS) в листьях растений базилика зеленого и фиолетового сортов, выращиваемых в условиях закрытой светокультуры. Оценивалось влияние трех вариантов спектра, различающихся по соотношению «красной» области ФАР к «синей» (от 2,0 до 3,1 в энергетической СИ). Дополнительно проведен сравнительный анализ зависимости от светового спектра общего содержания фенольных соединений, оксикоричных кислот, антоцианов, а также контроль изменений морфометрических параметров (скорость роста, площадь, плотность листовой пластинки). Полученные данные свидетельствуют о том, что тестируемые варианты спектра могут модулировать экспрессию генов, ассоциированных с накоплением фенилпропаноидов, содержание различных групп фенольных соединений и параметры роста. Четкой синхронности в динамике изменений двух исследованных генов не выявлено, то есть, если менялась экспрессия одного из первичных генов ФП – 4CL, это не обязательно приводило к изменениям в том же направлении экспрессии гена синтеза эугенола EGS (одного из конечных этапов превращения фенилпропаноидов). Выявлены спектры более эффективные в стимуляции роста, накоплении биомассы растительной ткани, а также накоплении отдельных групп фенольных соединений.

Полученные данные свидетельствуют о том, что экспрессия генов, ассоциированных с метаболизмом фенилпропаноидов, накопление фенилпропаноидных метаболитов, а также морфометрические показатели растений базилика могут модулироваться при изменении спектрального состава светодиодных осветительных установок при выращивании растений в условиях закрытой светокультуры. Подбор спектрального состава светодиодных ламп, наиболее эффективный для функционирования систем внутриклеточных процессов, позволит оптимизировать выращивание растений и накопление в них ценных метаболитов.

## ПРИРОДНЫЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СОЕДИНЕНИЯ: МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ НА РАСТЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ В АГРОТЕХНОЛОГИЯХ

Кабашикова Л.Ф.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Управление иммунной системой – новое наукоемкое направление защиты растений от фитопатогенов. В докладе изложены современные научные представления о молекулярно-клеточных механизмах формирования иммунного ответа при инфицировании растений грибными патогенами. Рассмотрены механизмы действия природных индукторов болезнеустойчивости растений – салициловой кислоты (СК),  $\beta$ -аминомасляной кислоты ( $\beta$ -АМК) и  $\beta$ -1,3-глюкана на растения злаковых и овощных культур при патологических процессах, вызванных возбудителями корневых гнилей [1]. Показано, что инфицирование растений ярового ячменя грибом *Bipolaris sorokiniana* Sacc. Shoem., возбудителем темнотурной пятнистости, вызывает защелачивание апопласта на 1,7 единиц рН и развитие окислительного стресса в клетках мезофилла листа, что приводит к активации перекисного окисления липидов в мембранах и нарушению фотосинтетических процессов. Природные иммуномодуляторы индуцируют защитную систему растений ячменя путем активации антиоксидантных ферментов – пероксидазы и аскорбатпероксидазы, а также увеличения экспрессии генов PR-белков –  $\beta$ -1,3-глюканазы (glu) и хитиназы (cht2). Под действием СК наблюдали также повышение активности других компонентов защитного ответа растений ячменя при патогенезе – мембранной НАДФН-оксидазы и L-фенилаланинаммонийлиазы – ключевого фермента синтеза защитных фенольных соединений. Изученные соединения вызывают прайминг защитных реакций в листьях ячменя, участвуя в системе регуляции рН и генерации АФК, стабилизируют окислительные и фотосинтетические процессы в клетках мезофилла ячменя при инфицировании, что обеспечивает статистически надежное снижение количества пораженных растений.

Установлены механизмы иммунного ответа в листьях томата и огурца при фузариозном увядании, вызванном грибом *Fusarium oxysporum*, и защитная роль СК,  $\beta$ -АМК и  $\beta$ -1,3-глюкана в стабилизации структурно-функционального состояния растительных клеток при патогенезе [2]. Полученные результаты реализованы при создании регулятора роста растений нового поколения «ИММУНАКТ-ГК», обеспечивающего стимуляцию роста и повышение урожайности зерновых и овощных культур, что способствует развитию в республике высокоэффективных агротехнологий защиты растений со сниженным экологическим риском [3].

### Библиографические ссылки

1. Природные индукторы устойчивости растений к фитопатогенам: научные и практические аспекты применения / Л.Ф. Кабашикова и [др.] // Национальная академия наук Беларуси, Институт биофизики и клеточной инженерии. Минск: Беларуская навука, 2021. – 58 с.
2.  $\beta$ -1,3-glucan effect on the photosynthetic apparatus and oxidative stress parameters of tomato leaves under fusarium wilt / L.F. Kabashnikova [et al.]. // Functional Plant Biology. –2020. Vol. 47. Issue 11. P. 988-997.
3. Людмила Кабашикова. Иммунитет сельскохозяйственных растений и возможности его корректировки // Наука и инновации, 2022. №2. С. 36-40.



## ФОТОХИМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ФОТОСИСТЕМ В КЛЕТКАХ НАЕМАТОКОККУС ПЛУВИАЛИС ПРИ ДЕЙСТВИИ СВЕТА ВЫСОКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ

Козел Н.В., Медведева Е.И., Ковальчук В.А., Самович Т.В.

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Зеленая жгутиковая микроводоросль *Haematococcus pluvialis* (*H. pluvialis*) является одним из наиболее перспективных натуральных источников кетокаротиноида астаксантина – красного пигмента, широко используемого в сельском хозяйстве, пищевой, фармакологической промышленности, а также в косметологии благодаря его чрезвычайно высокой антиоксидантной активности. В клетках *H. pluvialis* содержание астаксантина достигает 5% от сухой массы водоросли, что делает этот микроорганизм весьма привлекательным для промышленной биотехнологии. Химически синтезированный астаксантин, представляющий смесь трех стереоизомеров, отличается от натурального структурно и обладает гораздо меньшей биоактивностью, чем натуральный пигмент. В связи с этим в последние годы значительно возрос интерес к производству *H. pluvialis*. Наиболее важной проблемой при культивировании этой микроводоросли в промышленных масштабах является повышение эффективности продукции ее клетками астаксантина. Известно, что наиболее эффективным стрессовым фактором, приводящим к индукции накопления астаксантина в клетках *H. pluvialis*, является действие света высокой интенсивности. Однако механизмы, лежащие в основе такого стрессового ответа, до конца не выяснены. Ключевую роль в адаптации клеток фотосинтезирующих организмов к действию света высокой интенсивности играют хлоропласты. В связи с этим исследование фотохимической активности фотосистем (ФС) в таких условиях в клетках *H. pluvialis* представляется весьма актуальным.

Методом РАМ-флуориметрии показано, что на ранних этапах развития окислительного стресса (2 суток инкубации суспензии клеток *H. pluvialis*) действие света высокой интенсивности приводит к существенному снижению фотохимической активности ФС 2. В частности, зарегистрировано двухкратное снижение показателя эффективности электронного транспорта (ETR II) в вариантах, инкубированных на свету высокой интенсивности, по сравнению с нормальным освещением. При этом, выявлено существенное снижение (на 40%) потенциального квантового выхода фотохимии ФС 2  $F_v/F_m$ , в то время как константа фотохимического тушения флуоресценции хлорофилла  $q_P$  снижалась на 25%, что указывает на преимущественное подавление активности ФС 2 за счет нарушения светосбора, а не функционирования электрон-транспортной цепи хлоропластов. В таких условиях квантовый выход диссипации энергии по нерегулируемому механизму ( $Y(NO)$ ) существенно увеличился на фоне снижения аналогичного показателя, характеризующего регулирующую составляющую нефотохимического тушения –  $Y(NPQ)$ , что указывает на деструкцию компонентов пигмент-белковых комплексов ФС 2. Фотохимическая активность ФС 1 в клетках *H. pluvialis*, инкубированных на свету высокой интенсивности, оставалась на уровне контроля.

Таким образом, установлено, что повышенному накоплению астаксантина в клетках *H. pluvialis*, индуцированному действием света высокой интенсивности, предшествует снижение фотохимической активности ФС 2 при отсутствии нарушения функционирования ФС 1. Подавление активности ФС 2 может быть следствием окислительного повреждения фотосинтетических мембран клеток *H. pluvialis*, вызванного действием света высокой интенсивности, а повышенный синтез астаксантина в таких условиях – один из защитных ответов клетки на фотоповреждение аппарата фотосинтеза.

## **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-НЕЗАВИСИМЫЙ МЕХАНИЗМ ИНДУКЦИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ЛИСТЯХ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ**

**Курьянчик Т.Г., Козел Н.В.**

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Засуха является одним из наиболее серьезных абиотических факторов, существенно снижающих эффективность производства продукции растениеводства. Недостаток воды вызывает развитие в клетках растений окислительного стресса, что в значительной степени влияет на продуктивность сельскохозяйственных культур. Целью данной работы являлось выяснение механизмов индукции окислительного стресса, вызванного засухой, в листьях растений ячменя.

В качестве объекта исследования в данной работе использовали 1-й лист 5-7-дневных зеленых проростков ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Аванс, а также в отдельных экспериментах засухоустойчивого сорта Бровар, выращенных в строго контролируемых лабораторных условиях в режиме 14 ч света (нормальная интенсивность 6000 лк, низкая – 2000 лк) и 10 ч темноты под люминесцентными лампами Philips TD-36/765 при температуре 23±1 °С и относительной влажности воздуха 35±2% в нормальных условиях (ежедневный полив водопроводной водой из расчета 25 мл воды на 300 г влажного грунта) и при засухе (растения не поливали с момента посадки в почву). Для оценки степени стрессового воздействия на растения ячменя почвенной засухи и условий освещенности анализировали динамику накопления в листьях опытных и контрольных вариантов активных форм кислорода (АФК) – их общего количества и пероксида водорода, в частности.

Выявлено зависимое от длительности стрессового воздействия увеличение общего количества АФК в листьях растений ячменя сорта Аванс как при нормальной, так и низкой освещенности. При анализе данных динамики накопления пероксида водорода в растениях ячменя, установлено, что при выращивании в условиях нормальной интенсивности света (как при нормальном водообеспечении, так и при засухе) наблюдалось повышенное содержание пероксида водорода (в среднем на 18,8%) по сравнению с растениями, выращенными в условиях низкой интенсивности света. Более низкое содержание H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в листьях растений ячменя при освещенности 2000 лк может быть следствием снижения активности фотосинтеза, в частности, работы фотосинтетической электронтранспортной цепи, которая является источником АФК, в том числе и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, в клетках зеленых тканей растений. Отметим отсутствие накопления повышенных количеств H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> на фоне увеличения содержания общего пула АФК при действии почвенной засухи независимо от длительности стрессового воздействия, что указывает на H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-независимый механизм индукции окислительного стресса.

Во второй серии экспериментов был проведен сравнительный анализ воздействия почвенной засухи на накопление АФК и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, в частности, в 7-дневных проростках ячменя двух сортов – сорте Аванс и референсном засухоустойчивом сорте Бровар. Так, в условиях засухи были выявлены более высокие количества общего пула АФК в листьях ячменя сорта Аванс по сравнению с Броваром, что указывает на более интенсивное развитие окислительного стресса в растениях этого сорта при недостатке влаги в почве. Также выявлено отсутствие накопления повышенных количеств H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> на фоне увеличения содержания АФК при действии почвенной засухи. Это указывает на инициацию окислительного стресса по пути образования синглетного кислорода, а не супероксидного радикала, являющегося предшественником H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. В связи с этим можно предположить, что хлоропласты играют ключевую роль в развитии окислительных процессов в растениях ячменя при засухе. Наиболее вероятным механизмом индукции окислительного стресса в таких условиях может быть запуск пигментами-фотосенсибилизаторами в хлоропластных мембранах фотодинамических реакций второго типа.

## 3D МОДЕЛИ НА ОСНОВЕ АЛЬГИНОВОЙ КИСЛОТЫ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *CHLORELLA VULGARIS*

Лазнев К.В.<sup>1</sup>, Авдеева Е.В.<sup>1</sup>, Игнатович Я.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт химии новых материалов НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

В современном мире ведутся активные поиски новых экологически безопасных источников энергии. Одним из самых перспективных сырьевых ресурсов является биомасса микроводорослей за счет быстрой скорости роста, высокой приспособляемости к окружающей среде, высокой эффективности фотосинтеза. На производство биомассы микроводорослей влияет ряд параметров, из которых наиболее важными являются: доступность питательных веществ, температура, освещенность [1]. Известно, что отношение площади поверхности к объему определяет интенсивность света, получаемого на единицу объема носителя, тем самым играя жизненно важную роль в процессе фотосинтетического роста микроводорослей [2]. Данная работа посвящена получению носителей, которые могут быть использованы для культивирования *Chlorella vulgaris*, методом экструзионной 3D печати гидрогелем на основе альгиновой кислоты.

С целью получения носителей для культивирования *C. vulgaris* была проведена 3D печать на 3D принтере Wanhao Duplicator 4S (Китай), модифицированного путем установки специальной экструзионной головки – шприцевого экструдера. В качестве экструзируемого материала использовали 5% раствор альгиновой кислоты в дистиллированной воде, приготовленный путём добавления гидроксида натрия во взвесь альгиновой кислоты по капле до её растворения. Параметры печати были заданы с помощью программы KISSlicer: разрешение 0,5 мм, плотность заполнения 100%, скорость печати 5 мм/с. Толщина слоя была равна разрешению. Значение диаметра прутка (filament diameter) в KISSlicer выбирали таким, чтобы обеспечивалась требуемая скорость экструзии  $\approx 1,25$  мкл/с. Температура стола, экструзируемого геля и окружающей среды составляла 25 °С. Модель имела форму трилистника кислицы, диаметр 30 мм, толщину 1,5 мм. Подложкой служил лист фильтровальной бумаги, пропитанный 2 М водным раствором  $\text{CaCl}_2$  и высушенный. После печати модель выдерживали 5 мин в 0,1 М водном растворе  $\text{CaCl}_2$ . Определение концентрации клеток осуществляли путем прямого подсчета в камере Горяева [3].

Установлено, что в течение 7 сут инкубации носителя при комнатной температуре на свету (окно южного фасада здания) в среде Тамия в геле происходила пролиферация *C. vulgaris* и в итоге количество клеток увеличивалось в 7,2 раза. Таким образом, сшитый ионами кальция альгинатный гель совместим с культурой *C. vulgaris* и обеспечивает её пролиферацию и рост биомассы при условии обеспечения хорошей диффузии газов и питательных веществ.

### Библиографические ссылки

1. Gouveia L. Microalgae as a Feedstock for Biofuels, Springer, 2011, 68 p.
2. Posten C., Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae, 2009, Eng. LifeSci.9(3), 185-177.
3. Владимирова, М. Г. Интенсивная культура одноклеточных водорослей / М. Г. Владимирова, В. Е. Семененко. – М. : Изд-во Акад. наук СССР, 1962. – 61 с.

## ДИМЕР ХЛОРОФИЛЛА В БЕЛКАХ СЕМЕЙСТВА WSCP – ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОР ОКИСЛЕНИЯ ДОНОРОВ ЭЛЕКТРОНА

Неверов К.В.<sup>1,2</sup>, Обухов Ю.Н.<sup>1,2</sup>, Малеева Ю.В.<sup>2</sup>, Крицкий М.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия*

<sup>2</sup> *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

Белки семейства WSCP (Water Soluble Chlorophyll-binding Proteins), в отличие от мембранных бактериохлорофилл-содержащих белков растений и бактерий, являются водорастворимыми комплексами, связывающими до 4-х молекул Хл *a* или Хл *a* + Хл *b*.

WSCP локализованы вне хлоропластов и не участвуют в фотосинтетическом преобразовании энергии, но Хл в их тетрамерных комплексах упакован в виде молекулярных димеров – аналогов «специальной пары» Хл (БХл) реакционных центров фотосистем (РЦ ФС), что может указывать на конвергентное сходство WSCP и РЦ.

Поскольку «специальная пара» в РЦ выполняет роль донора электрона в первичном фотохимическом акте, закономерен вопрос, способен ли димер Хл в WSCP фотоиндуцировать редокс-реакции в растворе. Несмотря на обнаруженную способность WSCP генерировать на свету возбужденное триплетное состояние Хл, фотохимические свойства этих белков изучены не были.

Для выяснения способности WSCP к индукции фотосенсибилизированных реакций, нами было изучено взаимодействие тетрамеров WSCP подклассов Па и Пб с донорами электрона, НАДН и аскорбатом. При облучении насыщенных воздухом растворов WSCP красным светом ( $\lambda \geq 650$  нм,  $I = 850$  мкЕ/м<sup>2</sup>с) наблюдалось эффективное окисление присутствовавшего в образце НАДН или аскорбата. В бескислородных условиях (продувка аргоном) фотоокислительные реакции достоверно не регистрировались. Освещение образцов в присутствии кислорода приводило к незначительному (до 10% за 15 мин экспозиции) падению полосы Хл в спектре поглощения, а также амплитуды димера Хл в спектрах кругового дихроизма. Это говорит о значительной фотоустойчивости как самого Хл в WSCP, так и его димерной структуры к образуемым в данной системе на свету активным формам кислорода. Константа скорости фотоокисления НАДН заметно не отличалась для WSCP подклассов Па (VoWSCP) и Пб (LvWSCP). Кинетика фотоокисления аскорбата при облучении VoWSCP была выше, чем НАДН, хотя последний является более сильным восстановителем. Это может указывать на наличие стерического фактора, определяющего доступность редокс-агентов к димеру Хл во внутреннем локусе WSCP.

Скорость сенсibilизированного WSCP фотоокисления НАДН уменьшалась при добавлении  $\text{NaN}_3$  – тушителя триплетного состояния и синглетного кислорода ( $^1\text{O}_2$ ). Это подтверждает ключевую роль  $^1\text{O}_2$ , генерируемого триплетно-возбужденным димером Хл, в окислении экзогенных доноров электрона при облучении холоформ WSCP.

Обнаруженная в данном исследовании фотосенсибилизующая активность димера Хл в WSCP открывает перспективу создания на базе этих белков моделей внутриклеточного сигналинга, а также разработки нового поколения фототерапевтических препаратов.

Работа поддержана фондом РФФ (грант № 21-74-20155).

## ФОТОФИЗИЧЕСКИЕ И ФОТОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ РЕГУЛЯТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ВИДИМОЙ ОБЛАСТИ СПЕКТРА НА КЛЕТКИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ

Плавский В.Ю.<sup>1</sup>, Дудина О.В.<sup>1</sup>, Плавская Л.Г.<sup>1</sup>, Третякова А.И.<sup>1</sup>, Микulich А.В.<sup>1</sup>, Собчук А.Н.<sup>1</sup>, Ананич Т.С.<sup>1</sup>, Крученюк Ю.В.<sup>1</sup>, Нагорный Р.К.<sup>1</sup>, Леусенко И.А.<sup>1</sup>, Якимчук С.В.<sup>1</sup>, Будевич А.И.<sup>2</sup>, Богданович Д.М.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт физики НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству, Жодино, Беларусь

В работе представлены данные, полученные с использованием различных типов клеток (эукариот, прокариот, клеток крови (эритроцитов), сперматозоидов), свидетельствующие, что в основе регуляторного действия оптического излучения низкой интенсивности видимой области спектра лежит изменение редокс-состояния клеток. Разработаны спектрально-флуоресцентные методы, позволившие обнаружить и идентифицировать в составе всех перечисленных типов клеток эндогенные фотосенсибилизаторы порфиринового и флавинового типов. Среди тетрапиррольных соединений, обладающих сенсibiliзирующими свойствами, в клетках преобладают безметалльные порфирины, такие как протопорфирин IX, копропорфирин III, уропорфирин III, а также цинковый комплекс протопорфирина IX. Концентрация указанных соединений чрезвычайно низка ( $C \leq 10^{-9}$  М); она зависит от типа клеток и условий их культивирования. Показано, что инициируемое светом образование активных форм кислорода (АФК), в результате возбуждения эндогенных сенсibiliзаторов способно влиять на протекание метаболических процессов в клетке. В зависимости от концентрации образующихся АФК (синглетный кислород, гидроперекись, супероксиданионрадикал) воздействие света может приводить как к стимуляции клеточных процессов, так и к их угнетению, а также инициировать летальный исход. Чаще всего дозовая зависимость таких процессов представляет собой типичную двухфазовую кривую, описываемую известным законом Арндта-Шульца: при малых дозах живой организм отвечает на воздействие стимуляцией; по мере возрастания дозы стимулирующий эффект достигает максимума, затем сменяется угнетением, а при дальнейшем увеличении дозы – наблюдается гибель организма.

Совокупность выполненных исследований показала способность оптического излучения сине-зеленой области спектра а) оказывать бактерицидное и бактериостатическое действие на грамотрицательные и грамположительные бактерии и грибки [1]; б) оказывать влияние (как в сторону стимуляции, так и инактивации) на функциональные характеристики сперматозоидов животных (подвижность, сохранность, оплодотворяющую способность) [2, 3]; в) изменять метаболическую активность соматических клеток; г) инициировать выход молекул гемоглобина через эритроцитарную мембрану в отсутствие экзогенных красителей-фотосенсибилизаторов.

### Библиографические ссылки

1. Plavskii V., Mikulich A., Tretyakova A. et al. Porphyrins and flavins as endogenous acceptors of optical radiation of blue spectral region determining photoinactivation of microbial cells // J. Photochem. Photobiol. B. 2018. Vol. 183. P. 172–183.
2. Plavskii V., Mikulich A., Barulin N. et al. Comparative effect of low-intensity laser radiation in green and red spectral regions on functional characteristics of sturgeon sperm // Photochem. Photobiol. 2020. Vol 96. P. 1294–1313.
3. Plavskii V., Barulin N., Mikulich A. et al. Effect of continuous wave, quasi-continuous wave and pulsed laser radiation on functional characteristics of fish spermatozoa // J. Photochem. Photobiol. B: Biology. 2021. Vol. 216, 112112.

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ НАКОПЛЕНИЯ ЭНДОГЕННЫХ ПОРФИРИНОВ РАКОВЫМИ И НЕТРАНСФОРМИРОВАННЫМИ КЛЕТКАМИ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Плавский В.Ю., Дудинова О.Н., Плавская Л.Г., Собчук А.Н., Третьякова А.И.,  
Микулич А.В., Ананич Т.С., Нагорный Р.К., Леусенко И.А., Якимчук С.В.

*Институт физики НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Цель настоящих исследований состояла в изучении накопления эндогенных порфиринов, обладающих сенсибилизирующими свойствами, раковыми клетками (клетки глиомы мозга крысы *Sb*; клетки эпителиоидной карциномы шейки матки *HeLa*) и нетрансформированными клетками (клетки почки зеленой африканской марьшишки *BGM*) в условиях *in vitro*. Кроме того, выполнены сравнительные исследования эффективности самосенсибилизированной инактивации указанных клеток (использовался калориметрический МТТ-анализ) при воздействии излучения синей области спектра за счет возбуждения эндогенных соединений, способных к генерации активных форм кислорода.

Для решения поставленных задач разработаны спектрально-флуоресцентные методы детектирования и идентификации эндогенных порфиринов в клетках различных типов. Решение указанной проблемы осложняется сильным рассеянием света клетками, интенсивным свечением эндогенных флавинов (флавиномононуклеотид, флавинаденидинуклеотид), чрезвычайно низкой концентрацией тетрапирролов ( $C < 10^{-9}$  М) и относительно низким квантовым выходом их флуоресценции (для протопорфирина IX в водном растворе  $\varphi < 0,01$ ). По этой причине для обнаружения эндогенных порфиринов производили их экстрагирование растворителями (ацетон, 3 М соляная кислота), в которых порфирины обладают достаточно высоким квантовым выходом флуоресценции ( $\varphi \approx 0,10-0,20$ ), а интенсивность люминесценции флавинов в той или иной степени потушена. Исследования показали, что среди флуоресцирующих тетрапиррольных соединений в клетках преобладают безметалльные порфирины (протопорфирин IX, копропорфирин III, уропорфирин III), а также цинковый комплекс протопорфирина IX. Установлено, что при одинаковой концентрации нетрансформированных и раковых клеток в суспензии (их концентрация оценивалась с помощью гемоцитометра), концентрация порфириновых фотосенсибилизаторов в супернатанте раковых клеток примерно в 1,5 раза выше.

Установлено, что несмотря на невысокую концентрацию указанных эндогенных порфиринов в клетках, они способны сенсибилизировать их инактивацию при воздействии в энергетической дозе 3-15 Дж/см<sup>2</sup> синего света (применялись светодиодные источники с длиной волны в максимуме спектра испускания  $\lambda_{\max} = 405, 440$  и 465 нм). Констатировано, что при воздействии излучения с длиной волны  $\lambda_{\max} = 405$  нм и  $\lambda_{\max} = 440$  нм отмечается дозависимое снижение метаболической активности клеток. При воздействии излучения  $\lambda_{\max} = 465$  нм в относительно низких энергетических дозах  $D = 4,5-7,5$  Дж/см<sup>2</sup> наблюдается незначительный, но достоверно регистрируемый ( $p < 0,05$ ) стимулирующий эффект, который практически не проявляется при увеличении дозы до  $D = 15$  Дж/см<sup>2</sup>. При одинаковой энергетической дозе максимальный ингибирующий эффект отмечается при воздействии на клетки излучения с длиной волны  $\lambda_{\max} = 405$  нм, соответствующей максимуму полосы Сорре порфиринов. Однако вклад в наблюдаемые биологические эффекты синего света могут вносить и эндогенные флавиновые фотосенсибилизаторы, что особенно проявляется при действии излучения с длиной волны  $\lambda_{\max} = 440$  нм, соответствующей максимуму спектра поглощения флавинов. Впервые показано, что основной вклад в инактивацию клеток синим светом вносит не синглетный кислород, а перекись водорода. При этом раковые клетки, накапливающие более высокие концентрации эндогенных порфиринов, характеризуются и большей чувствительностью к действию синего света по сравнению с нетрансформированными клетками.

## ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА И АДРЕСНАЯ ДОСТАВКА ФИТОХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ И ПАКЛИТАКСЕЛА, ИНКАПСУЛИРОВАННЫХ В ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ НАНОСИТЕЛИ

Плавский В.Ю.<sup>1</sup>, Дудинова О.Н.<sup>1</sup>, Плавская Л.Г.<sup>1</sup>, Собчук А.Н.<sup>1</sup>, Ананич Т.С.<sup>1</sup>, Третьякова А.И.<sup>1</sup>, Микулич А.В.<sup>1</sup>, Леусенко И.А.<sup>1</sup>, Якимчук С.В.<sup>1</sup>, Le Hang Dang<sup>2</sup>, Ngoc Quyen Tran<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт физики НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Институт наук о прикладных материалах Вьетнамской академии наук и технологий, Хошимин, Вьетнам

Одним из перспективных и стремительно развивающихся направлений современной фармакологии (в том числе в области онкологии) является адресная (таргетная) доставка лекарственных препаратов в клетки-мишени с помощью различных типов наночастиц. Цель настоящих исследований состояла в разработке метода повышения эффективности избирательной гибели раковых клеток за счет а) адресной доставки в клетки с помощью векторной компоненты наночастицы (фолата) двух типов противоопухолевых химиотерапевтических препаратов (ПОХТП): известного противоракового лекарства паклитаксел и одного из фитохимических соединений (куркумина, эпигенина или кверцетина), действующих на различные молекулярные мишени; б) способности к синергетическому взаимодействию ПОХТП и устранению причин, препятствующих увеличению в клетке концентрации паклитаксела; в) фотодинамической деструкции раковых клеток, сенсibilизированных ПОХТП, при воздействии излучения, соответствующего полосе поглощения лекарственного препарата.

Выполненные исследования с использованием метода конфокальной флуоресцентной микроскопии применительно к суспензии раковых клеток *HeLa* показали способность проникновения ПОХТП через клеточную мембрану и их локализации в отдельных компартментах раковой клетки. При этом для возбуждения флуоресценции куркумина использовался непрерывный лазер с  $\lambda = 457,9$  нм, а для возбуждения флуоресценции кверцетина и эпигенина – фемтосекундный лазер с  $\lambda = 745$  нм и  $770$  нм, соответственно, для реализации двухквантового возбуждения. Показано, что куркумин преимущественно локализован в области клеточной мембраны; кверцетин распределен по всему объему клетки и его преимущественной локализации в области клеточной мембраны не отмечается; эпигенин избирательно локализован в отдельных внутриклеточных органеллах, что подтверждается ярким локализованным свечением отдельных областей клеток. Установлено, что все исследованные ПОХТП в темновых условиях оказывают ингибирующее цитотоксическое действие, проявляющееся в снижении метаболической активности клеток (калориметрический МТТ-тест). Наиболее выраженным цитотоксическим эффектом характеризуется паклитаксел, обеспечивающий двукратное снижение метаболической активности при наномолярных концентрациях. При добавлении к клеткам куркумина, кверцетина или эпигенина двукратное снижение метаболической активности клеток наблюдается при концентрациях в десятки мкМ. Установлено, что среди всех исследованных ПОХТП сенсibilизирующим действием обладает только куркумин, способный инициировать фотодинамические эффекты по механизму типа I и II. Использование термочувствительных наночастиц фолат-хитозан-плюроник позволяет не только увеличить эффективность адресной доставки ПОХТП, но и фотодинамический эффект в отношении опухолевых клеток за счет более высокой концентрации куркумина.

Авторы признательны Белорусскому республиканскому фонду фундаментальных исследований (грант Ф21В-003) и Вьетнамской академии наук и технологий (грант QTVY01.03 / 21-22) за финансовую поддержку исследований.

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА КЛЕТОК *DUNALIELLA SALINA* ПРИ АЗОТНОМ ГОЛОДАНИИ

Самович Т.В., Чепелева Е.В., Свечко А.Д., Козел Н.В.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

*Dunaliella salina* представляет собой галофитную зеленую микроводоросль, которая способна расти и размножаться при уровне солености от 0,5 до 5,0 М NaCl. При благоприятных для роста условиях данная водоросль продуцирует  $\beta$ -каротин (провитамин А) в количествах, равных около 0,3% сухой массы, аналогично содержанию  $\beta$ -каротина в листьях растений и других водорослях. Однако под действием стрессовых факторов накопление вторичного  $\beta$ -каротина (не связанного с фотосинтетическим аппаратом) может достигать 10% от сухой массы, что является самым высоким содержанием  $\beta$ -каротина для любой известной водоросли, растения или другого микроорганизма [1]. В данной работе исследовали влияние модификации состава питательной среды, в частности, удаления из стандартной среды Артари азота, на содержание в клетках *Dunaliella salina* штамма IBCE D-1 фотосинтетических пигментов, фотохимическую активность фотосистем (ФС) клеток, накопление белка D1 реакционного центра ФС 2 и продукцию клетками микроводоросли  $\beta$ -каротина на свету низкой и высокой интенсивности.

Для анализа активности фотосистем использовали метод индукции флуоресценции хлорофилла (РАМ-флуориметрию). Количество белков фотосистем регистрировали с помощью вестерн-блоттинга, а содержание фотосинтетических пигментов и  $\beta$ -каротина, в частности, с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Анализ результатов РАМ-флуориметрии показал достоверное снижение потенциального и эффективного квантовых выходов фотохимии ФС 2, а также снижение эффективности переноса электронов в пределах ФС 2 (показатели Fv/Fm, Y(II) и ETR(II) соответственно) в вариантах с отсутствием азота при разной освещенности по сравнению с контрольными. Снижения фотохимической активности ФС 1 в клетках *Dunaliella salina* не выявлено. При этом установлено уменьшение количества белка D1 реакционного центра ФС 2 в условиях азотного голодания как при низкой, так и высокой освещенности по сравнению с вариантами с нормальным содержанием азота в питательной среде. Отметим, что свет высокой интенсивности во всех экспериментальных вариантах приводил к значительному снижению содержания белка D1 в клетках микроводоросли. Анализ пигментного состава клеток *Dunaliella salina* с помощью ВЭЖХ показал, что наиболее эффективным фактором запуска повышенного синтеза  $\beta$ -каротина является дефицит азота в сочетании со светом высокой интенсивности – наблюдалось 3-х кратное увеличение продукции  $\beta$ -каротина (при низкой освещенности прирост  $\beta$ -каротина составлял 1,5 раза).

Таким образом, установлено снижение количества белка D1 реакционного центра ФС 2 и преимущественное подавление активности ФС 2 в клетках *Dunaliella salina*, культивируемых на среде, дефицитной по азоту, что может быть ключевым фактором запуска повышенного синтеза в клетках водоросли  $\beta$ -каротина, как антиоксиданта, предотвращающего избыточное накопление в хлоропластах активных форм кислорода, в частности, синглетного молекулярного кислорода, генерация которого увеличивается при повреждении компонентов или нарушении функционирования комплексов ФС 2, особенно на свету высокой интенсивности.

### Библиографические ссылки

1. Соловченко А.Е., Селиванова Е.А., Чеканов К.А. и др. Индукция вторичного каротиногенеза у новых галофильных микроводорослей из рода *Dunaliella* (Chlorophyceae) // Биохимия. 2015. Т.80, №11. С. 1817-1823.



## ПРИМЕНЕНИЕ АСИМПТОТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ СПЕКТРАЛЬНОГО АНАЛИЗА БАКТЕРИАЛЬНЫХ СУСПЕНЗИЙ

Симонова Е.О., Симонов О.А., Мальчевский В.А.

ФГБУ Федеральный исследовательский центр Тюменский научный центр Сибирского отделения РАН, Тюмень, Россия.

В исследованиях с применением бактериальных суспензий одним из первых определяемых параметров является количество микробных клеток в единице объема. Для подсчета применяют разные методы, в том числе метод с использованием счетной камеры Горяева и метод турбидиметрии [1]. Оба этих метода имеют за собой ряд недостатков; повышенное время исполнения, применение узкоспециализированных приборов, а так же, в случае метода турбидиметрии наличие суспензии микроорганизмов с известным количеством клеток, для построения индивидуальной калибровочной кривой в каждом отдельном случае. Для решения сложившейся проблемы нами был разработан способ оптической оценки концентрации микробных клеток в суспензии, основанный на использовании асимптотического приближения теории светорассеяния [2]. Для тестирования разработанного способа использовали штамм 10-50-TS2 (вид *Achromobacter spanius*) из коллекции ТюмНЦ СО РАН. Бактерии высевали в пробирки на скошенный агар и культивировали 24 ч в термостате при 26 °С, затем смывали дистиллированной водой в объеме 5 мл

В растворы глюкозы 10% и 40% добавляли полученные смывы (9:1), проводили измерения оптической плотности суспензий в спектрофотометре ПЭ-5400УФ на двух длинах волн  $\lambda_1 = 450$  нм и  $\lambda_2 = 600$  нм. В качестве образца сравнения использовали дистиллированную воду. Определяли показатель преломления ( $\mu$ ) образцов с использованием рефрактометра RL3. На основе полученных данных рассчитывали значение волнового экспонента, средний радиус ( $R_{cp}$ ) микробных тел, затем, применяя асимптотическое приближение, рассчитывали коэффициент светорассеяния, с использованием которого по измеренной оптической плотности суспензии определяли концентрацию бактерий ( $N$ ). В качестве сравнения проводили подсчет микроорганизмов с использованием счетной камеры Горяева, бактериальные смывы серий разведений доводили до концентрации 1/10000 от первичной, и далее действовали по стандартной методике. Так при применении оптического метода  $\mu_b = 1,46$ ,  $R_{cp} = 0,37$  мкм,  $x = 2 \cdot 10^{11}$ . При подсчете методом с использованием счетной камеры концентрация микроорганизмов в материнской суспензии составила  $x = (5,3 \pm 0,1) \cdot 10^{11}$ . Стоит отметить, что применение оптического метода значительно сокращает время, затрачиваемое на подсчет бактерий. Дает возможность получить дополнительные сведения о микробных клетках конкретного штамма, такие как показатель преломления и их средний радиус. Минусами данной методики можно считать то что оптический способ учитывает даже нежизнеспособные клетки, но в сочетании с другими методами, такими как метод подсчета КОЕ этот недостаток можно использовать для получения важных для исследователя параметров штамма. Большой объем математических вычислений в перспективе, возможно, решить с помощью создания специализированной программы для ЭВМ.

### Библиографические ссылки

1. Гунар О.В., Доренская А.В., Колосова Л.В. Оценка некоторых методов определения концентрации микробных клеток // Фармацевтическая химия и фармакогнозия. 2013. №4. С.14-17.
2. Пат. № 2636620 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/483 (2006.01): способ оптической оценки концентрации микробных клеток в суспензии №2016121869, заявл.: 25.10.2016. опубл.: 24.11.2017 / Симонов О.А., Симонова Е.О., Мальчевский В.А. – 7 с.

## ВЛИЯНИЕ ПРЕДЕЛЬНЫХ И АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ В ЛИСТЯХ ОВСЯНИЦЫ ТРОСТНИКОВОЙ (*FESTUCA ARUNDINACEA* SCHREB.)

Тюлькова Е.Г.<sup>1</sup>, Савченко Г.Е.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь,  
<sup>2</sup>Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Экологическая направленность исследований фотосинтетического аппарата как одной из наиболее отзывчивых на любой стресс систем растительной клетки демонстрирует неослабевающий теоретический и практический интерес. При изучении реакции растений на различные воздействия в настоящее время большое значение придают активным формам кислорода как продуктам окислительного стресса. Идея настоящей работы связана с установлением роли фотодинамически опасных продуктов деградации мембраносвязанных хлорофилловых пигментов, появляющихся при действии токсичных углеводов техногенного происхождения, в развитии окислительного стресса и опосредованном влиянии последнего на ряд параметров активности стрессочувствительной фотосистемы II, темновое дыхание и фотосинтез в листьях овсяницы тростниковой (*Festuca arundinacea* Schreb.).

Установлено, что при действии на растения пентана, гексана, бензола, *o*-ксилола, бенз(а)пирена и бутилацетата на фоне увеличения содержания малонового диальдегида как маркера окислительного стресса разрушение хлорофилловых пигментов, содержащих фитол, осуществлялось как путем удаления магния (феофитинизации), так и посредством дефитолизации. При этом корреляция между активностью хлорофиллазы и степенью феофитинизации отсутствовала. Более высокая степень разрушения хлорофиллов обнаружена в весенний период. С помощью импульсно-модулированной флуоресцентной спектроскопии показано, что при действии токсичных углеводов на растения уровень тепловой диссипации (нефотохимическое тушение,  $q_N$ ) избыточной энергии, поглощенной молекулами хлорофилла, которую рассматривают как один из механизмов защиты от стресса, был пропорционален степени разрушения мембраносвязанных хлорофиллов. Установлена высокая отрицательная корреляция между изменением  $q_N$  и содержанием фитольных хлорофилловых пигментов и каротиноидов, а также положительная корреляция между  $q_N$  и содержанием хлорофиллида и отсутствие таковой в случае содержащего фитол феофитина. Выявлена тесная отрицательная корреляционная взаимосвязь между содержанием бесфитольных форм хлорофилла и скоростью фотосинтеза и положительная – между содержанием фитольных форм и скоростью фотосинтеза, бесфитольных форм и скоростью дыхания. Предположено, что обнаруженные количественные различия в действии на растения исследованных углеводов связаны не с их водорастворимостью, а, скорее, с разным сродством к мембранным липидам (липофильностью). Последнее может влиять на содержание свободных бесфитольных хлорофиллидов как возможных источников синглетного кислорода в хлоропластах, образующихся при взаимодействии хлорофиллазы только с отделенными от фотосинтетической мембраны молекулами хлорофиллов.

Полученные данные являются иллюстрацией давно сформулированной профессором А.А. Шлыком и его учениками идеи центров биосинтеза хлорофилла – такой организации фотосинтетического аппарата в хлоропластах, которая исключает контакт молекул пигментов с агрессивной средой, начиная от довольно ранних этапов их биосинтеза и вплоть до встраивания в мембранные пигмент-белковые комплексы.

## ОСОБЕННОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПЕПТИДНОГО ЭЛИСИТОРА AtPep НА ФОНД ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ В ПРОРОСТКАХ ГОРОХА, ВЫРАЩЕННЫХ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ОСВЕЩЕНИЯ

Филиппова Г.Г.

*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

Эндогенные пептидные элиситоры, к которым относится и пептид арабидопсиса AtPep, выполняют ключевую роль в сигналинге растений и увеличении устойчивости к стрессовым воздействиям как биотической, так и абиотической природы [1]. Сигнальный пептид AtPep образуется из белка-предшественника при повреждении растительной ткани, распознается специфическими рецепторами и запускает каскад защитных реакций, приводящих к формированию иммунитета [2]. Кроме того, AtPep может влиять на метаболизм хлорофилла и тем самым участвовать в адаптации фотосинтетического аппарата (ФСА) к условиям освещения. В работе [3] отмечается, что обработка растений данным пептидом индуцирует запуск механизмов катаболизма хлорофилла при темновом стрессе. Целью нашей работы было исследование действия AtPep на уровень фотосинтетических пигментов (ФСП) в проростках гороха при воздействии различных условий светодиодного освещения. Выращенные в водной культуре при люминесцентном освещении 10-дневные проростки гороха обрабатывали водным раствором пептида AtPep в концентрации  $10^{-9}$  моль/л, через 24 ч переносили в условия светодиодной установки с интенсивностью света 200 и 500 мкмоль квантов/м<sup>2</sup> с соотношением синих и красных лучей 1:2,5, фотопериод: 16 ч – освещение, 8 ч – темнота.

Показано, что при умеренной интенсивности освещения (200 мкмоль квантов/м<sup>2</sup>) в течение 2-х суток под действием AtPep происходит активация биосинтеза и увеличение уровня как хлорофиллов, так и каротиноидов. В наибольшей степени стимулирующее влияние пептида проявляется на содержании хлорофилла *a*, уровень которого повышается на 30% по сравнению с необработанными растениями. При высокой интенсивности света (500 мкмоль квантов/м<sup>2</sup>) пептид вызывает иной эффект: снижение содержания хлорофиллов примерно на 40% и рост уровня каротиноидов на 20-25% по сравнению с контролем. С увеличением времени выращивания проростков в условиях светодиодного освещения до 7 суток влияние пептида проявляется в меньшей степени. При умеренной интенсивности света под действием AtPep происходит незначительное (до 10%) повышение уровня хлорофиллов, концентрация каротиноидов существенно не изменяется; при высокой интенсивности света пептид вызывает снижение содержания хлорофиллов на 20-25% по сравнению с необработанными растениями.

Полученные результаты позволяют заключить, что обработка растений пептидом AtPep способствует адаптации ФСА к условиям освещения: при низкой интенсивности света стимулирует синтез ФСП, в условиях светового стресса – запускает процессы катаболизма хлорофиллов на фоне повышения концентрации каротиноидов, выполняющих защитную функцию.

### Библиографические ссылки

1. Albert M. Peptides as trigger of plant defence // J of Experimental Botany. 2013. V. 64. P. 5269-5279.
2. Филиппова Г.Г. Роль эндогенных пептидных элиситоров в устойчивости растений к биотическим стрессам // Журнал БГУ. Биология. 2019. № 2. С. 3-12.
3. Gully K., Hander T., Boller T., Bartels S. Perception of Arabidopsis AtPep peptides, but not bacterial elicitors, accelerates starvation-induced senescence // Front Plant Sci. 2015. V. 6. P. 1-10.

## МЕЗОМАСШТАБНЫЕ ПОДХОДЫ К МОДЕЛИРОВАНИЮ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Хрущев С.С., Плюснина Т.Ю., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б.

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

Сложная структурная организация фотосинтетического аппарата растений необходима для успешного протекания процессов запасания энергии света в форме химических связей. Основанное на данных об атомной структуре трансмембранных комплексов и мобильных переносчиков электрона математическое моделирование позволило выявить многие из ключевых механизмов первичных фотобиологических процессов. Эти процессы происходят в пределах молекулярных комплексов размером порядка десятков нанометров и имеют характерные времена в диапазоне от фемто- до наносекунд. Полученные результаты дали возможность понять, почему трансформация энергии не может происходить в гомогенной среде, но требует локализации окислительно-восстановительных реакций в крупных трансмембранных белковых комплексах. Кинетические и стохастические модели фотосинтетических процессов позволяют выявить отдельные их стадии, наиболее чувствительные к действию физических и химических факторов, и являются основой для применения биофизических подходов в экологическом мониторинге и био- и агротехнологиях. Между этими двумя подходами к математическому моделированию существует качественный разрыв, который существенно ограничивает нашу возможность понимания роли среднемасштабных (размером порядка микрометров) структур, в частности, гранальной организации тилакоидных мембран. Это же ограничение относится и к временному масштабу событий: в настоящее время нет детального понимания механизмов процессов, имеющих характерные времена от миллисекунд до секунд и минут. Целью данной работы является разработка подходов, позволяющих объединить молекулярные и кинетические методы для моделирования мезомасштабной динамики фотосинтетических процессов. В качестве иллюстрации одного из таких подходов рассматривается основанная на методе клеточных автоматов модель фрагмента хлоропласта, включающего грану и сопряженные с ней стромальные тилакоидные ламеллы. В качестве основы для модели разработана аналитическая геометрия грани и окружающих ее стромальных ламелл, воспроизводящая наблюдаемую в эксперименте ультраструктуру и позволяющая варьировать форму компарментов изменением числовых параметров. Пространство внутри хлоропласта разбивается на ромбододекаэдрические ячейки объемом  $2 \text{ нм}^3$ , каждой ячейке присваивается идентификатор компартамента: строма, люмен либо тилакоидная мембрана, и производится расстановка неподвижных трансмембранных белковых комплексов, которые занимают часть ячеек, и мобильных переносчиков электрона. Белковые молекулы занимают несколько соседних ячеек, их форма задается по данным рентгеноструктурного анализа или криоэлектронной микроскопии. Модель является дискретной по времени, на каждом шаге моделирования рассчитываются вероятности перемещения молекул подвижных переносчиков электрона в пространстве, переноса электрона между подвижными переносчиками и трансмембранными комплексами и переноса электрона между редокс-центрами, входящими в состав трансмембранных комплексов. Предложенный подход позволил создать модель грани тилакоида, состоящей из нескольких тысяч трансмембранных белковых комплексов и подвижных белков – переносчиков электрона.

Исследование выполнено в рамках научного проекта государственного задания МГУ №121032500060-0 при частичной поддержке грантов РФФИ № 20-04-00465 и РНФ № 22-11-00009.

## ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ РАСТЕНИЙ В ГОРОДСКИХ УСЛОВИЯХ С ПРИМЕНЕНИЕМ ИНДУКЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА

Яковлева О.В.<sup>1</sup>, Алексеев А.А.<sup>2</sup>, Тодоренко Д.А.<sup>1</sup>, Братковская Л.Б.<sup>1</sup>, Маторин Д.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

<sup>2</sup>Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Якутск, Россия

Состояние растений может служить надежным критерием загрязнения среды, так как чувствительность растений ко многим загрязнениям часто значительно выше, чем у человека и животных [1]. В клетках вегетативных органов растений загрязнения на начальных стадиях вызывают серьезные изменения в физиолого-биохимических процессах, особенно, в хлоропластах, где протекает процесс фотосинтеза.

Для оценки работы фотосинтетического аппарата и физиологического состояния высших растений в последнее время стали широко использоваться методы измерения индукционных кривых флуоресценции с высоким временным разрешением (от 10 мкс) при возбуждении интенсивным светом [2]. В настоящей работе методом регистрации индукции флуоресценции хлорофилла *a* были изучены особенности работы фотосинтеза листьев липы (*Tilia cordata*) и туи (*Thuja occidentalis*) в городских условиях [3]. Параметры индукционных кривых флуоресценции хлорофилла регистрировали на импульсном портативном флуориметре модели FluorPen FP 100 Max-LM (Photon System Instruments, Чехия). Измерения проводили неинвазивным способом на листьях. Показано, что при переходе древесных растений из активного состояния в летний период в состояние зимнего покоя уменьшается скорость фотосинтетического транспорта электронов в результате блокирования транспорта электронов между фотосистемами ФС 1 и ФС 2. Выявлено, что липа входит в покой раньше туи и обладает более выраженной чувствительностью к загрязнению. Обнаружена различная чувствительность растений к неблагоприятным условиям произрастания. Определены наиболее чувствительные параметры ЛР-теста флуоресценции –  $PI_{ABS}$ ,  $F_v/F_o$ ,  $F_v/F_m$ ,  $R_{fd}$ . Показана перспективность использования этих индикаторов для мониторинга городских растений на предмет устойчивости к загрязнениям. Исследование выполнено в рамках Программы развития Междисциплинарной науч.-обр. школы МГУ имени М.В. Ломоносова «Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды» и гранта РФФИ №20-04-00465.

### Библиографические ссылки

1. Маторин, Д.Н., Рубин А.Б. Флуоресценция хлорофилла высших растений и водорослей. Москва–Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2012.
2. Маторин Д.Н., Яковлева О.В. Фотолюминесценция растений. М.: – Альтекс :2019. 256 с.
3. Орехов Д.И., Яковлева О.В., Горячев С.Н., Протопопов Ф.Ф., Алексеев А.А. Использование параметров индукции флуоресценции хлорофилла *a* для оценки состояния растений в условиях антропогенной нагрузки // Биофизика. 2015. Т. 60. № 2. С. 330-336.

# **МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОФИЗИКА**

## INFLUENCE OF SERUM CONCENTRATION ON THE PHOTOSENSITIZERS EXIT FROM THEIR COMPLEXES WITH TEMPERATURE-SENSITIVE DEXTRAN-POLY (N-ISOPROPYLACRYLAMIDE) COPOLYMER

Zorin V.<sup>1,2</sup>, Zorina T.<sup>1</sup>, Kravchenko I.<sup>1</sup>, Kablov I.<sup>1</sup>, Kutsevol N.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

<sup>3</sup>Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

One of the ways to solve the problem of low watersolubility of drug compounds is to use special delivery systems based on nanostructured materials [1]. An important factor in the development of such technologies is the control of the release of drug products from the composition of nanocarriers.

In this work we consider the spectral method of analysis of 5,10,15,20-tetra(m-hydroxyphenyl)chlorin (mTHPC) and its porphyrin analogue 5,10,15,20-tetra(m-hydroxyphenyl)porphyrin (mTHPP) yield from dextran-70-poly(N-isopropylacrylamide) copolymers (D70-PNIPAM). mTHPC is one of the most promising clinically approved second generation photosensitizers [2]. After introduction of mTHPC and mTHPP into blood their molecules form large aggregates affecting distribution processes. To prevent an aggregation of mTHPC and mTHPP in blood, several special formulations, such as liposomes, bioconjugates, copolymers were developed. In our work we synthesized a star-like copolymer with Dextran core and grafted PNIPAM arms. D70-PNIPAM copolymers are in the condensed state at temperatures above the critical point. At temperatures between 34-35 °C, there is a phase transition, which leads to significant changes in the structure of the polymer molecule. D70-PNIPAM properties modulated by this phase transition include the hydrophobicity, particle size, porosity, colloidal stability and rheology.

The addition of mTHPC to the polymer solution at temperatures above critical is accompanied by its binding. It is observed full monomerization of mTHPC aggregates, sensitizer molecules penetrate into a rigid polymer matrix, resulting in increasing mTHPC fluorescence polarization degree up to 0,33. When cooling to below critical temperatures, mTHPC molecules dissociate from the complexes and their subsequent aggregation in the aquatic environment is observed. In serum solutions, the dissociation process is accompanied by the binding of mTHPC to plasma proteins (mainly to high and low density lipoproteins). mTHPP exhibits similar behavior in the copolymer solution at different temperatures.

Spectral data analysis has shown that fluorescence characteristics of mTHPC and mTHPP in serum and complexes with D70-PNIPAM differ significantly.

The differences in excitation and emission spectra of fluorescence for mTHPC and mTHPP complexes with a copolymer and in serum solutions can be used to measure the rate of photosensitizers output. Using this approach, the stability of complexes in solutions with different serum contents was evaluated.

### Bibliographic references

1. Yakavets I, Millard M., Zorin V. et. al. Current state of the nanoscale delivery systems for temoporfin-based photodynamic therapy: Advanced delivery strategies // Journal of Controlled Release. 2019. Vol. 304. P. 268-287.

2. Senge M. mTHPC – a drug on its way from second to third generation photosensitizer? // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy. 2012. Vol. 9. P. 170-179.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ БИОСИНТЕЗА АНТОЦИАНОВ В КОЛЕОПТИЛЯХ РАСТЕНИЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) РАЗНЫХ СОРТОВ

Аверина Н.Г., Савина С.М., Дремук И.А., Емельянова А.В., Прищепчик Ю.В.

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Осуществлен сравнительный анализ экспрессии ряда структурных и регуляторных генов системы биосинтеза антоцианов в колеоптилях озимой пшеницы трех сортов – «ЭтW5», «Велена» и «Влади», различающихся по окраске колеоптилей и содержанию в них антоцианов. Содержание антоцианов в сорте «ЭтW5» с красными колеоптилями составило в среднем 411,7 мкмоль/г сырой массы, в сортах «Велена» и «Влади» с зелеными колеоптилями – соответственно 15,2 и 12,5 мкмоль/г сырой массы. Показано, что экспрессия гена *PAL*, кодирующего фенилаланин-аммоний-лиазу, ключевой фермент фенилпропаноидного участка пути биосинтеза антоцианов, не показала сортоспецифичности и зависимости от содержания антоцианов в колеоптилях разных сортов озимой пшеницы. Так, уровень экспрессии гена *PAL* оказался близким во всех трех сортах –  $0,96 \pm 0,01$  отн. ед. в колеоптилях сорта «ЭтW5»,  $1,13 \pm 0,15$  отн. ед. и  $0,84 \pm 0,14$  отн. ед. соответственно у сортов «Велена» и «Влади». В то же время экспрессия гена флавоноидного участка пути биосинтеза антоцианов – *CHS*, кодирующего халконсинтазу, а также регуляторного гена *PAP-1*, кодирующего транскрипционный фактор PAP1/TaMYB75, показала четкую сортоспецифичность и зависимость от содержания антоцианов в колеоптилях разных сортов пшеницы – высокий уровень экспрессии в сорте с красными колеоптилями и значительно более низкий уровень экспрессии в сортах с зелеными колеоптилями. Так, в колеоптилях сортов пшеницы «ЭтW5», «Велена» и «Влади» экспрессия гена *CHS* составила  $0,94 \pm 0,08$  отн. ед.,  $0,03 \pm 0,01$  и  $0,59 \pm 0,14$  отн. ед. соответственно. Уровень экспрессии гена *PAP-1* в красных колеоптилях проростков пшеницы сорта «ЭтW5» был достоверно выше по сравнению с уровнем экспрессии этого гена в зеленых колеоптилях проростков сортов «Велена» и «Влади» и составил  $0,91 \pm 0,23$  отн. ед.,  $0,59 \pm 0,16$  и  $0,05 \pm 0,03$  отн. ед. соответственно. Изучено также влияние 5-аминолевулиновой кислоты (АЛК) – индуктора накопления антоцианов в разных видах растений – на содержание антоцианов и экспрессию вышеуказанных генов в колеоптилях озимой пшеницы. Под действием экзогенной АЛК колеоптиль пшеницы сорта «ЭтW5» приобретали более интенсивное красное окрашивание ткани, что сопровождалось повышением содержания в них антоцианов в 1,5 раза по сравнению с контролем, в то время как колеоптиль растений сорта «Велена» и «Влади» своей окраски не меняли, и содержание в них антоцианов оставалось крайне низким – в среднем 21 мкмоль/г сырой массы. Действие экзогенной АЛК простимулировало экспрессию всех трех изучаемых генов в колеоптилях растений сорта «ЭтW5» с высоким содержанием антоцианов. В то же время обработка АЛК привела к ингибированию экспрессии как гена *CHS*, так и гена *PAP-1* у сорта «Влади» с зелеными колеоптилями и никак не отразилась на уровне экспрессии гена *PAL*, что четко демонстрирует сортоспецифичность действия АЛК. Это подтвердилось и в опытах с растениями сорта «Велена», в зеленых колеоптилях которых отмечено ингибирование экспрессии гена *PAP-1* под действием АЛК. Таким образом, действие экзогенной АЛК на экспрессию структурных и регуляторных генов биосинтеза антоцианов в колеоптилях пшеницы является сортоспецифичным и коррелирует с исходным уровнем антоцианов.

Исследования проводились при финансовой поддержке гранта Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант Б20ГРМГ-001).



## МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПЕРЕСТРОЙКИ И РЕГУЛЯЦИЯ БИОСИНТЕЗА АНТОЦИАНОВ В РАСТЕНИЯХ ОЗИМОГО РАПСА (*BRASSICA NAPUS* L.) ПОД ДЕЙСТВИЕМ 5-АМИНОЛЕВУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Аверина Н.Г., Емельянова А.В.

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Изучены метаболические перестройки, а также молекулярные и физико-химические механизмы регуляции биосинтеза антоцианов, индуцированные действием предшественника тетрапирролов – 5-аминолевулиновой кислотой (АЛК), в растениях озимого рапса (*Brassica napus* L.). Впервые показано, что под действием высоких концентраций АЛК (200 мг/л) наблюдается тетрапиррол-зависимая генерация синглетного кислорода ( $^1O_2$ ), сопровождаемая накоплением антоцианов и активацией экспрессии структурных (*dfr*) и регуляторных (*hcb5*) ядерных генов системы биосинтеза антоцианов. В присутствии АЛК и тушителя  $^1O_2$  – гистидина, накопление антоцианов значительно снижается. Таким образом, генерируемый в хлоропластах  $^1O_2$  запускает сигнальный путь, участвующий в пластидно-ядерной коммуникации, и активирует тем самым экспрессию ядерных генов, связанных с биосинтезом антоцианов, вызывая накопление последних. В этих условиях накопление антоцианов, обладающих мощной антиоксидантной активностью, рассматривается как защитный механизм, уменьшающий развитие фотодинамических процессов, генерируемых активными формами кислорода, в том числе  $^1O_2$ . С другой стороны, в присутствии экзогенной АЛК наблюдается ингибирование образования хлорофилла (Хл), частично обусловленное снижением активности ряда закодированных в ядре ферментов, таких как АЛК-дегидратаза и порфобилиногеназа, участвующих в синтезе первичного тетрапиррола – уропорфириногена III. В присутствии АЛК и гистидина подавления синтеза Хл не наблюдается. Таким образом, тетрапиррол-зависимая генерация  $^1O_2$  через пластидно-ядерную сигнализацию и изменение уровня экспрессии ряда ядерных генов оказывает противоположное действие на две метаболические системы – синтез антоцианов и синтез Хл, что согласуется с результатами, представленными в работе профессора Гримма с сотр. [1]. Наряду с накоплением антоцианов отмечено также возрастание содержания универсальных стресс-протекторов – глутатиона и пролина, а также активности антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы и аскорбатпероксидазы. В обработанных АЛК растениях отмечено существенное подавление активности фотосинтеза, обусловленное как снижением содержания Хл, каротиноидов, так и структурных компонентов фотосинтетического аппарата – белков пигмент-белковых комплексов фотосистем I и II. Отмечено также развитие компенсаторных реакций, выражающихся в возмещении нарушений фотосинтетической функции за счет активации процесса дыхания. Стимуляция дыхательного процесса обеспечивалась за счет повышения уровня компонента дыхательных цитохромов – гема, возрастания активности феррохелатазы и гемсодержащего фермента цитохром *c*-оксидазы, чему в свою очередь соответствовало повышение содержания одной из трех ключевых субъединиц фермента, формирующих его активный центр – (СОХIIb), а также возрастания уровня другого терминального дыхательного фермента – альтернативной оксидазы.

### Библиографические ссылки

1. Richter A., Tohge T., Femie A. et. al. The genomes uncoupled-dependent signalling pathway coordinates plastid biogenesis with the synthesis of anthocyanins // Phil.Trans.R.Soc.B., 2020, Vol. 375. P. 1–13.

## РАДИОЛИЗ И ФОТОЛИЗ ТИАМИНА В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ В ПРИСУТСТВИИ АМИНОКИСЛОТ И БЕЛКОВ. ПРОДУКТЫ ОКИСЛЕНИЯ ВИТАМИНА В<sub>1</sub> В АЭРОБНЫХ УСЛОВИЯХ

Агейко С.А.<sup>1</sup>, Степура И.И.<sup>1</sup>, Степура В.И.<sup>2</sup>, Валько Н.Г.<sup>2</sup>, Смирнов В.Ю.<sup>3</sup>, Янецвич А.В.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, Гродно, Беларусь

<sup>2</sup>Гродненский государственный университет им. Янки Купалы, Гродно, Беларусь

<sup>3</sup>Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

<sup>4</sup>Институт биоорганической химии НАН Беларуси, г Минск, Беларусь

Ультрафиолетовое излучение (UV) вызывает повреждение и гибель клеток вследствие как прямого воздействия на структуру ДНК и белков, так и вследствие генерации активных форм кислорода и активных карбонильных соединений, оказывающих повреждающее действие. При облучении растворов рентгеновским излучением (XR), основной мишенью ионизирующего воздействия являются молекулы воды, что сопровождается образованием гидратированных электронов, радикалов гидроксила и атомов водорода.

Цель работы – изучение окисления тиамин (Т) под действием XR и UV-излучения, изучение участия тирозильных радикалов макромолекул белков кристаллинов, выделенных из хрусталика глаза быка, в окислении витамина В<sub>1</sub>; проведение идентификации продуктов фотолиза и радиолиза Т, полученных в аэробных условиях. Фотолиз Т проводился UV светом ртутной лампы с использованием светофильтров, радиолиз водных растворов Т проводился XR излучением (спектром тормозного излучения, соответствующего напряжению 55 кВ на рентгеновской трубке). Продукты фотолиза и радиолиза Т разделялись хроматографически методом ВЭЖХ, характеризовались с помощью масс-спектрометрии и спектрально-флуоресцентных методов. Облучение Т в кислой среде (рН 3,0) приводит к его быстрому разрушению до 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидина (AP-NH<sub>2</sub>)  $m/z = 139,096$ . Образовавшийся AP-NH<sub>2</sub> устойчив к действию UV в кислой среде. Концентрация его равна количеству разрушенного Т после воздействия ультрафиолета. Тиазоловый компонент Т разрушается с образованием  $\gamma$ -ацето- $\gamma$ -тиопропилового спирта, производных фурана, молекул сероводорода. В нейтральной среде Т окисляется с образованием AP-NH<sub>2</sub> и тиазолона тиамин с  $m/z = 280,0994$  в качестве основных продуктов фотолиза. В качестве минорных продуктов после воздействия ультрафиолета на водные растворы Т в нейтральной среде также регистрируется дисульфид тиамин (TSST) с  $m/z = 562,2144$ , тиохром (TChr) с  $m/z = 262,0888$  и оксодигидротиохром (ODTChr) с  $m/z = 278,0837$ . В присутствии Т в водных растворах Туг и в водных растворах кристаллинов, выделенных из хрусталика глаза быка, уменьшается образование дитиозина и межбелковых дитиозинового сшивков после воздействия UV. При воздействии UV на водные растворы Т в щелочной среде основными продуктами фотолиза являются TSST и 4-амино-5-формилпиримидин  $m/z = 167,029$ . При воздействии XR излучения на водные растворы Т в нейтральной и кислой средах основными продуктами радиолиза Т являются TChr и ODTChr. Следует отметить различия в механизме протекания реакций трансформации Т под действием свободно-радикальных продуктов радиолиза воды по сравнению с воздействием ультрафиолета и химических окислителей на растворы Т. В сильнощелочных средах (рН > 12,0) Т легко окисляется в TChr под действием H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> или феррицианида калия, (K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]), что широко используется в биохимической практике для определения Т флуоресцентным методом. В кислой или нейтральной средах Т под действием K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] или H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, практически, не окисляется и TChr не образуется.

## СПЕКТРАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОЦЕССОВ СОЛЬВАТАЦИИ МОЛЕКУЛ ОКТАБУТОКСИФТАЛОЦИАНИНА В ИНДИВИДУАЛЬНЫХ РАСТВОРИТЕЛЯХ

Арабей С.М., Слободкина С.В.

*Белорусский государственный аграрный технический университет, Минск, Беларусь*

Процесс сольватации молекул, определяемый силой и природой межмолекулярных взаимодействий, остается в центре внимания многочисленных исследований, в том числе и биомедицинских. Кроме того, исследования сольватохромных явлений важны для описания и понимания молекулярных механизмов функционирования флуоресцентных зондов, биохимических сенсоров, фотосенсибилизаторов, пигментов для биоизображений и других молекулярных систем, находящих широкое применение в медико-биологической практике как светочувствительные терапевтические вещества.

Многие пигменты, в том числе и фталоцианины, имеют тенденцию к агрегации или комплексообразованию (лигандированию) в растворах, что снижает возможность их практических использований [1]. Наличие объемных или цепочечных заместителей в периферийных положениях молекул может влиять на их растворимость, на процессы комплексообразования и сольватации, а также на спектрально-люминесцентные свойства. В настоящей работе исследован фталоцианин с восемью алкильными цепочками, присоединенными в  $\alpha$ -положения конденсированных бензольных колец через оксиметиленовую группу – свободное основание окта(*n*-бутокси)фталоцианина ((OBu)<sub>8</sub>H<sub>2</sub>Фц), синтез которого описан в [2]. Детально изучено влияние сольватирующей способности растворителей на спектры поглощения (OBu)<sub>8</sub>H<sub>2</sub>Фц, т.е. выполнено сравнение электронных спектров (OBu)<sub>8</sub>H<sub>2</sub>Фц в индивидуальных растворителях, таких как *n*-гептан, *n*-декан, толуол, бензол, этанол, ДМФА, хлороформ и ДМСО, а также сделаны выводы о его агрегационных и сольватохромных свойствах.

Несмотря на то, что присоединение восьми буюкси-групп к бензольным кольцам (OBu)<sub>8</sub>H<sub>2</sub>Фц сильно увеличивает растворимость фталоцианина в используемых растворителях, никаких признаков агрегации не обнаружено в широком диапазоне концентраций. В [2] отмечено заметное батохромное смещение длинноволновой полосы поглощения пигмента (до 761 нм в толуоле). Нами экспериментально установлен характерный красный сдвиг этой полосы с ростом отношения  $(n^2-1)/(2n^2+1)$ , где  $n$  – показатель преломления используемых растворителей. Показано, что спектральное положение (частота) длинноволновой полосы поглощения (OBu)<sub>8</sub>H<sub>2</sub>Фц в различных растворителях как функция  $(n^2-1)/(2n^2+1)$ , имеет две линейные зависимости (соответственно для полярных и неполярных растворителей). На основании этих данных сделан вывод, что спектральные сдвиги вызваны не эффектом комплексообразования, а особенностями процесса сольватации. Вывод о роли локального окружения подтверждается отсутствием корреляции между координирующими свойствами растворителей и красным смещением полосы поглощения. Наблюдаемые эффекты вероятно обусловлены тем, что периферийные заместители увеличивают расстояние между  $\pi$ -сопряженными макроциклами, исключая агрегацию и облегчая тем самым процесс сольватации.

Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (договор №Ф21МС-017).

### Библиографические ссылки

1. Leznoff C.C. and Lever A.B.P., Eds. Phthalocyanines: Properties and Applications; VCH: New York, 1989-1996; Vol. 1-4.
2. Cook M.J., Dunn A.J., Howe S.D. et. al. Octa-alkoxy phthalocyanine and naphthalocyanine derivatives: Dyes with Q-band absorption in the far red or near infrared // J. Chem. Soc., Perkin Trans. I. 1988. P. 2453-2458.

## ОБРАЗОВАНИЕ ПОР В МЕМБРАНАХ ЛИПОСОМ, ИНДУЦИРОВАННОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕМ ФОСФАТИДНОЙ КИСЛОТЫ И ЦИТОХРОМА С В ПРИСУТСТВИИ ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА

Благова А.В., Степанов Г.О., Осипов А.Н.

*Российский национальный исследовательский медицинский университет  
им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия*

Ключевым звеном в патогенезе многих заболеваний является нарушение апоптоза. При исследовании молекулярных механизмов апоптотических процессов выделяют, в частности, митохондриальный механизм, который характеризуется увлечением пероксидазной активности цитохрома *c*. Однако данному событию предшествует взаимодействие цитохрома *c* с анионными фосфолипидами митохондриальных мембран [1]. Было хорошо изучено, что в липосомах, содержащих кардиолипин, при взаимодействии с цитохромом образуются поры [2], однако воздействие цитохрома на другие анионные фосфолипиды ранее не было известно.

Целью данной работы было исследование образования пор в липосомах, содержащих примесь фосфатидной кислоты в присутствии цитохрома *c* и перекиси водорода.

Исследование было проведено на флуориметре в режиме временной записи при фиксированных значениях длины волны возбуждения (560 нм) и испускания (590 нм) и щелях 5 нм.

Было изготовлено два типа липосом: содержащих только фосфатидилхолин, и содержащих фосфатидилхолин с 20% примесью фосфатидной кислоты. Внутри липосом содержался краситель сульфородамин В в высокой концентрации. При данной концентрации и эффекте самотушения начальная интенсивность флуоресценции была невелика. Однако при взаимодействии с цитохромом *c* в мембранах, содержащих примесь фосфатидной кислоты, образовывались поры, и, в результате уменьшения концентрации красителя, интенсивность флуоресценции возрастала.

Для образцов, содержащих липосомы с примесью фосфатидной кислоты, цитохром *c* и перекись водорода, изменение интенсивности флуоресценции составило 250% относительно начального значения. Для аналогичных образцов, но содержащих только фосфатидилхолин, это отношение составило 43%.

Таким образом, показано, что цитохром *c* при взаимодействии с фосфатидной кислотой в присутствии перекиси водорода приводит к образованию пор в мембранах липосом, как и кардиолипин, что было уже показано в предыдущих исследованиях [2]. Образование пор в мембране необходимо для осуществления апоптоза. То есть взаимодействие фосфатидной кислоты с цитохромом *c* может запускать апоптотические процессы, что ранее не было изучено.

### Библиографические ссылки

1. Hayden MR. An Immediate and Long-Term Complication of COVID-19 May Be Type 2 Diabetes Mellitus: The Central Role of  $\beta$ -Cell Dysfunction, Apoptosis and Exploration of Possible Mechanisms. *Cells*. 2020 Nov 13;9(11):2475147: p. 231-241.

2. Firsov AM, Kotova EA, Korepanova EA, Osipov AN, Antonenko YN. Peroxidative permeabilization of liposomes induced by cytochrome *c*/cardiolipin complex. *Biochim Biophys Acta*. 2015 Mar;1848(3):767-74.

## ФОТОНИКА ПТЕРИНОВЫХ БИОМОЛЕКУЛ – ПЕРСПЕКТИВЫ ДЛЯ МЕДИЦИНЫ

Буглак А.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Казанский федеральный университет, Казань, Россия

Птерины – низкомолекулярные органические соединения, широко распространенные в живых организмах. Птерины участвуют в метаболических реакциях преимущественно в виде тетрагидроптериновых коферментов. Дигидроптерины, как правило, являются интермедиатами метаболических реакций. Окисленные птерины – продукты распада тетра- и дигидроформ, биомаркеры различных заболеваний. Мы проанализировали все имеющиеся данные о физико-химических свойствах неконъюгированных птеринов, их фотонике, и выявили ряд перспективных с точки зрения биомедицины свойств. (1) Мы можем влиять на ферментативные реакции гидроксилаз ароматических аминокислот, NO-синтаз и алкилглицеролмонооксигеназ посредством УФ-облучения H<sub>4</sub>птеринов: УФ провоцирует электронодонорные реакции H<sub>4</sub>птеринов [1]. (2) Эмиссионные свойства H<sub>2</sub>птеринов и окисленных птеринов могут быть использованы в флуоресцентной диагностике [2]. (3) Перспективно использовать окисленные птерины для фотодинамической терапии, особенно в комбинации с другими сенсibilizаторами видимой области спектра. В таком случае возможен значительный синергетический эффект [3]. (4) При работе с птеринами следует использовать двухфотонное поглощение [4], поскольку однофотонное поглощение в УФ-диапазоне неэффективно и рассеивается *in vivo*.

Работа поддержана грантом РФФ 20-73-10029.

### Библиографические ссылки

1. Buglak A. A., Telegina T. A. A theoretical study of 5,6,7,8-tetrahydro-6-hydroxymethylpterin: insight into intrinsic photoreceptor properties of 6-substituted tetrahydropterins // *Photochem. Photobiol. Sci.* 2019. Т. 18. № 2. С. 516–523.
2. Grochocki W. и др. Determination of Urinary Pterins by Capillary Electrophoresis Coupled with LED-Induced Fluorescence Detector. // *Molecules.* 2019. Т. 24. № 6.
3. Tosato M. G. и др. Synergistic effect of carboxypterin and methylene blue applied to antimicrobial photodynamic therapy against mature biofilm of *Klebsiella pneumoniae* // *Heliyon.* 2020. Т. 6. № 3. С. e03522.
4. Malcomson T., Paterson M. J. Theoretical determination of two-photon absorption in biologically relevant pterin derivatives // *Photochem. Photobiol. Sci.* 2020. Т. 19. № 11. С. 1538–1547.

## АКТИВНОСТЬ ФОСФОЛИПАЗЫ А<sub>2</sub> И НАСЫЩЕННОСТЬ СРЕДЫ КИСЛОРОДОМ

Василевская Е.Д., Скоростецкая Л.А., Литвинко Н.М.

*Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Фосфолипаза А<sub>2</sub> (ФЛА<sub>2</sub>, КФ 3.1.1.4) – ключевой фермент фосфолипидного метаболизма, благодаря которому из второго положения глицеринового скелета фосфолипида отщепляется жирнокислотный остаток. Ранее с использованием гемоглобина (Hb) в качестве индикатора реакции фосфолиполиза мы установили повышение фосфолипазной активности ФЛА<sub>2</sub> поджелудочной железы свиньи по отношению к УФ-облученным мицеллам ФХ-ДОХ по сравнению с гидролизом интактных мицелл фосфатидилхолина яичного желтка (ФХ) с детергентом дезоксихолатом Na (ДОХ) [1]. УФ-облучение вызывает образование активных форм кислорода, которые, взаимодействуя с остатками непредельных жирных кислот (ЖК), приводят к гидропероксидации ФХ. Гидроперекиси ЖК образуют на поверхности раздела ФХ-вода своеобразные «изъяны», которые служат местом атаки для ФЛА<sub>2</sub> и ее активации.

Целью данной работы является сравнение чувствительности липидной фазы к ферментативному гидролизу ФЛА<sub>2</sub> в зависимости от насыщенности среды кислородом, без нарушений структуры фосфолипида. Степень насыщенности кислородом в реакционной смеси снижали кипячением буферного раствора (10 мин) с последующим охлаждением естественным образом на водоструйном насосе. В качестве насыщенной кислородом среды использовали охлажденный в течение ночи буферный раствор, который доводили до 20 °С. Реакционную смесь (5 мкМ раствор Hb, 2 мМ кофактор реакции CaCl<sub>2</sub> и 0,2 мкг/мл ФЛА<sub>2</sub>, конечные концентрации) разливали по кюветам (длина оптического пути 1 см) и регистрировали дифференциальные спектры (нулевая линия) в режиме пропускания T 75-125% на спектрофотометре Specord uv-vis. Третья реакционная смесь содержала все те же компоненты, исключая ФЛА<sub>2</sub>. Реакцию фосфолиполиза инициировали добавлением в опытную кювету мицелл ФХ-ДОХ (20 мкл, в количестве, эквивалентном 120 нмоль ФХ/мл Hb). Дифференциальные спектры регистрировали каждые 0,5 мин в течение 5 мин. Раствор смешанных мицелл ФХ-ДОХ готовили упариванием аликвоты раствора ФХ в хлороформе с последующей сольubilизацией пленки ФХ раствором ДОХ в соотношении 1/3 (моль/моль) и добавлением буферного раствора (0,05 М Трис-НСl, pH 8,0).

Обнаружено, что активность ФЛА<sub>2</sub> по отношению к мицеллам ФХ-ДОХ в дегазированной реакционной смеси была в течение 3-х мин на 25-50% ниже, чем в растворе, не подвергшемся дегазации, после чего обе кинетические кривые сходились на одном уровне, по-видимому, вследствие повторного растворения кислорода воздуха в дегазированном растворе. Спектральные изменения Hb в пробе, не содержащей ФЛА<sub>2</sub>, практически отсутствовали.

Полученные результаты обсуждается в свете того, что степень насыщенности среды кислородом оказывает возможное регуляторное действие на активность ФЛА<sub>2</sub> по отношению к гидролизу фосфолипидов в мицеллярной фазе.

### Библиографические ссылки

1. Linvinko N.M., Skorostetskaya L.A., Gerlovsky D.O. The interaction of phospholipase A<sub>2</sub> with oxidized phospholipids at the lipid-water surface with different structural organization // Chemistry and Physics of Lipids. 2018. Vol.211. P. 44-51.

## ФЛУОРЕСЦЕИН КАК ПЕРСПЕКТИВНОЕ СОЕДИНЕНИЕ ДЛЯ СЕЛЕКТИВНОГО ОБНАРУЖЕНИЯ БРОМНОВАТИСТОЙ КИСЛОТЫ

Григорьева Д.В.<sup>1</sup>, Горудко И.В.<sup>1</sup>, Реут В.Е.<sup>1</sup>, Панасенко О.М.<sup>2</sup>, Соколов А.В.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Москва, Россия

<sup>3</sup>ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Среди активных форм галогенов (АФГ), образующихся в реакциях с участием гемсодержащих пероксидаз (миелопероксидазы, пероксидазы эозинофилов (ЭПО)), НОСl и НОВr являются наиболее реакционно способными. К семейству пероксидаз относится также относительно недавно открытая пероксидаза – пероксидазин 1, которая катализирует образование преимущественно НОВr, необходимой для перекрестного «сшивания» коллагена IV и стабилизации базальных мембран тканей. Однако подобно другим АФГ, чрезмерное образование НОВr сопровождается повреждением тканей и развитием воспалительной реакции. Например, концентрация ЭПО в сыворотке от больных астмой, а, следовательно, и образование НОВr, в три раза выше, чем у здоровых людей. Таким образом очевидна актуальность разработки методов избирательной регистрации НОВr в биологических системах. Ранее было показано, что при бромировании флуоресцеина (F1c) образуется эозин Y, что может быть использовано для регистрации НОВr. Отметим, что F1c используется для прижизненной ангиографии, то есть не является токсичным для организма. В работе был проведен сравнительный анализ спектрально-флуоресцентных характеристик F1c при взаимодействии с АФГ с целью оценки возможности его использования для селективной регистрации НОВr.

Показано, что для F1c (5 мкМ) в фосфатно-солевом буфере (8,3 мМ Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1,2 мМ KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 123 мМ NaCl, 2,7 мМ KCl; pH 7,35) характерен спектр поглощения с максимумом на 493 нм. После внесения НОВr (60-80 мкМ) поглощение при 493 нм уменьшалось с одновременным появлением интенсивного пика поглощения при 513 нм, который соответствовал окрашенному в розовый цвет эозину Y – продукту бромирования F1c. При изучении спектров поглощения F1c, проинкубированного с другими АФГ (НОСl, НОСCN), было выявлено, что оптическая плотность при 493 нм снижалась после инкубации F1c только с НОСl; в этих же образцах был выявлен сдвиг положения максимума поглощения до значения 508 нм.

С помощью более чувствительного флуоресцентного анализа было исследовано изменение флуоресцентных свойств F1c после внесения НОВr и НОСl. Для спектра флуоресценции F1c был характерен пик при 516 нм при возбуждении светом с длиной волны 501 нм. При добавлении НОВr к F1c интенсивность флуоресценции при  $\lambda_{\text{возб.}}/\lambda_{\text{рег.}} = 501/516$  нм снижалась в ~30 раз, но появлялся интенсивный пик флуоресценции при длине волны 541 нм при возбуждении светом с длиной волны 520 нм. Известно, что эозин Y представляет собой флуоресцентное соединение с пиком возбуждения при 525 нм и пиком испускания при 546 нм, что согласуется с полученными нами результатами. После инкубации F1c с НОСl интенсивность флуоресценции образца при  $\lambda_{\text{возб.}}/\lambda_{\text{рег.}} = 501/516$  нм снижалась, при этом появлялся пик флуоресценции при длине волны 534 нм при возбуждении светом с длиной волны 510 нм. Известно, что при хлорировании F1c образуется ряд продуктов с флуоресцентными свойствами, сходными с полученными в данной работе.

Таким образом, можно заключить, что F1c представляет собой перспективное соединение для разработки на его основе флуоресцентного метода регистрации бромирующей активности гемсодержащих пероксидаз млекопитающих.

Работа поддержана грантами Б22МВ-023 и Ф22М-042.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АРИЛПОРФИРИНОВ С МОНОМЕРНЫМИ И ПОЛИМЕРНЫМИ ПРОИЗВОДНЫМИ ЦИКЛОДЕКСТРИНА

Зорин В.П.<sup>1</sup>, Коблов И.В.<sup>1</sup>, Кравченко И.Е.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Международный государственный экологический институт им. А.Д. Сахарова БГУ,  
Минск, Беларусь

Одним из перспективных материалов для разработки новых лекарственных форм препаратов являются циклодекстрины (ЦД). ЦД представляют собой циклические олигосахариды, состоящие из D-глюкопиранозных звеньев. Комплексы включения на основе ЦД широко используются в фармацевтике для увеличения растворимости многих лекарственных средств [1]. Недавние исследования показали, что ЦД могут с высокой эффективностью образовывать комплексы включения с арилзамещенными порфиринами (АП). Это свойство позволяет использовать ЦД в фотодинамической терапии для создания новых лекарственных форм фотосенсибилизаторов, обладающих особыми фотофизическими и фармакологическими свойствами. Введение АП с ЦД предотвращает агрегацию, увеличивает химическую и фотохимическую стабильность фотосенсибилизатора, а также влияет на процессы его распределения и локализации.

Исследования, проведенные в нашей лаборатории, показали, что производные  $\beta$ -ЦД наиболее подходят для создания новых фармакологических форм АП. Установлено, что именно этот класс ЦД характеризуется наиболее высокими значениями констант образования комплексов включения с АП. Образование комплексов ЦД сопровождается изменениями фотофизических характеристик фотосенсибилизатора: смещением положения полос спектров поглощения и испускания, увеличением квантового выхода флуоресценции (если флуоресценция тушится растворителем), увеличением времени жизни триплетного состояния и др. Изменения в спектральных характеристиках АП связаны как с предотвращением агрегации пигмента в водной среде, так и с изменениями электронной системы и микроокружения тетрапиррольного кольца при встраивании в гидрофобную полость  $\beta$ -ЦД боковых заместителей АП.

Показано, что несмотря на то, что сами ЦД не проникают в клетку, их влияние на скорость перемещения молекул АП увеличивает накопление в клетках, модифицирует процессы биораспределения в опухолевых тканях. Решающим фактором в этом случае является константа комплексообразования и время существования комплекса.

Считается, что использование полимерных ЦД и материалов на их основе может значительно увеличить время нахождения молекул фотосенсибилизатора в составе комплексов. В данной работе проведено сравнительное исследование процессов взаимодействия АП с мономерными и полимерными производными  $\beta$ -ЦД. Установлен ряд особенностей фотофизических характеристик АП в комплексах с полимерным ЦД, которые могут быть использованы для регистрации процессов диссоциации молекул фотосенсибилизатора из состава комплекса с полимером. Разработанные подходы использованы для сравнения процессов распределения АП в сыворотке крови при их введении в составе комплексов с мономерным и полимерным ЦД.

### Библиографические ссылки

1. Yankovsky I., Bastien E., Yakavets I. et. al. Inclusion complexation with  $\beta$ -cyclodextrin derivatives alters photodynamic activity and biodistribution of meta-tetra(hydroxyphenyl)chlorin // Eur. J. Pharm. Sci. 2016. Vol. 91. P. 172–182.



## ВЛИЯНИЕ MnCl<sub>2</sub> НА АКТИВНОСТЬ ПРОТЕИНАЗ

Ильючик И.А., Никандров В.Н.

Полесский государственный университет, Пинск, Беларусь

Ранее нами было показано, что при добавлении в питательную среду *Chlorella vulgaris* MnCl<sub>2</sub> в широком диапазоне концентраций существенно изменялся уровень внутриклеточной протеолитической активности водоросли. Однако гомогенат клеток – сложная система, и пути сдвигов протеолитической активности в ней могут быть различны. Возможность же прямого неопосредованного влияния катионов марганца (II) на протеолитические реакции остается изученной крайне мало.

Методом лизиса в тонком слое агарового геля изучено влияние MnCl<sub>2</sub> в диапазоне концентраций 10<sup>-8</sup>-10<sup>-2</sup> М на расщепление гемоглобина (Hb), фибриногена (Fn), желатина (Gel), казеина по Гаммерстену (Cas) очищенными образцами протеиназ. Исследования выполнены девятикратно, результаты обработаны статистически.

В присутствии MnCl<sub>2</sub> расщепление белков-субстратов трипсином (ЕС 3.4.21.4) в трис-буфере не превышало 25% (на расщепление Gel не влияло). Замена трис-буфера фосфатным буфером вела к максимальному усилению расщепления Gel – на 44% при концентрации MnCl<sub>2</sub> 10<sup>-8</sup> М, а Cas – при концентрации 10<sup>-3</sup> и 10<sup>-2</sup> М на 51 и 45% соответственно. В трис-буфере и фосфатном буфере MnCl<sub>2</sub> в зависимости от белка-субстрата и концентрации соли вызвал угнетение или усиление активности α-химотрипсина (ЕС 3.4.21.1) не более, чем на 25%. Присутствие эффектора также оказало умеренное действие на расщепление белков субтилизином (ЕС 3.4.21.62). В трис-буфере добавление MnCl<sub>2</sub> в концентрации 10<sup>-3</sup> и 10<sup>-2</sup> М сопровождалось угнетением лизиса Hb на 21 и 35% соответственно, а при концентрации 10<sup>-2</sup> М снижением Gel-литической активности на 33%. Cas-литическая активность папаина (ЕС 3.4.22.2) угнеталась MnCl<sub>2</sub> во всем диапазоне концентраций на 33-44%, тогда как Fn-литическая – лишь при концентрации 10<sup>-6</sup> М на 20%. В фосфатном буфере возрастала только Cas-литическая активность протеиназы на 121 и 45% при концентрации MnCl<sub>2</sub> 10<sup>-7</sup> М и 10<sup>-6</sup> М соответственно, а при ≥10<sup>-4</sup> М – в 1,5-1,8 раза. Протеолитическая активность пепсина (ЕС 3.4.23.1) в присутствии MnCl<sub>2</sub> изменялась при расщеплении всех белков-субстратов: расщепление Hb подавлялось на 50% при концентрации MnCl<sub>2</sub> 10<sup>-2</sup> М, расщепление Cas – на 20% при концентрации 10<sup>-2</sup> М и 10<sup>-7</sup> М. Лизис Gel пепсином возрастал на 25-33% при концентрации эффектора 10<sup>-8</sup>-10<sup>-6</sup> М, а лизис Fn – на 29% при концентрации 10<sup>-8</sup> М. В присутствии ортофосфата Hb-литическая и Gel-литическая активности пепсина подавлялись MnCl<sub>2</sub> в отдельных концентрациях не более чем на 16-26%. Расщепление Cas пепсином при концентрации MnCl<sub>2</sub> 10<sup>-5</sup> и 10<sup>-2</sup> М усиливалось на 31 и 42% соответственно. В присутствии ортофосфата добавление MnCl<sub>2</sub> в концентрации 10<sup>-4</sup>-10<sup>-2</sup> М слабо угнетало фибринолитическую активность пепсина. Однако при более низких концентрациях соли этот эффект достигал 25-30%. Изменения протеолитической активности коллагеназы I типа *Cl. histolyticum* (ЕС 3.4.24.3) в трис-буфере под действием MnCl<sub>2</sub> по Gel и Cas были незначительны. В то же время расщепление Hb подавлялось во всем диапазоне концентраций эффектора на 32-46%. Лизис Fn усиливался на 28% при концентрации MnCl<sub>2</sub> 10<sup>-5</sup> М и 10<sup>-8</sup>-10<sup>-7</sup> М на 21-33%. В фосфатном буфере действие катионов Mn<sup>2+</sup> было заметно лишь на Hb-литическую активность коллагеназы. Во всем диапазоне концентраций эффектора она подавлялась на 20-28%.

Итак, катионы марганца (II) способны оказывать прямое воздействие на протеолитические процессы. Эффект зависел не только от вида протеиназы, но и от белка-субстрата. Введение ортофосфата (0,06 М) в ряде случаев сопровождалось отменой ингибиторного действия MnCl<sub>2</sub>. Вместе с тем, выявлены случаи изменения характера эффектов последнего – существенный рост протеолитической активности.

## NBD-АЗИДОАНИЛИН И ОЦЕНКА ЕГО СВОЙСТВ В КАЧЕСТВЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ПРОБЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ БЕЛКОВ

Карпушенкова В.С.<sup>1</sup>, Фалетров Я.В.<sup>1,2</sup>, Шкуматов В.М.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>НИИ физико-химических проблем БГУ, Минск, Беларусь

При помощи реакции 7-нитробензоксадиазол-4-ил хлорида (NBD хлорида) с п-азидоанилином с последующей колоночной хроматографией (SiO<sub>2</sub>, CHCl<sub>3</sub>) был получен NBD-азидоанилин (NBD-AzAn) (выход 80%) [1]. Вещество охарактеризовано методами тонкослойной хроматографии, масс-спектроскопии с электрораспылением, спектрофлуориметрии и спектрофотометрии. Присутствие азидной группы в NBD-AzAn было подтверждено в ходе проведения реакции «клик»-циклоприсоединения с избытком гексин-1 в присутствии CuI в качестве катализатора, приведшей к образованию соответствующего триазола в качестве единственного продукта. Были изучены изменения в спектрах поглощения и флуоресценции в различных растворителях (максимум поглощения NBD-AzAn в метаноле составил 478 нм). Для оценки биологических свойств NBD-AzAn был проведен обратный высокопроизводительный виртуальный скрининг с помощью программного обеспечения Autodock Vina [2] и программы-помощника FYTdock [3]. Было использовано 450 случайно выбранных PDB структур цитохромов P450 в связи со способностью данных ферментов восстанавливать органические азиды в условиях гипоксии [4] и на основании имеющегося опыта в использовании докинга для оценки взаимодействий между белками и лигандами [5]. Результаты PerMM расчетов (параметры: pH 7.34, T = 298 K): свободная энергия связывания (DOPC) составила -5,55 ккал/моль, логарифмы коэффициентов проницаемости плазматической мембраны, рассчитанные по моделям BLM, BBB, Caco-2 и Pamra-DS, равны +0,83, -2,60, -3,27 и -0,46 соответственно, итоговое значение логарифма проницаемости плазматической мембраны составило -1,21. DFT расчеты проводились с использованием hf/sto-3g теоретического уровня, полученные значение энергии Гиббса S0 состояния для NBD-AzAn составило -1050,147025 кДж/моль. Было проанализировано влияние NBD-заместителя на термодинамические свойства молекулы, в частности, теоретические значения энергии Гиббса (вакуум) для клик-реакций с NBD-производным и п-азидоанилином составили -0,162339 и -0,163499 кДж/моль соответственно, т.о., NBD заместитель практически не влияет в данном случае на термодинамику процесса. По результатам докинга выявлено 55 структур с энергиями связывания от -11,3 до -9,9 ккал/моль и комплексов с белками PDB, 6DWN, 6UDM (CYP1A1), 6CIZ, 6WW (CYP17), 3TDA (CYP2D6).

Работа проведена при поддержке грантов ГПНИ № г.р. 20210560 (Я.В. Фалетров, В.М. Шкуматов), а также гранта Министерства Образования и компании Wargaming.net (Карпушенкова В.С.).

### Библиографические ссылки

1. Lomize, A.L., Pogozheva, I.D., Mosberg H.I. (2011) J. Chem. Inf. Model., 51, 930.
2. Trott, O., Olson A.J. (2010) J. Comp. Chem., 31, 455.
3. Faletrov, Y.V., Staravoitava, V.A., Dudko A.R., V.M. Shkumatov (2022) PREPRINT (Version 1) available at Research Square [<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1456627/v1>]
4. O'Connor L.J., Mistry I.N., Collins S.L. et al. (2017) ACS Cent. Sci., 3, 20
5. Faletrov, Y.V., Karpushenkova, V.S., Zavalinich, V.A., Yakovets, P.S. (2021) J. Belarusian State Univ. Chemistry, 2, 25.

## ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ И ПОЛЯРНОСТИ РАСТВОРИТЕЛЯ НА ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТИРОЗИНА

Костюченко Н.С., Хрусталёва Т.А., Хрусталёв В.В.

*Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

**Введение.** В настоящее время для определения конформации белка широко используются методы, основанные на анализе положения максимума флуоресценции остатков триптофана. Однако в ряде белков и функциональных доменов могут отсутствовать остатки триптофана, но присутствовать остатки тирозина. Известно, что положение максимума флуоресценции на спектре испускания остатков тирозина неизменно. Поэтому представляется актуальным исследование характера спектра возбуждения флуоресценции тирозина в зависимости от особенностей его микроокружения.

**Цель работы** – изучить влияние температуры и полярности растворителя на спектры возбуждения и испускания свободного тирозина и его остатка в пептиде SF23.

**Материалы и методы.** Для изучения влияния температуры в качестве среды использовался 0,01 М Na, К-фосфатный буферный раствор (рН = 7,4 при T = 22 °С). Спектры регистрировали в интервале температур от 22 до 50 °С.

Для определения влияния полярности среды на флуоресценцию тирозина были приготовлены образцы, в которых в качестве растворителя использовались следующие вещества: метанол, этанол, ацетонитрил, диметилсульфоксид (ДМСО) и гексан. В качестве спектров сравнения использовались спектры проб на основе 0,01 М Na, К-фосфатного буферного раствора (рН = 7,4).

Спектры возбуждения и испускания регистрировались на термостатируемом флуориметре Solar CM2203 (Беларусь) с длиной оптического пути 1 см. Спектры возбуждения снимали в диапазоне 200-300 нм при длине волны эмиссии 302 нм, при длине волны возбуждения 270 нм регистрируемый диапазон испускания был: 295-395 нм. Поскольку тирозин и SF23 имеют разную растворимость в веществах, используемых в эксперименте, полученные спектры нормализовали.

**Результаты.** При изучении влияния температуры, полученные спектры свободного тирозина свидетельствовали о снижении интенсивности флуоресценции при повышении температуры. Спектры раствора SF23 также демонстрировали снижение интенсивности, однако в диапазоне температур 38-44 °С наблюдалось увеличение интенсивности флуоресценции относительно аналогичного диапазона для свободного тирозина.

При снятии спектров возбуждения в ДМСО и гексане отсутствовал пик в районе 220 нм, соответствующий максимуму поглощения пептидных связей, как в случае свободного тирозина, так и в случае остатка в составе SF23, но сохранялся пик в районе 280 нм, соответствующий максимуму поглощения ароматической боковой цепи. Формы спектров возбуждения в метаноле и этаноле соответствовали таковым в водном (буферном) растворе: сохранялись оба пика, преобладал пик в районе 280 нм. Спектр в ацетонитриле отличался преобладанием пика в районе 220 нм над пиком в районе 280 нм. Форма спектров испускания во всех растворителях существенно не отличалась от спектров сравнения.

**Выводы.** Наблюдаемое снижение интенсивности флуоресценции свободного тирозина и его остатка в SF23 при увеличении температуры, возможно, является следствием увеличения доли безызлучательной релаксации возбуждённого тирозина. Зарегистрированное в диапазоне температур 38-44 °С увеличение флуоресценции остатка тирозина в SF23 связано с изменением структуры пептида, а именно переходом олигомерной формы в мономерную. В отличие от ацетонитрила, метанола, этанола и воды, как ДМСО, так и гексан препятствуют передаче энергии от пептидных связей к ароматической системе тирозина: ДМСО за счёт водородных связей с атомами из основной цепи, а гексан – за счёт гидрофобных контактов с ароматической системой.

## ГЕНЫ, КОДИРУЮЩИЕ ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ ФАКТОРЫ СЕМЕЙСТВА TRIHELIX, У ЯБЛОНИ

Кузмицкая П.В., Урбанович О.Ю.

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

В последние годы семейство транскрипционных факторов Trihelix активно исследуется. Систематические работы были проведены на таких растениях, как арабидопсис, томат, хризантема и рис, а также на некоторых других. Изучение паттернов экспрессии генов, кодирующих белки с доменом Trihelix, показало их участие во множестве процессов, происходящих в течение жизни растения. У риса экспрессия транскрипционных факторов семейства Trihelix происходит в четырех тканях на шести стадиях развития, однако паттерны их экспрессии различаются. Количественная РТ-ПЦР показала, что на уровень их экспрессии влияет абиотический стресс (засуха, засоление), а также сигнальные молекулы, такие как абсцизовая кислота и пероксид водорода [1]. У арабидопсиса гены из семейства Trihelix могут участвовать в ответе на засоление и атаку патогенов [2].

С помощью НММ-основанного поиска в геноме яблони мы обнаружили 37 генов, имеющих характерные консервативные для транскрипционных факторов семейства Trihelix домены. Гипотетические транскрипционные факторы семейства Trihelix яблони имеют длину от 278 до 917 аминокислотных остатков (в среднем 514,5), и молекулярный вес 31,9-101,3 кДа (в среднем 57,7 кДа). Расчетные изоэлектрические точки колеблются в пределах 5,23-9,78 (в среднем 7,4). Результаты оценки клеточной локализации *in silico* показывают, что 28 гипотетических транскрипционных факторов семейства Trihelix яблони находятся в ядре, 2 – в хлоропластах. Оценка хромосомного распределения генов, кодирующих транскрипционные факторы семейства Trihelix яблони показала, что большинство хромосом (за исключением 1, 8, 9 и 15) несет как минимум один такой ген. Наибольшее их число (шесть) находится на 5-й и 6-й хромосомах, тогда как хромосомы 3, 7, 13, 16 и 17 несут только по одному гену. В целом, не наблюдается явной зависимости между длиной хромосомы и количеством расположенных на ней генов, кодирующих транскрипционные факторы семейства Trihelix. Степень идентичности генов не зависит от их хромосомной локализации: расположенные на разных хромосомах гены могут иметь больше сходства, чем находящиеся на одной и той же. Наибольшее сходство наблюдается у трех пар генов, расположенных на 5-й и 10-й хромосомах. Это может являться свидетельством дупликации блока генов в процессе эволюции генома яблони.

### Библиографические ссылки

1. J. Li [et al.] Genome-Wide Characterization and Identification of Trihelix Transcription Factor and Expression Profiling in Response to Abiotic Stresses in Rice (*Oryza sativa* L.) // International journal of molecular sciences. 2019. Vol. 20, № 2. P. 251.
2. J. Murata, H. Takase, K. Hiratsuka Characterization of a Novel GT-box Binding Protein from Arabidopsis // Plant Biotechnology. 2002. Vol. 19, № 2. P. 103-112.

## ГЕНЫ, КОДИРУЮЩИЕ САМТА, В ГЕНОМЕ ЯБЛОНИ

Кузмицкая П.В., Урбанович О.Ю.

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь*

Ионы  $Ca^{2+}$  играют важную роль во внутриклеточной передаче сигналов и изменении транскрипции генов, являясь вторичным мессенджером у эукариот [1]. В настоящее время известно множество сенсорных белков, которые отвечают за отслеживание изменений внутриклеточных концентраций кальция, происходящих в условиях стресса. Одним из них является кальмодулин, который участвует в передаче кальциевых сигналов [2]. При взаимодействии с ионами  $Ca^{2+}$  он претерпевает конформационные изменения, в результате чего приобретает способность модулировать ряд транскрипционных факторов, к которым относится семейство кальмодулин-связывающих активаторов транскрипции (САМТА) [3]. Последние являются компонентом множества сигнальных путей, участвующих в том числе и в формировании ответа на воздействие стресса [4].

В данной работе мы проводили *in silico* геномную идентификацию и анализ генов, кодирующих САМТА, у яблони, являющейся важнейшей плодовой культурой в Беларуси. С помощью НММ-основанного поиска в геноме яблони было обнаружено 8 генов, каждый из которых кодирует белок, содержащий один домен CG-1, один домен TIG, 1-2 анкириновых повтора и 2-3 домена IQ, что соответствует структуре САМТА. Анализ нуклеиновых последовательностей показал, что САМТА кодируются генами, содержащими 12-13 экзонов (за исключением двух изоформ, имеющих 7 и 9 экзонов). Расчетные изоэлектрические точки гипотетических кальмодулин-связывающих активаторов транскрипции яблони колеблются в пределах 5,28-6,89. Результаты оценки клеточной локализации *in silico* показывают, что они находятся в ядре. Анализ эволюционных взаимоотношений САМТА яблони с гомологами из других видов на примере арабидопсиса и льна показал, что белки из разных геномов могут иметь больше сходства с гомологами из других видов, чем между белками, кодируемыми одним и тем же геномом. Это может быть свидетельством того, что расхождение последовательностей в процессе эволюции от общей предковой последовательности произошло раньше, чем расхождение предков яблони, льна и арабидопсиса от их общего предка.

Работа выполнена при поддержке БРФФИ, договор Б21-151.

### Библиографические ссылки

1. A.N. Dodd, J. Kudla, D. Sanders The language of calcium signaling // *Annu Rev Plant Biol.* 2010. Vol. 61. P. 593-620.
2. K. Hashimoto, J. Kudla Calcium decoding mechanisms in plants // *Biochimie.* 2011. Vol. 93, № 12. P. 2054-2059.
3. A.S. Reddy Calcium: silver bullet in signaling // *Plant Science.* 2001. Vol. 160, № 3. P. 381-404.
4. T. Yang, B.W. Poovaiah A calmodulin-binding/CGCG box DNA-binding protein family involved in multiple signaling pathways in plants // *J Biol Chem.* 2002. Vol. 277, № 47. P. 45049-58.

## ВЛИЯНИЕ КОНФОРМАЦИОННОЙ РЕЛАКСАЦИИ НА КИСЛОРОДСВЯЗЫВАЮЩИЕ СВОЙСТВА $\alpha$ И $\beta$ СУБЪЕДИНИЦ ГЕМОГЛОБИНА ЧЕЛОВЕКА

Лепешкевич С.В.<sup>1</sup>, Сазанович И.В.<sup>2</sup>, Пархоц М.В.<sup>1</sup>, Гилевич С.Н.<sup>3</sup>, Джагаров Б.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт физики НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Центральная лазерная лаборатория, Лаборатория Резерфорда–Эплтона,  
Дидкот, Великобритания

<sup>3</sup>Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Для выяснения молекулярных механизмов кооперативной оксигенации гемоглобина человека изучены кинетики фотоиндуцированного повторного связывания молекулярного кислорода ( $O_2$ ) и сопутствующих конформационных изменений в  $\alpha$  и  $\beta$  субъединицах данного белка. С этой целью созданы окси-цианомет валентные гибриды гемоглобина,  $\alpha_2(Fe^{2+}-O_2)\beta_2(Fe^{3+}-CN)$  и  $\alpha_2(Fe^{3+}-CN)\beta_2(Fe^{2+}-O_2)$ , в которых только один тип субъединиц ( $\alpha$  или  $\beta$ ) может связывать молекулярный кислород [1]. Кинетики процессов исследовались на основании измеренных время-разрешенных спектров наведенного поглощения в области полосы Core во временном диапазоне от 1 пс до 800 мкс после лазерного фотовозбуждения. Спектры наведенного поглощения измерены на установке УЛЬТРА, созданной в Центральной лазерной лаборатории, Лаборатория Резерфорда-Эплтона, Дидкот, Великобритания [2, 3]. В качестве источника оптического возбуждения использовались импульсы длительностью 100 фс на длине волны 543 нм с энергией 1 мкДж.

На основании полученных результатов предложена кинетическая модель, учитывающая повторное связывание  $O_2$  из внутренних областей белка, миграцию  $O_2$  между первичным и вторичными внутрибелковыми сайтами, а также релаксацию третичной структуры белка. Впервые установлена неэквивалентность  $\alpha$  и  $\beta$  субъединиц тетрамера гемоглобина человека как в связывании молекулярного кислорода из внутренних областей белка (геминальная рекомбинация), так и в сопутствующей конформационной релаксации указанных субъединиц. Обнаружено, что релаксация третичной структуры обеих субъединиц приводит к уменьшению констант скоростей геминальной рекомбинации  $O_2$  с индивидуальными  $\alpha$  и  $\beta$  субъединицами в составе гемоглобина, причем этот эффект более чем на порядок больше для  $\beta$  субъединиц по сравнению с  $\alpha$  субъединицами. Наблюдаемые изменения обусловлены уменьшением внутренней реакционной способности гема, которая, в свою очередь, регулируется геометрией комплекса гемовое железо – проксимальный гистидин.

Полученные результаты вносят существенный вклад в понимание механизмов регуляции связывания молекулярного кислорода как с нативным гемоглобином человека, так и с разрабатываемыми искусственными системами доставки кислорода.

### Библиографические ссылки

1. Lepeshkevich S.V., Sazanovich I.V., Parkhats M.V. et al. Towards understanding non-equivalence of  $\alpha$  and  $\beta$  subunits within human hemoglobin in conformational relaxation and molecular oxygen rebinding // Chem. Sci. 2021. Vol. 12. P. 7033–7047.
2. Greetham G.M., Burgos P., Cao Q. et al. ULTRA: A Unique Instrument for Time-Resolved Spectroscopy // Appl. Spectrosc. 2010. Vol. 64. P. 1311–1319.
3. Greetham G.M., Sole D., Clark I.P. et al. Time-resolved multiple probe spectroscopy // Rev. Sci. Instrum. 2012. Vol. 83. P. 103107-1–5.

## КОМПЛЕКС БЕНЗТИАЗОЛОВОГО КРАСИТЕЛЯ С ДЕТОНАЦИОННЫМ НАНОАЛМАЗОМ В КАЧЕСТВЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ЗОНДА

Луговский А.А.<sup>1</sup>, Белько Н.В.<sup>2</sup>, Гусаков Г.А.<sup>2</sup>, Гурский А.Л.<sup>1</sup>, Тарасов Д.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Учреждение БГУ «Республиканский центр проблем человека», Минск, Беларусь

<sup>2</sup> Институт прикладных физических проблем им. А.Н. Севченко БГУ, Минск, Беларусь

В настоящее время ультрадисперсные алмазы (УДА) являются перспективными материалами для применения в области доставки лекарственных средств или визуализации биологических процессов [1]. Этот интерес к УДА обеспечен их высокой биосовместимостью, химической стабильностью и большой удельной поверхностью. Кроме того, малый размер частиц и их низкая токсичность делают УДА безопасными при внутривенном введении. Эффективность УДА в качестве платформы флуоресцентного зонда уже была показана нами ранее при связывании УДА с трикарбоцианиновыми красителями. Также ряд синтезированных ранее бензтиазоловых красителей стирилового ряда показал чувствительность сигнала флуоресценции к присутствию амилоидных фибрилл [2]. Таким образом, было предложено модифицировать УДА стироловым красителем (бромидом 1-(3-карбоксыпропил)-2-метилбензтиазолия) для увеличения стабильности и биосовместимости флуоресцентного комплекса для детекции амилоидных фибрилл.

В качестве исходного материала использовался порошок марки УДА-ГО производства ЗАО «Синта» (г. Минск). Предварительная обработка УДА заключалась в проведении окислительного процесса поверхности УДА с целью максимального накопления на ней функциональных карбоксильных групп. Окисление поверхности наноалмазов производилось путем термообработки на воздухе при температуре 450 °С. Длительность отжига варьировалась от 10 мин до 7,5 ч. В процессе отжига контролировалось изменение массы образцов. Для последующей модификации во избежание образования циклических амидов на поверхности УДА, которые в дальнейшем неактивны к образованию ковалентных связей, было предложено модифицировать УДА производным гексаметилендиамина – N-(6-аминогексил)-трифторацетамидом с защищенной одной аминогруппой. Снятие трифторацетатной защиты в дальнейшем позволяет получить свободную аминогруппу, удаленную от поверхности УДА на 6 метиленовых звеньев. В последующем свободная аминогруппа связывалась с карбоксильной группой бензтиазолового стирилового красителя с образованием амида.

Промежуточные образцы УДА и конечный продукт исследовались методами колебательной ИК-спектроскопии, спектроскопии поглощения и флуоресценции. Получение амида на поверхности УДА подтверждается появлением характеристических полос 1660 см<sup>-1</sup> (амид I) и 1573 см<sup>-1</sup> (амид II), а также характерной для гексаметилендиамина группы полос в области 1400-1500 см<sup>-1</sup>. При этом интенсивность амидных характеристических полос возрастает при ковалентном привитии стирилового красителя. Анализ электронных спектров поглощения комплекса также показал наличие характерных полос в области 520 нм, что свидетельствует о связывании стирилового красителя с поверхностью УДА.

### Библиографические ссылки

1. Terada D., Genjo T. et. al. Nanodiamonds for bioapplications – specific targeting strategies // BBA – General Subjects. 2020. Vol. 1864. P.129354.
2. Stsiapura V., Maskevich A. et.al. Effect of substituents on tict rate in thioflavin t based fluorescent molecular rotors // Int. Journal of Nanoscience. 2019. V. 18, №. 3-4. P. 1940046.

## СПЕКТРАЛЬНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ПРОЦЕССОВ АГРЕГАЦИИ И ВСТРАИВАНИЯ В АМИЛОИДНЫЕ ФИБРИЛЛЫ АНИОННОГО ПРОИЗВОДНОГО ТИОФЛАВИНА

Маскевич А.А.<sup>1</sup>, Плигин Е.И.<sup>1</sup>, Луговский А.А.<sup>2</sup>, Воропай Е.С.<sup>2</sup>, Глебович Т.С.<sup>1</sup>,  
Степура В.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Гродненский госуниверситет им. Я. Купалы, Гродно, Беларусь

<sup>2</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Изучены спектральные свойства нового бензтиазолового красителя, производного тиофлавина Т, 3-сульфопропил-5-метокси-2-[3-(3,5-диэтил-2-бензотиазолидене)-1-пропиенил]-бензотиазолия (Th-C11) при его различных концентрациях и при встраивании в амилоидные фибриллы. Установлено, что при увеличении концентрации более 10 мкмоль/л происходит агрегация его молекул. Спектр поглощения раствора красителя при этом можно представить в виде суперпозиции трех полос, имеющих максимумы при 555, 517 и 475 нм. Это является следствием существования в концентрированном растворе трех форм Th-C11: соответственно мономерной, в виде димеров и в виде агрегатов более высокого порядка.

Присутствие в растворе катионного полиэлектролита полиаллиламина (ПАА) в микромолярной концентрации приводит к уменьшению агрегации Th-C11. При низкой концентрации полиэлектролита, когда на одну полярную группу полиэлектролита приходится несколько молекул красителя, имеет место усиление агрегации, причем в зависимости от исходной концентрации красителя мы можем получить тот или иной порядок агрегации. Анионный полиэлектролит, полистиролсульфонат (ПСС), не оказывает влияния на спектры поглощения красителя, что является признаком того, что краситель существует в водном растворе при нейтральных рН в виде аниона.

Установлена зависимость положения спектров поглощения и квантового выхода флуоресценции красителя от полярности и вязкости растворителя и встраивания в амилоидные фибриллы из инсулина быка.

В отличие от молекул ThТ, являющегося катионом [1], молекулы Th-C11 содержат отрицательно заряженную сульфогруппу. Тем не менее, судя по изменению спектра поглощения и увеличению (~в 25 раз) квантового выхода флуоресценции, мы наблюдаем эффективное встраивание красителя в структуру фибрилл, т.е. кулоновские взаимодействия не являются основным фактором, влияющим на встраивание.

Полученные результаты показывают возможность использования нового красителя как эффективного маркера, чувствительного к полярности и вязкости микроокружения и обладающего длинноволновой полосой поглощения и флуоресценции в красной области спектра.

Работа выполнена при финансовой поддержке МО РБ, ГПНИ «Фотоника и электроника для инноваций», задание 1.5.

### Библиографические ссылки

1. Stsiapura V. I., Maskevich A. A., Kuzmitsky V. A., Uversky V. N., Kuznetsova I. M., Turoverov K.K. //J. Phys. Chem. B. 2008.Vol. 112. P. 15893-15902.



## ОСОБЕННОСТИ ФЕРСТЕРОВСКОГО ПЕРЕНОСА ЭНЕРГИИ ЭЛЕКТРОННОГО ВОЗБУЖДЕНИЯ МЕЖДУ МОЛЕКУЛАМИ БЕНЗТИАЗОЛОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ ПРИ ИХ ВСТРАИВАНИИ В АМИЛОИДНЫЕ ФИБРИЛЛЫ

Маскевич А.А.<sup>1</sup>, Плигин Е.И.<sup>1</sup>, Луговский А.А.<sup>2</sup>, Воробей Е.С.<sup>2</sup>, Сулацкая А.И.<sup>3</sup>,  
Кузнецова И.М.<sup>3</sup>, Туроверов К.К.<sup>3</sup>, Степура В.И.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Гродненский госуниверситет им. Я. Купалы, Гродно, Беларусь

<sup>2</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

<sup>3</sup>Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup>Международный государственный экологический институт им. А.Д. Сахарова БГУ,  
Минск, Беларусь

С использованием стационарной и кинетической флуориметрии изучен перенос энергии электронного возбуждения между молекулами тиофлавина Т (ThT) и 3-сульфопропил-5-метокси-2-[3-(3,5-диэтил-2-бензотиазолидене)-1-пропиенил]-бензотиазолия (Th-C11) при их встраивании в амилоидные фибриллы (АФ).

Кинетика затухания флуоресценции Th-C11, интеркалированного в АФ, является неэкспоненциальной и может быть представлена в виде одномодального распределения флуорофоров по длительности затухания  $\alpha(\tau)$ , что указывает на наличие одной моды встраивания красителя в АФ.

В отличие от ThT, степень поляризации флуоресценции Th-C11 зависит от вязкости растворителя вследствие того, что торсионное вращение фрагментов молекулы является более медленным по причине больших геометрических размеров молекулы. В вязких растворах и при встраивании в АФ степень поляризации флуоресценции Th-C11 имеет значение, близкое к предельному, что является прямым подтверждением его жесткой фиксации в структуре фибрилл.

Новая производная тиофлавина Т, Th-C11, эффективно встраивается в структуру АФ, имеет длинноволновое положение спектра поглощения. Совместно с ThT образует удобную донорно-акцепторную пару, где ThT выступает в качестве донора (Д), а Th-C11 – в качестве акцептора (А) энергии электронного возбуждения. Несмотря на перенос энергии, степень поляризации флуоресценции акцептора имеет высокое значение, близкое к предельному. Это позволяет сделать вывод о том, что молекулы Д и А имеют параллельную либо антипараллельную взаимную ориентацию. На основании теории индуктивно-резонансного переноса энергии Ферстера определен критический радиус переноса  $R_0$ , который может изменяться в пределах от 26 до 40 Å в зависимости от взаимной ориентации и квантового выхода флуоресценции Д и А.

На основании измерения кинетики затухания флуоресценции донора определено распределение по расстояниям в донорно-акцепторных парах  $\rho(R)$ , которое имеет выраженный максимум при  $R \approx 1,05 R_0$ .

Выполненные исследования подтверждают сделанное ранее предположение о том, что ThT и его стирильные производные встраиваются в бороздки АФ главным образом вдоль их длинной оси [1, 2], и открывают возможности использования индуктивно-резонансного переноса энергии для изучения структуры и механизма образования фибрилл.

Работа выполнена при финансовой поддержке МО РБ, ГПНИ «Фотоника и электроника для инноваций», задание 1.5.

### Библиографические ссылки

1. Krebs M.R., Bromley E. H., Donald A.M. // J. Str. Biology. – 2005. – Vol. 149. – P. 30–37.
2. Маскевич А. А., Кургузенков С.А., Лавыш А.В., Кивач Л.Н., Маскевич С.А.// Журн. прикл. спектр. – 2015. – Т. 82, № 4. – С. 497–504.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ ПОЛУЧЕНИЯ КОСМЕТИЧЕСКИХ И МЕДИЦИНСКИХ МАСЕЛ НА ОСНОВЕ МАСЛЯНОЙ ФРАКЦИИ ЗАГЛИНСКОЙ НЕФТИ

**Набиева Наджда Даргах кызы**

*Институт нефтехимических процессов им. акад. Ю.Г. Мамедалиева НАН Азербайджана,  
Баку, Азербайджан*

Уникальные свойства Азербайджанских нефтей делают их пригодными для производства медицинских и косметических масел. Эти нефти богаты нафтеновыми углеводородами, которые содержат биологически активные компоненты. Уникальность азербайджанских нефтей в том, что они на основе нафтенов и малосернистые и это делает их более ценным сырьем. По этой причине получение медицинских и косметических масел, богатых нафтеновыми углеводородами, является одним из наиболее актуальных задач. Одной из таких нефтей является нефть Загли.

Нефти нафтеновой основы более пригодны для получения медицинских и косметических масел [1]. Так, нафтеновые углеводороды в маслах, полученных из этих нефтей, содержат больше биологически активных компонентов. Такие углеводороды повышают микробиологическую активность и лечебный эффект приготовленных композиций [2].

При изучении физико-химических свойств и биологической активности 9 нефтяных скважин Сураханского месторождения Г.М. Кулиева [3, 4] установила, что нефть только из одной скважины (№ 1311) тяжелее. В то время как температуры воспламенения нефти других скважин находятся в пределах 56-65 °С, температура воспламенения нефти из этой скважины составляет 75 °С.

Природные нефтяные кислоты, содержащиеся в дистиллятах бакинской нефти, успешно используются в нефтехимическом синтезе как весьма полезное сырье [5, 6].

### **Библиографические ссылки**

1. Щепалов А.А., Котлова Е.С., Новоселов А.С. и др. Современное состояние производства белых масел: зарубежные и отечественные технологии // Вестник ПНИПУ. Химическая технология и биотехнология. Технология переработки нефти и газа, – 2018. №4, – с. 138-150.
2. Аббасов В.М., Зейналова С.К., Расулова Г.Р. и др. Бактерицидное действие композиции белого нафталанового и эфирного масел растений семейства губоцветных на *Staphylococcus aureus* // Процессы нефтехимии и нефтепереработки, – Баку: – 2008. №1, – с. 28-31.
3. Аббасов В.М. Самедова Ф.И., Кулиева Г.М. и др. Групповой углеводородный состав дистиллятов нефтей Сураханского месторождения Азербайджана // Нефтепереработка и Нефтехимия, – Москва: – 2009. №11, – с. 10-13.
4. Аббасов В.М. Самедова Ф.И., Кулиева Г.М. и др. Состав и структуры 50- градусных фракций Сураханской белой нефти из различных скважин // Процессы Нефтехимии и Нефтепереработки, – Баку: – 2003. № 4, – с. 8-12.
5. Аббасов В.М., Алиева Л.И., Самедов А.М. и др. Изучение бактерицидных свойств солей природных нефтяных кислот // Процессы нефтехимии и нефтепереработки, – Баку: – 2004. № 2, – с.18-25.
6. Аббасов В.М., Самедов А.М., Алиева Л.И. Ингибирующее и бактерицидное действие солей природных нафтеновых кислот при коррозии стали в морской воде // Физикохимия поверхности и защита материалов, – Москва: – 2008. т.44, № 4, – с. 427-431.

# ИК СПЕКТРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ЭФИРОВ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ БИМЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Никоненко Н.А., Иванов А.А., Инсарова Н.И.

*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь*

Водорастворимые эфиры целлюлозы находят применение в различных отраслях промышленности, медицине и в фармацевтической технологии. Среди них карбоксиметилцеллюлоза, метилцеллюлоза и гидроксиэтилцеллюлоза наиболее широко используются для создания препаратов биомедицинского назначения благодаря их реологическим и механическим свойствам. Важные свойства эфиров целлюлозы зависят от химической структуры заместителя и степени замещения.

Для изучения модификации структуры производных целлюлозы широко применяются методы спектрального анализа, в том числе и метод инфракрасной (ИК) спектроскопии. Однако ИК спектры полисахаридов представляют собой огибающую большого числа близкорасположенных перекрывающихся полос поглощения, что затрудняет проведение детальной интерпретации спектров этих соединений. Применение математических методов обработки спектральной информации позволяет выявлять тонкую структуру полос в спектрах сложных соединений и повысить информативность метода ИК спектроскопии.

Целью данной работы являлось изучение ИК спектров эфиров целлюлозы (карбоксиметилцеллюлоза, метилцеллюлоза и гидроксиэтилцеллюлоза) с применением математических методов обработки спектральной информации.

В результате применения математических методов улучшения разрешения получены тонкоструктурные экспериментальные ИК спектры исследуемых эфиров целлюлозы, обнаружены новые, ранее не разрешенные полосы поглощения.

Установлены характерные спектральные изменения, обусловленные введением в полимерную цепь целлюлозы объемных заместителей. По сравнению с природной целлюлозой исследуемые эфиры целлюлозы характеризуются значительным увеличением числа полос поглощения в диапазоне  $950-800\text{ см}^{-1}$ . Сделан вывод, что появление новых полос поглощения может быть обусловлено главным образом колебаниями атомных групп заместителей.

Проведен сравнительный анализ тонкоструктурных ИК спектров водных растворов и пленок исследуемых эфиров целлюлозы. Установлено, что в метилцеллюлозе преобладают внутримолекулярные связи, тогда как для гидроксиэтилцеллюлозы и карбоксиметилцеллюлозы характерно образование широкого набора внутри- и межмолекулярных водородных связей.

В ИК спектрах исследуемых эфиров целлюлозы выделена тонкая структура сложной полосы поглощения, обусловленной валентными колебаниями связей С-О.

Показано, что растворение производных целлюлозы в воде приводит к изменению числа и относительных интенсивностей индивидуальных составляющих сложных полос поглощения в их спектрах, что свидетельствует об изменении конформаций этих соединений.

Сопоставительный анализ тонкоструктурных ИК спектров эфиров целлюлозы свидетельствует о перспективности использования спектрального интервала  $950-800\text{ см}^{-1}$  для проведения конформационного анализа объемных боковых групп молекул исследуемых эфиров целлюлозы.

Установленные в работе спектральные характеристики эфиров целлюлозы имеют практическое значение для анализа их структурных модификаций с целью создания новых соединений медицинско-биологического назначения.

## ВЛИЯНИЕ ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ НА ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРОВАННОЕ ОБРАЗОВАНИЕ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА КАТИОННЫМИ ПИРИДИЛПОРФИРИНАМИ

Пархоц М.В.<sup>1</sup>, Лепешкевич С.В.<sup>1</sup>, Мкртчян Л.В.<sup>2</sup>, Закоян А.А.<sup>2</sup>, Гюльханданян А.Г.<sup>2</sup>,  
Сеферян Т.Е.<sup>2</sup>, Гюльханданян Г.В.<sup>2</sup>, Джагаров Б.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт физики НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Институт биохимии НАН Армении, Ереван, Армения

Разработка фотосенсибилизаторов, обладающих наибольшей селективностью накопления в опухолевых клетках, является в настоящее время одной из актуальных задач для успешного развития фотодинамической терапии – метода лечения онкологических заболеваний. Использование фолиевой кислоты (ФК) в качестве векторного компонента представляет особый интерес из-за ее низкой стоимости, высокой стабильности при хранении, неиммуногенности. Кроме того, сверхэкспрессия рецепторов ФК на поверхности эпителиальных клеток опухолей, локализованных на различных органах, позволяет использовать данный подход для лечения большого числа типов онкологических заболеваний. В настоящее время проводится множество исследований по созданию фотосенсибилизаторов (ФС) на основе комплексов порфиринов, хлоринов и других молекул с ФК. Установлено, что использование ФК приводит к существенному увеличению концентрации ФС в опухолевых тканях. Присоединение ФК осуществляется либо напрямую к ФС, либо с помощью полимерных спейсеров. Было обнаружено, что эффективность фотодинамического воздействия таких ФС сильно зависит от длины спейсера. Следует отметить, что на данный момент детально не исследованы причины изменения фотодинамической активности ФС в составе комплекса. Измерения фотофизических характеристик ФС и квантовых выходов фотосенсибилизированного образования синглетного кислорода ( $^1\text{O}_2$ ), основного цитотоксического агента, приводящего к деструкции опухолевых клеток, проводились в основном в органических растворителях без их детального анализа. Следовательно, при создании ФС направленного действия необходимо учитывать влияние ФК не только на накопление ФС, но и на изменение фотофизических характеристик ФС в комплексе с ФК.

В данной работе в качестве ФС использовались катионные пиридилпорфирины и их металлопроизводные. Для получения комплексов раствор порфирина титровали раствором ФК. Все исследования проводились в 0.1 М Na-фосфатном буфере pH 7.4.

На основании полученных спектральных и кинетических характеристик исследуемых образцов установлено, что катионные пиридилпорфирины образуют нековалентные комплексы с ФК. При образовании комплекса наблюдается смещение полос поглощения на ~6-8 нм в длинноволновую область спектра. Обнаружено, что увеличение концентрации ФК в растворе порфирина приводит к падению интенсивности люминесценции  $^1\text{O}_2$ , при этом его время жизни не зависит от концентрации ФК. Исследования фотофизических характеристик порфиринов показали, что при взаимодействии с ФК происходит увеличение времени жизни триплетного состояния и уменьшение квантового выхода интеркомбинационной конверсии порфиринов, что коррелирует с падением интенсивности люминесценции  $^1\text{O}_2$ . Полученные данные позволяют заключить, что падение интенсивности люминесценции  $^1\text{O}_2$  связано не с тушением синглетного кислорода фолиевой кислотой, а с уменьшением квантового выхода фотосенсибилизированного образования синглетного кислорода порфиринами в комплексе с ФК.

Таким образом, установлено, что взаимодействие катионных пиридилпорфиринов с ФК может существенно понизить их фотодинамическую активность за счет уменьшения квантового выхода фотосенсибилизированного образования синглетного кислорода.

## СПЕКТРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА НОВОЙ СТИРИЛОВОЙ ПРОИЗВОДНОЙ ТИОФЛАВИНА Т

Плигин Е.И.<sup>1</sup>, Воропай Е.С.<sup>2</sup>, Луговский А.А.<sup>2</sup>, Маскевич А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Гродненский государственный университет им. Янки Купалы, Гродно, Беларусь

<sup>2</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Стириловые производные тиофлавина Т являются перспективными флуоресцентными зондами для детектирования и исследования белковых соединений и их агрегатов. Благодаря свойствам молекулярных роторов, они имеют крайне низкий квантовый выход флуоресценции в маловязких средах, как, например, вода. Однако в вязких растворах и при встраивании в упорядоченные белковые агрегаты, амилоидные фибриллы квантовый выход их флуоресценции увеличивается на несколько порядков. Важным преимуществом новых красителей является то, что они флуоресцируют в красной области спектра, где существенно снижено поглощение биологических тканей. В настоящей работе рассмотрены спектральные свойства новой стириловой производной тиофлавина Т 2- $\{(1E,3E)-4-[4-(\text{диметиламино})-2,6\text{-диметилфенил}]буто-1,3\text{-диен-1-yl}\}$ -3-этил-1,3-бенз-тиазол-3-ум тозилат (Th-C23).

Th-C23 в водном растворе имеет максимум спектра поглощения на 520 нм и максимум спектра флуоресценции в красной области спектра (600 нм). В водном растворе при концентрации, превышающей  $1,0 \cdot 10^{-4}$  моль/л, имеет место агрегация молекул красителя, что сопровождается гипсохромным смещением спектра поглощения. Присутствие в растворе анионного красителя полистиролсульфоната (ПСС), имеющего низкую наномолярную концентрацию, усиливает процесс агрегации. Катионный полиэлектролит – полиаллиламин (ПАА), при аналогичной концентрации не вызывает изменений спектров поглощения красителя. Это указывает на то, что в водном растворе при нейтральных рН краситель существует в катионной форме.

Исследованы спектры поглощения и флуоресценции Th-C23 в растворителях различной полярности и вязкости, а также при его встраивании в структуру амилоидных фибрилл (АФ) и бычьего сывороточного альбумина (БСА). При уменьшении диэлектрической проницаемости растворителя наблюдается батохромный сдвиг спектра поглощения (около 50 нм) и спектра флуоресценции (около 10 нм). Спектр флуоресценции красителя при различных растворителях также характеризуется незначительным возрастанием интенсивности испускания при уменьшении полярности растворителя.

Характерной особенностью красителя является чрезвычайно низкий квантовый выход флуоресценции в маловязких растворителях ( $\sim 1,0 \cdot 10^{-4}$  в воде), который, однако, значительно увеличивается в вязких растворах и при встраивании в структуру белков или амилоидных фибрилл. В последнем случае квантовый выход увеличивается более, чем на три порядка. На основании экспериментальных исследований и квантово-химических расчетов показано, что Th-C23 проявляет свойства молекулярного ротора. Увеличение квантового выхода флуоресценции в вязких растворах и при встраивании в биополимеры является результатом ограничения торсионного вращения фрагментов молекулы, приводящего к тушению флуоресценции.

Длинноволновое положение спектра поглощения и спектра флуоресценции нового красителя в красной области спектра (соответственно 520 и 600 нм) позволяет использовать его в качестве флуоресцентного маркера, чувствительного к вязкости (жесткости) микроокружения не только в условиях *in vitro*, но и *in vivo*.

## СПЕКТРАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ СВЯЗЫВАНИЯ ИОНОВ МЕТАЛЛОВ С РЕКОМБИНАНТНЫМ ЛАКТОФЕРРИНОМ ЧЕЛОВЕКА

Семенов Д.А., Куприенко О.С., Вашкевич И.И., Свиридов О.В.

*Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Лактоферрин является полифункциональным белком, принадлежащим к семейству трансферринов. Данный гликопротеин, который присутствует помимо молока в плазме крови, нейтрофилах и практически всех экзокринных секретах млекопитающих, осуществляет перенос железа в клетки и контролирует уровень свободного металла в биологических жидкостях [1].

Усилиями ученых НАН Беларуси на основе результатов белорусско-российских программ созданы методы и биотехнологии получения рекомбинантного человеческого лактоферрина (рчЛФ), идентичного природному лактоферрину человека, в молоке трансгенных коз-продуцентов и выделения функционально активного белка в чистом виде [2]. Важной характеристикой чистого рчЛФ как конечного продукта научно-производственной цепочки выделения и очистки является его способность связывать и высвобождать ионы железа и других металлов.

Мы изучили спектральные проявления взаимодействия с рчЛФ ионов двух металлов ( $\text{Fe}^{3+}$  и  $\text{Eu}^{3+}$ ) высокого и среднего сродства к трансферринам. Известно, что все представители семейства трансферринов имеют максимумы поглощения света при 280 и 465 нм и оптическая плотность раствора белка существенно зависит от степени его насыщения железом, причем эта зависимость имеет нелинейный характер [3]. Действительно, за счет потери связанных ионов железа в денатурирующих условиях или цитратном буфере с pH 3,5 в присутствии хелатирующего агента рчЛФ поглощал при 280 нм менее интенсивно, чем интактный рчЛФ в натрий-фосфатном буфере с pH 7,4 при равных концентрациях белка, а полоса в видимой области спектра исчезала. В ходе добавления раствора хлорида железа (III) к исходному белку и получения комплекса рчЛФ- $\text{Fe}^{3+}$  наблюдался обратный эффект. Установлено, что абсорбционное отношение  $A_{280}/A_{465}$  для железоненасыщенной, исходной и железосодержащей форм белка равняется 580, 129 и 27, что соответствует степени насыщения рчЛФ около 2, 11 и 76%.

В проведенных экспериментах показано, что рчЛФ способен обратимо связывать ионы железа по типичному для трансферринов механизму, который включает взаимодействие ферри-катиона с фенолят-анионом остатка тирозина в активном центре, перенос заряда в образовавшемся комплексе и появление отдельной полосы поглощения в видимом спектре. Эта полоса исчезает вместе с разрушением комплекса.

В случае комплексообразования белком ионов европия прямое измерение абсорбции не показывало видимых изменений, но факт комплексообразования был установлен с помощью дифференциальной спектрофотометрии. Изменения конформации белка, в том числе индуцируемые лантанидами, могут менять окружение боковых цепей некоторых ароматических остатков, например, тирозинов, или вызывать более глубокие возмущения в электронных процессах из-за прямого вовлечения таких остатков в комплексообразование. В любом случае интенсивность возникающих сигналов невелика, и, как правило, они регистрируются только в дифференциальном режиме измерений абсорбции. Методом масс-спектрометрии найдено, что насыщение рчЛФ ионами  $\text{Eu}^{3+}$  в расчете на два металлсвязывающих сайта в молекуле белка составило 22%.

Такой комплекс, обладающий неповрежденной структурой белка и содержащий ион редкоземельного металла с интенсивной долгоживущей флуоресценцией, нашел полезное применение в исследованиях свойств рчЛФ и при изучении его взаимодействий с биологическими макромолекулами.

## Библиографические ссылки

1. Борзенкова Н.В., Балабушевич Н.Г., Ларионова Н.И. Лактоферрин: физико-химические свойства, биологические функции, системы доставки, лекарственные препараты и биологически активные добавки (обзор) // Биофармацевтический журнал. 2010. Т. 2, № 3. С. 3-19.
2. Лукашевич В.С., Будевич А.И., Семак И.В. и др. Получение рекомбинантного лактоферрина человека из молока коз-продуцентов и его физиологические эффекты // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. 2016. Т. 60, № 1. С. 72-81.
3. Majka G., Śpiwak K., Kurpiewska K. et al. A high-throughput method for the quantification of iron saturation in lactoferrin preparations // Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2013. Vol. 405, N 15. P. 5191-5200.

Семенов Д.А., Вашкевич И.И., Владыко А.С., Свиридов О.В. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ КОНКУРЕНТНОГО СВЯЗЫВАНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ЛАКТОФЕРРИНА ЧЕЛОВЕКА И ВИРУСА SARS-CoV-2 С ГЕПАРАНСУЛЬФАТ ПРОТЕОГЛИКАНАМИ

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ КОНКУРЕНТНОГО СВЯЗЫВАНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ЛАКТОФЕРРИНА ЧЕЛОВЕКА И ВИРУСА SARS-CoV-2 С ГЕПАРАНСУЛЬФАТ ПРОТЕОГЛИКАНАМИ

Семенов Д.А.<sup>1</sup>, Вашкевич И.И.<sup>1</sup>, Владыко А.С.<sup>2</sup>, Свиридов О.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Минск, Беларусь

Лактоферрин (ЛФ) – это широко известный металлопротеин, относящийся к системе врожденного иммунитета и участвующий в биохимических процессах острой фазы воспаления. Кроме связывания и транспорта ионов железа, одной из многочисленных функций ЛФ является его активность против широкого спектра вирусов человека и животных [1]. Наиболее изученный механизм противовирусной активности заключается в предотвращении данным белком проникновения вирусных частиц в клетки-мишени. Многие вирусы имеют тенденцию связываться с олигосахаридной частью гепарансульфат протеогликана клеточной поверхности, и после первоначального прикрепления вирусная частица взаимодействует со специфическими рецепторами ACE2 и попадает внутрь клетки. В литературе описано, что ЛФ обладает способностью связываться с данными гликозаминогликанами на поверхности клеток, препятствуя адгезии и последующей интернализации вируса [2]. Взаимодействие ЛФ с анионными биополимерами, в частности с гликозаминогликанами, обусловлено наличием в природном белке кластера положительно заряженных аминокислотных остатков на N-конце макромолекулы.

Нашей целью было изучить ингибиторную активность ЛФ человека из молока трансгенных коз-продуцентов (рчЛФ) в отношении специфических взаимодействий вируса SARS-CoV-2 в модельной системе *in vitro* для того, чтобы подтвердить идентичность катионной структуры и противовирусной функции рекомбинантного белка характеристикам природного ЛФ.

Для этого реакцией восстановительного аминирования был синтезирован белковый конъюгат гепарина в качестве модели гепарансульфат протеогликанов клеточной мембраны. Данный подход позволил нам получить биологический объект, приближенный к природному способом присоединения неветвящихся углеводных цепей сульфатированных гликозаминогликанов, несущих отрицательный заряд, к коровому белку. Отметим, что коммерчески доступный гепарин отличается от гепарансульфата степенью сульфатирования углеводной цепи.

Для оценки конкурентного ингибирования связывания вируса SARS-CoV-2 с белковым конъюгатом гепарина в присутствии рчЛФ, синтезированный конъюгат был адсорбирован через белковую часть в лунках пластмассового микропланшета. После предварительной обработки иммобилизованного конъюгата раствором рчЛФ (10 мкг на лунку) вносили вирусные частицы, которые были отобраны в РНПЦ эпидемиологии и микробиологии как потенциальный кандидат для получения белорусской вакцины от коронавируса, в количестве 100 нг. Образовавшийся на твердой фазе комплекс гепарина с вирусом выявляли путем последовательного внесения сыворотки человека, содержащей

антитела к вирусу, и антивидовых антител, меченных пероксидазой из корней хрена. Количество связавшегося фермента оценивали с помощью измерения оптической плотности раствора в лунках после добавления хромоген-субстратной смеси. В качестве контроля проводились эксперименты без обработки функционализированной твердой фазы раствором рчЛФ, а также с применением сыворотки здорового человека, не перенесшего COVID-19.

Выявлен блокирующий эффект рчЛФ на связывание вируса SARS-CoV-2 с иммобилизованным гепарин-белковым конъюгатом, имитирующим протеогликан на поверхности клетки-хозяина, который основан на сродстве рчЛФ к гликану. Предварительная обработка адсорбированного конъюгата раствором рчЛФ уменьшала примерно на 80% специфическое связывание вирусных частиц, внесенных в лунку. Полученные результаты позволяют, в частности, оценивать целостность структуры и активность рчЛФ в качестве субстанции пищевых добавок и фармацевтических средств и могут быть полезными в разработках комбинированных лекарств от коронавирусной инфекции.

### **Библиографические ссылки**

1. Van der Strate B.W., Beljaars L., Molema G. et. al. Antiviral activities of lactoferrin // *Antiviral. Res.* 2001. Vol. 52, N 3. P. 225-239.
2. Mirabelli C., Wotring J.W., Zhang C.J. et. al. Morphological cell profiling of SARS-CoV-2 infection identifies drug repurposing candidates for COVID-19 // *PNAS.* 2021. Vol. 118, N 36, e2105815118. P. 1-12.



## IN SILICO ПОИСК НОВЫХ КОВАЛЕНТНЫХ ИНГИБИТОРОВ БЕЛКА NSP2 КОРОНАВИРУСА SARS-CoV-2 СРЕДИ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Старовойтова В.А.<sup>1</sup>, Фалетров Я.В.<sup>1,2</sup>, Шкуматов В.М.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>НИИ физико-химических проблем БГУ, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Пандемия SARS-CoV-2 по-прежнему представляет собой глобальную угрозу и всегда будет представлять опасность, как и предыдущие коронавирусы группы 2b. Таким образом, разработка эффективных лекарств необходима для борьбы с текущей чрезвычайной ситуацией, связанной с COVID-19, и повышения готовности к будущим эпидемиям. Высокопроизводительный виртуальный скрининг часто используется для идентификации структур для дальнейших биологических анализов *in vitro*. В данной работе представлен результат обратного молекулярного скрининга *in silico* с использованием технологии докинга, нескольких структур белков SARS-CoV-2 и природных соединений и их аналогов, содержащих  $\alpha,\beta$ -ненасыщенные карбонильные фрагменты. Такие соединения способны образовывать ковалентные связи с атомами серы цистеина [1]. Молекулярный докинг выполнялся с помощью программы-помощника FYTdock, использующей AutoDock Vina, скрипт Vinana.py, oVabel, исполняемые файлы и оригинальные скрипты на языке Python, а также файлы Microsoft Excel с макросами [2]. При обработке результатов докинга (параметры exhaustiveness 12, ребро куба области докирования 4 нм) были выбраны несколько комплексов белок-лиганд, которые характеризовались энергиями связывания ( $E_{cb}$ ) от -8,0 до -9,8 ккал/моль, а также электрофильный атом лиганда которых находился в пределах 0,4 нм от атома серы цистеина белка. Для белка NSP2 (pdb коды 7msw или 7msx) такие комплексы были найдены со следующими лигандами: физалин С (CID101650329,  $E_{cb} = -9,8$ ) из физалиса, лобокрасолид (CID9975683,  $E_{cb} = -8,8$ ) из коралла Лобофитум толстый, бензоил-ивалина (CID9884868,  $E_{cb} = -9$ ) из Арники длиннолистной, соединение CID132585258 ( $E_{cb} = -8,4$ ), которое способно образовывать ковалентную связь с остатками цистеина убиквитин-конъюгирующего фермента [3], ахаленсолид (CID21634938,  $E_{cb} = -8,3$ ) из Стевии ахаленской (ингибитор ароматазы), беркедриман В (CID51723030,  $E_{cb} = -8,1$ ) из Пеницилла обыкновенного (противовоспалительные свойства), а также CID15866740 ( $E_{cb} = -9$ ), CID154496991 ( $E_{cb} = -8,3$ ), эупахлорин (CID5281446,  $E_{cb} = -8,2$ ), CID15866746 ( $E_{cb} = -8,5$ ). Дополнительно, для белка NSP10 (pdb код 7diy) такой комплекс обнаружен с лигандом ланцеокрепидиазидом F (CID21580547,  $E_{cb} = -8,9$ ) из Крепидиаструма ланцетного. Кроме того, для выбранных лигандов провели *in silico* оценку значений LD50 для крыс при четырех видах введения [4] и расчет коэффициентов проницаемости для различных мембран [5]. Соединения CID154496991, CID15866740 и CID15866746 показали низкую токсичность (4 или 5 класс токсичности для любого вида введения) и способность проникать через мембрану клеток.

Работа выполнена в рамках гранта БРФФИ Х21КОВИД-030.

### Библиографические ссылки

1. Serafim, R. A. M. et al. (2022) J. Med. Chem., 65, 3173.
2. Faletrov, Y.V., Staravoitava, V.A., Dudko A.R. et al. (2022) PREPRINT (Version 1) available at Research Square [<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1456627/v1>].
3. Chen H., Guozhen W., Gao S. et al. J. Med. Chem., 60, 6828.
4. Lagunin A., Zakharov A., Filimonov D., Poroikov V. (2011). QSAR modelling of rat acute toxicity on the basis of PASS prediction. Molecular Informatics, 30 (2-3), 241–250.
5. Lomize A.L., Pogozheva I.D., Mosberg H.I. J. Chem. Inf. Model. 2011, 51, 930–946. doi 10.1021/ci200020k

# ДИНАМИКА ФОТОИНДУЦИРОВАННОГО ВНУТРИМОЛЕКУЛЯРНОГО ПЕРЕНОСА ЗАРЯДА В БЕНЗОТИАЗОЛ-АНИЛИНОВЫХ КРАСИТЕЛЯХ

Степуро В.И.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Гродненский госуниверситет им. Янки Купалы, Гродно, Беларусь

<sup>2</sup>Международный государственный экологический институт им. А.Д. Сахарова БГУ, Минск, Беларусь

Фотоиндуцированные процессы переноса заряда и структурных перестроек в молекулах лежат в основе механизмов таких фотобиологических процессов, как фотосинтез [1], фоторецепция [2], и их характерные времена могут достигать фемтосекундного диапазона.

Катионные бензотиазол-анилиновые красители, одним из представителей которых выступает тиофлавин Т – флуоресцентный сенсор для детекции амилоидных фибрилл, являются удобной моделью для изучения динамики процесса внутримолекулярного переноса заряда в возбужденном электронном состоянии, сопровождаемого перестройкой геометрии (twisted intramolecular charge transfer, ТИСТ). Сенсорные свойства данных красителей к вязкости и полярности микроокружения определяются протеканием реакции переноса заряда с формированием промежуточного нефлуоресцентного ТИСТ-состояния в соответствии с моделью Гласбека [3].

Изменение геометрии молекул красителя при формировании ТИСТ-состояния может быть описано с использованием двух структурных координат: 1) кручением относительно С-С связи, соединяющей бензотиазольный и анилиновый фрагменты, и 2) изгибом длинной оси молекулы [4].

В зависимости от соотношения характерных времен сольватной и внутримолекулярной структурной релаксации, следующих за поглощением фотона молекулой, проявляются два режима протекания реакции переноса заряда с динамикой: 1) превышающей скорость сольватной релаксации и 2) ограниченной скоростью сольватной релаксации. Данное поведение определяет зависимость динамики ТИСТ-реакции от полярных свойств среды [5].

Введение заместителей в структуру катионных бензотиазол-анилиновых красителей позволяет в ~30 раз изменять эффективную скорость реакции переноса заряда в возбужденном состоянии, подстраивая сенсорные свойства молекул для разных диапазонов вязкостей. Основными факторами, влияющими на динамику ТИСТ-процесса, являются метилирование атома азота бензотиазола, изменение электронно-донорных свойств анилинового фрагмента, изменение размера испытывающих взаимное вращение молекулярных фрагментов.

Работа выполнена при финансовой поддержке ГПНИ «Конвергенция-2025», задание 3.01.3.3.

## Библиографические ссылки

1. Romero E., Augulis R., Novoderezhkin V.I. et al. Quantum coherence in photosynthesis for efficient solar-energy conversion // Nature Physics. 2014. Vol. 10. P. 676.
2. Polli D., Altoè P., Weingart O. et al. Conical intersection dynamics of the primary photoisomerization event in vision // Nature. 2010. Vol. 467. P. 440.
3. Stsiapura V. I. et al. Thioflavin T as a Molecular Rotor: Fluorescent Properties of Thioflavin T in Solvents with Different Viscosity // J. Phys. Chem. B. 2008. Vol. 112. P. 15893.
4. Stsiapura V. I. Solvent effect on excited state potential energy surfaces of Thioflavin T. Qualitatively different results by TDDFT and SA-2-CASSCF methods // J. Comput. Chem. 2020. Vol. 41. P. 1874-1884.
5. Stsiapura V. I. et al. Solvent Polarity Effect on Nonradiative Decay Rate of Thioflavin T // J. Phys. Chem. A. 2016. Vol. 120. P. 5481-5496.

## ОКИСЛЕНИЕ ТИАМИНА И ТИАМИН-ДИФОСФАТА ПОД ДЕЙСТВИЕМ ВИДИМОГО СВЕТА В ПРИСУТСТВИИ РИБОФЛАВИНА И МОНОФЕНОЛОВ

Степуро И.И.<sup>1</sup>, Агейко С.А.<sup>1</sup>, Смирнов В.Ю.<sup>2</sup>, Янецвич А.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси,  
Гродно, Беларусь

<sup>2</sup>Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

<sup>3</sup>Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Тиамин (Т) (или витамин В<sub>1</sub>) является важнейшим незаменимым фактором питания и используется в организме в качестве структурного компонента молекулы тиаминдифосфата (ТРР) – кофактора таких важнейших ферментов энергетического метаболизма, как пируватдегидрогеназа и  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназа. ТРР также является кофактором транскетолазы, фермента пентозофосфатного цикла, играющего ключевую роль в метаболизме эндотелия хрусталика, сетчатки и роговицы глаза. Воздействие солнечного света, как видимого, так и UVA диапазонов на структурные элементы глаза способно приводить к окислительным повреждениям, как вследствие прямого действия света, так и опосредованно (например, через генерацию активных форм кислорода) и накопление этих окислительных повреждений считается причиной возрастных заболеваний глаз. Мы предполагаем, что одним из факторов развития этих заболеваний может быть снижение активности транскетолазы вследствие фотолиза Т и ТРР. Целью данной работы было исследование фотосенсибилизированного рибофлавином (RF) окисления Т при воздействии ультрафиолета UVA диапазона или видимого света на водные растворы Т в присутствии монофенолов, проведение идентификации и установление строения молекул продуктов окисления витамина В<sub>1</sub>.

Фотолиз Т и ТРР проводился видимым и ультрафиолетовым светом ртутной лампы с использованием светофильтров. Продукты фотолиза разделялись хроматографически методом ВЭЖХ, характеризовались с помощью масс-спектрометрии и спектрально-флуоресцентных методов. Т устойчив к действию видимого света, однако, под действием ультрафиолета UVA диапазона он медленно окисляется. Облучение видимым светом в присутствии RF приводит к окислению Т в нейтральной среде с образованием тиохрома (TChr), ( $m/z = 262,0888$ ), оксодигидротиохрома (ODTChr) ( $m/z = 278,0837$ ), тиаминдисульфида ( $m/z = 563,223$ ) и неидентифицированного продукта фотолиза Т ( $m/z = 297,1011$ ). В последнем случае предположительно происходит окисление сульфидной серы тиазолового компонента Т синглетным кислородом с образованием сульфоксидов тиамин. Добавление азиды в облучаемые растворы ингибирует фотолиз Т в присутствии RF и выход продуктов фотолиза уменьшается. В присутствии монофенолов (тирозина и парацетамола) происходит увеличение скорости фотолиза Т, фотосенсибилизированного RF. Выход TChr ( $m/z = 262,0888$ ) возрастал примерно на порядок в присутствии тирозина и примерно на 2 порядка, если в растворе присутствовал парацетамол, по сравнению с облучаемыми растворами Т в смеси с RF в отсутствие монофенолов. Высказано предположение, что различие в эффективности фотолиза Т и TChr в присутствии RF связано с различием в конформациях данных молекул (непланарной для Т и планарной для TChr). Молекула тиохрома обладает планарной структурой и эффективно взаимодействует с молекулами RF в триплетном состоянии и окисляется с образованием карбонильных производных: ODTChr, оксотиохрома ( $m/z = 276,0681$ ) и 2,3-охо-Т, ( $m/z = 294,078$ ). Феноксильные радикалы тирозина, парацетамола, генерируемые RF под действием видимого света, являются триггером, запускающим превращение Т в TChr и далее в карбонилсодержащие производные тиохрома.

## 7-НИТРОБЕНЗОКСАДИ-4-ИЛ-ОРТО-ФЕНИЛЕНДИАМИН КАК НОВЫЙ ЛИГАНД ДЛЯ МЕТАЛЛОПРОТЕИНОВ: ОЦЕНКА *IN SILICO*

Фалетров Я.В.<sup>1,2</sup>, Завалинич В.А.<sup>1</sup>, Гвоздев М.Ю.<sup>1</sup>, Логинова Н.В.<sup>1</sup>, Шкуматов В.М.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>НИИ физико-химических проблем БГУ, Минск, Беларусь

*Орто*-фенилендиамин (OPD) имеет свойства, позволяющие его использование как субстрата пероксидаз [1] и, аналогично *о*-катехолам и *о*-аминофенолам, для цитохрома *c* [2]. Цитохромы *c* и пероксидазы имеют гем в качестве редокс-активной группы. Также *N*-ацил-OPD производные могут ингибировать гистон деацетилазы (HDACs). HDACs имеют ион  $Zn^{2+}$ , связанный с остатками His и Asp этих белков [3]. С другой стороны, 7-нитробензоксадиазольные (NBD) производные аминов способны хорошо поглощать видимый свет и даже флуоресцировать и используются как молекулярные пробы [4] для различных белков. Наиболее близким прототипом к полученному соединению является *N*-NBD-*пара*-аминофенол – флуорогенный субстрат пероксидаз [5]. Мы синтезировали NBD-производное OPD (NBD-OPD гидрохлорид) используя доступные NBD-Cl и OPD. Его чистота определялась ТСХ и спектрофотометрией. Для предварительной оценки спектрофотометрических свойств NBD-OPD мы провели основанный на Autodock Vina обратный виртуальный скрининг, используя оригинальную программу-помощник FyTdock [6], набор PDB структур цитохромов *c* и Zn-содержащих  $\beta$ -лактамаз бактерий и другие (всего 500 структур). Значения теоретической энергии связывания ( $E_{bind}$ ) были -10,5 (для РНКазы, PDB 3bk2) до -5,3 (для цитохрома *c*, PDB 3o1y). Для структур лактамаз PDB 2hb9, 5lcf, 5mm9 and 4ua4 ( $E_{bind}$  от -9,1 до -8,8) -NH<sub>2</sub> группа была вблизи иона цинка, что предполагает возможность ингибирования. Для структуры цитохрома *c* (PDB 6cun) была показана колокализация -NH<sub>2</sub> группы и Fe, что означает возможность окисления. Полученные данные дают ориентир о многовектрности изучения этого соединения.

Работа выполнена при поддержке ГПНИ (Беларусь) № 20210560 и персонального гранта компании Wargaming.net для В.А. Завалинич.

### Библиографические ссылки

1. Hu W.-C., Pang J., Biswas S. et al. (2021) Anal. Chem., 93, 8544
2. Loginova N.V., Koval'chuka T.V., Faletrov Y.V. (2011) Polyhedron, 30, 2581
3. Lauffer B.E. L., Mintzer R., Fong R. et al. (2013) J. Biol. Chem. 288, 26926
4. Faletrov, Y.V., Karpushenkova, V.S., Zavalinich, V.A. et al. (2021) J. Belarusian State Univ. Chemistry, 2, 25.
5. Wang C. et al. (2013) Analyst., 10, 2825
6. Faletrov, Y.V., Staravoitava, V.A., Dudko A.R., V.M. Shkumatov (2022) PREPRINT (Version 1) available at Research Square [<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1456627/v1>]

## О ВЛИЯНИИ АМИНОКИСЛОТНОЙ ЗАМЕНЫ Y20W НА ВТОРИЧНУЮ СТРУКТУРУ ПЕПТИДА, СООТВЕТСТВУЮЩЕГО ФРАГМЕНТУ РЕЦЕПТОР-СВЯЗЫВАЮЩЕГО ДОМЕНА ПАРВОВИРУСА В19

Хрусталёв В.В.<sup>1</sup>, Хрусталёва Т.А.<sup>1,2</sup>, Шалыго Н.В.<sup>1</sup>, Стожаров А.Н.<sup>1</sup>, Сапон Е.Г.<sup>3</sup>,  
Побойнев В.В.<sup>1</sup>, Акуневич А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>3</sup>Белорусский государственный технологический университет, Минск, Беларусь

Рецептор-связывающий домен парвовируса В19 находится на N-конце капсидного белка VP1. Его границы были установлены методом направленного мутагенеза [1]. Замена тирозина на триптофан в положении 20 (Y20W) практически полностью лишает вирус возможности проникнуть в цитоплазму [1]. Целью исследования явилось определение вторичной структуры синтетических пептидов (DT19Y – нативный, DT19W – мутантный), соответствующих предсказанной ранее [1] первой  $\alpha$ -спирали (аминокислотные остатки 13-31 белка VP1) из рецептор-связывающего домена, при физиологическом значении pH методом инфракрасной спектроскопии горизонтального нарушенного полного внутреннего отражения (ИК ГНПВО).

Анализ спектров, зарегистрированных с помощью Thermo Nexus 670 FT-IR ESP Nicolet (Thermo Scientific), показал, что в 0,01 М фосфатном буфере при pH = 7,4 пептид DT19Y образует как  $\beta$ -структуру, так и  $\alpha$ -спираль, так как на спектре имеются два пика в районе полосы амид I: 1625  $\text{см}^{-1}$  и 1657  $\text{см}^{-1}$  [2]. Фильтрация насыщенного раствора пептида DT19Y через центрифужный фильтр с нитроцеллюлозной мембраной с порогом отсечения 10 кДа (Merk) привела к выделению фракции раствора, в котором полоса амид I представлена одним пиком, соответствующим  $\alpha$ -спиральной конформации (1657  $\text{см}^{-1}$ ). Фильтрация того же раствора через мембрану с таким же порогом отсечения, материалом которой является полиэфирсульфон (Sartorius), привела к выделению фильтрата, в котором полоса амид I представлена двумя пиками:  $\alpha$ -спиральным (1658  $\text{см}^{-1}$ ) и  $\beta$ -структурным (1624  $\text{см}^{-1}$ ). Полученные данные могут свидетельствовать об избирательной адсорбции на поверхности нитроцеллюлозы  $\beta$ -структурной формы пептида DT19Y.

Пептид DT19W в 0,01 М фосфатном буфере при pH = 7,4 существует преимущественно в  $\alpha$ -спиральной форме: на спектре ИК ГНПВО присутствует только один пик в пределах полосы амид I (при 1658  $\text{см}^{-1}$ ). Фильтрация насыщенного раствора DT19W через нитроцеллюлозную мембрану не завершилась выделением достаточно концентрированной фракции для оценки особенностей вторичной структуры пептида методом ИК ГНПВО. Адсорбция того же пептида на полиэфирсульфоновой мембране не достигла таких высоких значений (интенсивность сигнала флуоресценции при длине волны 360 нм в фильтрате составила 21% от исходной), что позволило проанализировать вторичную структуру пептида из фильтрата: один  $\alpha$ -спиральный пик при 1658  $\text{см}^{-1}$ . Полученные данные свидетельствуют о том, что изученный фрагмент рецептор-связывающего домена парвовируса В19 может образовывать как  $\alpha$ -спираль, так и  $\beta$ -структуру при pH = 7,4. Замена Y20W сдвигает равновесие между  $\alpha$ -спиральной и  $\beta$ -структурной формами в сторону  $\alpha$ -спиральной. Можно предположить, что в составе полноразмерного белка данный фрагмент также может переходить в  $\beta$ -структурное состояние, в котором он и связывается с рецептором, чему препятствует замена Y20W.

### Библиографические ссылки

1. Leisi R., Di Tommaso C., Kempf C. et al. The receptor-binding domain in the VP1u region of Parvovirus B19 // *Viruses*. 2016. Vol. 8. N. 61. P. 1–16.

2. Sadat A., Joye I.J. Peak fitting applied to Fourier transform infrared and Raman spectroscopic analysis of proteins // *Appl. Sci*. 2020. Vol. 10. N. 5918. P. 1–16.

Шадыро О.И., Самович С.Н., Сосновская А.А., Едимечева И.П., Игнатович Л.В., Хруцкий В.Ю. СВОБОДНОРАДИКАЛЬНАЯ ФРАГМЕНТАЦИЯ ЛИЗФОСФАТИДИЛХОЛИНА В УСЛОВИЯХ ОТСУТСТВИЯ КИСЛОРОДА

Шадыро О.И.<sup>1,2</sup>, Самович С.Н.<sup>3</sup>, Сосновская А.А.<sup>1</sup>, Едимечева И.П.<sup>1</sup>,  
Игнатович Л.В.<sup>1,2</sup>, Хруцкий В.Ю.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>НИИ физико-химических проблем БГУ, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

<sup>3</sup>Питтсбургский университет, Питтсбург, США

Лизофосфолипиды, образующиеся в результате катализируемого фосфолипазами А<sub>2</sub> (ЕС 3.1.1.4) гидролиза глицерофосфолипидов биологических мембран и липопротеинов, способны вступать в реакции свободнорадикальной фрагментации [1]. Фрагментация лизофосфатидилхолина (ЛФХ), содержащего в положении sn-1 глицерола остаток пальмитиновой кислоты, протекает с образованием либо 2-оксопропилпальмитата и фосфохолина ( $K_{fr} = 10^6-10^7 \text{ c}^{-1}$ ), либо 2-оксопропилфосфохолина и пальмитата ( $K_{fr} = 10^5 \text{ c}^{-1}$ ). Нами было установлено, что концентрация 2-оксопропилпальмитата в сыворотке крови здоровых доноров составляет 1,7-28 мкМ (n = 34) и соотносится с физиологической концентрацией лизофосфолипидов в крови здорового человека (120-150 мкМ для С16:0 ЛФХ) [2], однако сатурацию крови также следует принимать во внимание, поскольку фрагментация ЛФХ относится к АФК-индуцированным свободнорадикальным процессам, и необходимо изучить влияние кислорода на закономерности свободнорадикальных превращений лизофосфолипидов.

Для моделирования фрагментации ЛФХ в отсутствие кислорода применялась деаэрированная водная дисперсия 10 мМ ЛФХ (50 мМ PBS, pH 7,4). Фрагментация ЛФХ была индуцирована гидроксильными радикалами, образующимися при  $\gamma$ -радиолизе воды с использованием изотопной гамма-установки МРХ- $\gamma$ -25М с источником излучения  $\text{Co}^{60}$  и мощностью дозы (0,14±0,01) Гр/с. Количественный анализ продуктов свободнорадикальной фрагментации проводился хромато-масс-спектрометрическим методом на газо-жидкостном и жидкостном хроматографах «Shimadzu». Радиационно-химический выход продуктов  $\gamma$ -радиолиза (n = 3, p < 0,05) фосфохолина, 2-оксопропилпальмитата, пальмитата и 2-оксопропилфосфохолина составил (5,71±0,57)·10<sup>7</sup> моль/Дж, (4,62±0,26)·10<sup>7</sup> моль/Дж, (2,94±0,28)·10<sup>7</sup> моль/Дж и (2,37±0,46)·10<sup>7</sup> моль/Дж соответственно.

Таким образом, в отсутствие кислорода свободнорадикальная фрагментация лизофосфатидилхолина протекает с преимущественным образованием липофильного 2-оксопропилпальмитата и гидрофильного фосфохолина, поэтому для оценки интенсивности протекания свободнорадикальных процессов в биологических системах при гипоксии использование данных соединений в качестве биомаркеров имеет преимущество перед другими продуктами свободнорадикальных превращений лизофосфолипидов.

Данное исследование выполнялось в рамках НИР (№ ГР 20210613) ГПНИ «Биотехнологии-2».

#### Библиографические ссылки

1. Shadyro O., Samovich S., Edimecheva I. Free-radical and biochemical reactions involving polar part of glycerophospholipids // Free Radical Biology and Medicine. 2019. Vol. 144. P. 6–15.
2. Tan S.T. et al. Emerging roles of lysophospholipids in health and disease // Progress in Lipid Research. 2020. Vol. 80. P. 101068.

**МЕМБРАННАЯ И КЛЕТОЧНАЯ  
БИОФИЗИКА**

## SYNTHESIS AND *IN SILICO* ESTIMATION OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF NEW ALKYNE-CHOLESTEROL CONJUGATE

Faletrov Y.<sup>1,2</sup>, Pozniak H.<sup>2</sup>, Shkumatov V.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Research Institute for Physical Chemical Problems, Belarusian State University, Minsk, Belarus

<sup>2</sup>Faculty of Chemistry, Belarusian State University, Minsk, Belarus

Alkyne derivatives of biomolecules have become popular tools due to their possibility to be detected inside cells using either CuAAC click chemistry [1] or Raman microscopy [2] approaches. Because cholesterol and hydroxycholesterols play many important roles as signaling molecules, labeled cholesterol analogues are used as molecular tools to understand better uptake, distribution and metabolism of the molecules [1-4]. A sterol derivative (CCF-EtAn) has been synthesized by conjugation of cholesteryl chloroformate with 3-ethynylaniline. CCF-EtAn purity and identity were confirmed using TLC ( $R_f=0,7$ ,  $SiO_2$ , eluent benzene:ethanol 4:1) and <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta=6.59$  (s, 1H), 5.46 (dd,  $J=4.9, 2.4$  Hz, 1H) (*B*-ring = *CH*-), 4.65 (tt,  $J=11.5, 4.8$  Hz, 1H) (*alkyne*). The structure has been considered to be new due to negative identical structure search results in Pubchem database, but structure of alkyne-cholesterol CID102257532 is its p-ethynyl analogue and CID102080258 is its superstructure. Biological properties of CCF-EtAn were estimated *in silico* using PerMM server (for phospholipid membrane permeability) [5]. Our PerMM calculations results (parameters: pH = 7.35, T = 37 °C); free energy of binding -10 kcal/mol, log of permeability coefficients for plasma membrane, BBB and Caco-2 models were found to be +3, -1.84 and -2,71, respectively) are in favor of good permeability of phospholipid membranes for CCFEtAn.

Inverse high-throughput virtual screening of potential targets among 1000 randomly chosen PDB structures of sterol-binding proteins using Autodock Vina [6] and a helper tool FYTdock [7] was done. The results revealed many hits. Top-5 hits include PDB structures of cytochromes P450, namely, 5frb and 6q2t (CYP51) with energy of binding value ( $E_{bind}$ ) -14.6 and -13.9, respectively, 3mzs and 3na0 (CYP11A1) with  $E_{bind}$  -14.3 and -14.0, respectively, as well as 6bd6 (CYP3A4) with  $E_{bind}$  -13.8. Few different steroidogenic acute regulatory protein-related domain (START) proteins [8] were found among the hits too. According to our results, CCF-EtAn binding with START type proteins was shown, e.g. for structures 3P0L and 5OMA (human STARD1) with  $E_{bind}$  -9.2 and -7.4, respectively, as well as for 6BYM and 5YS0 (*S. cerevisiae* Star-kin Lam4 and Star-kin Lam2,) with  $E_{bind}$  -12 and -11, respectively. In the case of STARD1, the ligand is introduced into the protein by the non-polar side chain of cholesterol, while in the case of the Lam proteins – by its polar part attached to its ring A. The result helps to shed light on understanding of the binding processes and cholesterol orientation in the STARD1 complex in particular. Gaussian-performed quantum chemical calculations allowed to estimate the Gibbs energy change ( $\Delta G$ ) for a reaction modeling a covalent modification of a Lys residue by CCG-EtAn at HF/STP-3G theory level showing it is possible.

This study was supported by GPSR (Belarus) № 20210560 and a grant of Ministry of Education (Belarus) to H.P.

### Bibliographic references

- Hofmann, K., Thiele, C., Schött H. et al. (2014) *J. Lipid Research*, 55, 583.
- Yamaguchi, S., Matsushita, T., Izuta, S. et al. (2017) *Sci. Rep.*, 7, 41007.
- Faletrov, Y.V., Efimova, V.S., Horetski, M.S. et al. (2020) 227, 104850.
- Faletrov, Y.V., Pozniak, H.I., Yakovets, P.S. et al. (2022) 58, 62.
- Lomize, A.L., Pogozheva, I.D., Mosberg H.I. (2011) *J. Chem. Inf. Model.*, 51, 930.
- Trott, O., Olson A.J. (2010) *J. Comp. Chem.*, 31, 455.
- Faletrov, Y.V., Staravoitava, V.A., Dudko A.R. et al. (2022) PREPRINT (Version 1) available at Research Square [<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1456627/v1>]
- Tugaeva K.V., Faletrov Y.V., Allakhverdiev E.S., Shkumatov V.M. et al. (2018) *Biochemical and Biophysical Research Communications* doi: 10.1016/j.bbrc.2018.02.014.



## МОДИФИКАЦИЯ РЕДОКС-АКТИВНОСТИ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ 2-ГЕКСАДЕЦЕНАЛЕМ

Богданова А.В.<sup>1</sup>, Амаэгбери Н.В.<sup>1</sup>, Семенкова Г.Н.<sup>1</sup>, Полешко А.Г.<sup>2</sup>,

Квачева З.Б.<sup>2</sup>, Шадыро О.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Известно, что клетки кожи богаты различными сфинголипидами. Доминирующим классом липидов в коже являются церамиды [1]. Ранее установлено, что в условиях оксидативного стресса, обусловленного действием  $\gamma$ -, УФ-излучения и НОС1 происходит свободнорадикальная деструкция ряда сфинголипидов с образованием 2-гексадеценаля (2-ГД) в качестве одного из продуктов [2]. Фибробласты являются основным компонентом кожи, локализованным в дермальном слое, и играют ключевую роль в поддержании гомеостаза и обеспечении морфофункциональной организации кожи. Мы предположили, что накопление 2-ГД в результате деструкции сфинголипидов под действием факторов окружающей среды (в частности, УФ) в дермальных фибробластах может существенно влиять на их метаболизм и функциональную активность. В связи с этим целью данного исследования явилось определение механизмов влияния 2-ГД на жизнеспособность и редокс-активность фибробластов дермы.

Культуру фибробластов дермы получали методом эксплантов из биоптата кожи человека и накапливали в пассажах *in vitro*. В экспериментах использовали клетки 2-3 пассажей в логарифмической фазе роста. Уровень восстановленного глутатиона (GSH) в клетках, величину митохондриального мембранного потенциала, а также способность фибробластов генерировать  $H_2O_2$  определяли с использованием флуоресцентных зондов MCV, JC-1 и  $H_2DCFDA$ , соответственно, на спектрофлуориметре CM 2203 («Солар», Беларусь). Жизнеспособность клеток оценивали с помощью коммерческого набора Annexin V-FITC.

Установлено, что инкубирование фибробластов в течение 30 мин с 2-ГД в концентрации 25, 50 и 100 мкМ приводит к дозозависимому снижению GSH и увеличению продукции  $H_2O_2$ . Снижение уровня GSH в клетках, как правило, связано с увеличением продукции активных форм кислорода и является сигналом к индукции апоптоза за счет активации рецепторов смерти или инициации митохондриального пути [3]. Установлено, что 2-ГД в концентрации 50 и 100 мкМ приводит к значительному снижению митохондриального мембранного потенциала культуры фибробластов, что свидетельствует о нарушении функционирования электрон-транспортной цепи митохондрий. В тех же концентрациях 2-ГД активирует апоптоз и некроз, уменьшая жизнеспособность клеток в культуре.

Исходя из полученных данных, можно заключить, что накопление 2-ГД в фибробластах дермы в результате УФ-индуцированной фрагментации сфинголипидов в зависимости от его концентрации приводит к модификации окислительно-восстановительной активности и снижению их жизнеспособности.

### Библиографические ссылки

1. Knox S., O'Boyle N. M. Skin lipids in health and disease: A review // Chem Phys Lipids. 2021. Vol. 236:105055.
2. Shadyro O., Lisovskaya A., Semenkova G. et. al. Free-radical destruction of sphingolipids resulting in 2-hexadecenal formation // Lipid insights. 2015. Vol. 8. P. 1–9.
3. Circu M.L., Aw T.Y. Glutathione and modulation of cell apoptosis // Biochim. Biophys. Acta. 2012. Vol. 1823. P. 1767–1777.

## ПРОСТРАНСТВЕННАЯ КОГЕРЕНТНОСТЬ СВЕТОРАССЕЯНИЯ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ МИКРОСТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ РАСТИТЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ

Будяковская О.Н.<sup>1,2</sup>, Будяковский А.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Федеральный научный центр им. И.В.Мичурина, Мичуринск, Россия

<sup>2</sup>Мичуринский государственный аграрный университет, Мичуринск, Россия

В процессе жизнедеятельности и под действием различных факторов в растительных тканях происходят микроструктурные перестройки, динамика и интенсивность которых являются критериями жизнеспособности, устойчивости, развития патологий и репарационных процессов. Для их регистрации, как правило, используют препаративные анатомические методы, конфокальные микроскопы, современные технологии ядерно-магнитного резонанса и компьютерной томографии. С целью количественной неразрушающей оценки микроструктурных изменений растительных тканей разработан метод и компьютеризированное оборудование, позволяющие проводить измерения в процессе жизнедеятельности. Метод основан на представлении растительной ткани в виде фазового экрана, приводящего к изменению пространственной корреляционной функции лазерного излучения в результате рассеяния объектом. Основными фазовыми неоднородностями растительной ткани являются клеточные стенки, межклеточные и внутриклеточные воздушные пространства, клеточные органеллы, зерна крахмала, с размером от единиц до нескольких десятков микрон. На базе светосильного поляризационного интерферометра сдвига разработано компьютеризированное оптико-электронное оборудование, позволяющее в режиме реального времени снимать корреляционную функцию, оценивать степень пространственной когерентности (СПК) и радиус корреляции ( $R_{\text{cor}}$ ) рассеянного излучения по заданному уровню.

Установлено, что критичное снижение интенсивности и степени когерентности лазерного пучка происходит при взаимодействии с более чем десятью клеточными слоями, что позволяет проводить измерения любых растительных тканей и органов в режиме отражения и листьев – в режиме как отражения, так и пропускания.

Использование параметра СПК при оптической диагностике плодов и овощей значительно увеличивает точность распознавания механических дефектов по сравнению со стандартными спектрофотометрическими методами. При этом величина информационного сигнала практически не зависит от помологического сорта, биохимического состояния покровных и сочных тканей плода, времени нанесения повреждений, а определяется только их микроструктурным состоянием. Когерентность отраженного излучения от неповрежденной поверхности большинства фруктов, овощей и корнеплодов в 2,4-4,6 раз выше, чем в зоне механических повреждений типа сдира, прокола, сетки и т.п. Выявлено, что значения СПК и  $R_{\text{cor}}$  лазерного пучка, отраженного от экваториальной зоны груш, томата и абрикоса коррелируют ( $r > 0,92$ ) с их твердостью, измеренной с помощью пенетromетра. Эти показатели также использованы для анализа зрелости плодов яблони и их качества при длительном хранении и степени регенерации тканей в процессе заживления механических повреждений.

Разработанный метод эффективен для экспресс-оценки реакции листьев растений на токсичные вещества (соединения тяжелых металлов и хлоридное засоление); динамики развития грибной и вирусной инфекции и возможности ее выявления уже в латентной фазе; регистрации дефицита микро- или макроэлементного питания; генетической специфичности растений и связанных с ней хозяйственно-ценных признаков, таких как скороспелость растений фейхоа и потенциальная (конституционная) устойчивость сортов озимой пшеницы, крыжовника и черной смородины к мучнистой росе.

## НУЖНА ЛИ КЛЕТКАМ КОГЕРЕНТНОСТЬ СВЕТА?

Будоговский А.В.<sup>1,2</sup>, Будоговская О.Н.<sup>1,2</sup>, Соловьев Н.В.<sup>2</sup>, Маслова М.В.<sup>1</sup>,  
Грошева Е.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Мичуринский государственный аграрный университет, Мичуринск, Россия

<sup>2</sup>Федеральный научный центр им. И.В.Мичурина, Мичуринск, Россия

В фоторегуляторных процессах статистические (когерентные) свойства оптического излучения остались за границей внимания исследователей. Причиной явилось распространённое мнение что «когерентность света действительно несущественна» для функционирования биологических систем [1]. В подтверждение используют три аргумента: в долазерную эру в природе не существовали источники когерентного излучения, когерентный и некогерентный свет вызывают одинаковую фотоиндуцированную реакцию, в клетках отсутствуют механизмы для его использования [1-3]. Эти утверждения ошибочны.

Любое оптическое излучение обладает определённой, хотя и различной статистической упорядоченностью, которую можно количественно оценивать по характеристическим значениям корреляционных функций. Поля со сравнительно высокой корреляцией фаз волновых фронтов существуют и в живых организмах. В работах F.-A. Ropp, R. Vajrai, A.M. Кузина и др. показано, что клетки способны генерировать когерентные фотоны. С позиций квантовой когерентности рассматривают процессы фотосинтеза, селективной проницаемости биомембран, миграции экситонов в биополимерах [4]. Проведенные нами исследования показали, что в спектральных диапазонах фоторегуляторных реакций изменение функциональной активности бактерий, грибов и растений в значительной степени зависит от статистических свойств излучения [5, 6]. При этом эффект проявляется как при прямой, так и обратной фотоконверсии фитохрома.

Способность живых организмов генерировать когерентные фотоны и реагировать на них изменением функциональной активности указывает на физическую возможность нехимической (полевой) внутри- и межклеточной коммуникации, что получило экспериментальное подтверждение [7-9]. Следовательно, когерентность света клеткам нужна.

### Библиографические ссылки

1. Лобко В. В., Кару Т. Й., Летохов В. С. Существенна ли когерентность низкоинтенсивного лазерного света при его воздействии на биологические объекты //Биофизика. 1985. Т. 30. №2. С. 366-371.
2. Smith K. C. Laser (and LED) therapy is phototherapy //Photomedicine and Laser Therapy. 2005. Vol.23. №. 1. P. 78-80.
3. Клебанов Г.И., Шураева Н.Ю., Чичук Т.В. и др. Сравнительное исследование влияния излучения лазера и светодиодов на перекисное окисление липидов раневого экссудата крыс // Биофизика. 2006. Т. 51, Вып. 2. С. 332–339.
4. Lloyd S. Quantum coherence in biological systems //Journal of Physics: Conference Series. – IOP Publishing, 2011. Vol. T. 302. №. 1. P. 012037.
5. Budagovsky A.V., Solovykh N.V., Yankovskaya M.B. et al. Effect of spatial coherence of light on the photoregulation processes in cells // Phys. Rev. E. 2016. Vol. 94. P. 012411.
6. Budagovsky A. V. et al. Influence of far-red light coherence on the functional state of plants //Physical Review E. 2021. Vol. 103. №. 1. P. 012411.
7. Budagovskii A. V., Turovtseva N. M., Budagovskii I. A. Coherent electromagnetic fields in the remote intercellular interaction //Biofizika. 2001. Vol. 46. №. 5. P. 894-900.
8. Cifra M., Fields J. Z., Farhadi A. Electromagnetic cellular interactions //Progress in biophysics and molecular biology. 2011. Vol. 105. №. 3. P. 223-246.

## ВЛИЯНИЕ АМИЛОИДОВ НА ЛИМФОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Венская Е.И., Лукьяненко Л.М., Скоробогатова А.С., Слобожанина Е.И.

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Ряд нейродегенеративных и других заболеваний сопровождаются накоплением амилоидов в различных органах и тканях. До сих пор не существует однозначного мнения о механизмах влияния амилоидов на различные клеточные системы организма человека и роли окислительного стресса в этих процессах. Некоторые авторы считают, что генерация активных форм кислорода (АФК) является одним из звеньев развития патологических процессов, протекающих при амилоидозах, другие полагают, что формирование амилоидов рассматривается как защитная компенсаторная реакция в ответ на развитие деменции в организме человека. Основываясь на литературных данных, мы предположили, что окислительный стресс, возникающий в организме по различным причинам (негативное влияние окружающей среды, воспалительные процессы, вирусные инфекции), может являться триггером развития патологического процесса, связанного с отложением амилоидов. Для проверки этой гипотезы изучено воздействие амилоидных фибрилл на лимфоциты человека в условиях окислительного стресса. В качестве индуктора окислительного стресса была использована трет-бутилгидроперекись (t-BHP). Цель данной работы – изучить влияние сочетанного действия амилоидных фибрилл, полученных из лизоцима, и t-BHP на процессы, характеризующие функциональное состояние лимфоцитов человека: уровень АФК, изменение липидного бислоя их мембран и степень повреждения ДНК. Лимфоциты выделяли из периферической крови человека в градиенте плотности гистобака. Амилоидные фибриллы получали из лизоцима куриного яйца. Контроль за процессом образования амилоидов из лизоцима осуществляли флуоресцентным методом с использованием тиофлавина Т. О физико-химическом состоянии липидного бислоя мембран клеток судили по изменениям параметров флуоресценции липофильных зондов: 2-диметиламино-6-лауроилнафталина (лаурдана), 1-(4-триметиламмоний)-6-фенил-1,3,5-гексатриена (ТМА-ДФГ) и пирена. Окислительный статус лимфоцитов человека определяли флуоресцентным методом с помощью зонда 2,7-дихлордигидрофлуоресцеин-диацетата (H<sub>2</sub>DCF-DA), а также методом хемилюминесценции. Изучение генотоксического эффекта воздействия на лимфоциты амилоидных структур проведено методом определения повреждений ДНК в отдельной клетке – метод «ДНК-комет». Эксперименты были проведены на лимфоцитах, выдержанных в PBS-буфере, pH 7,4 (контроль); а также на лимфоцитах, проинкубированных в буфере, содержащем амилоидные фибриллы в концентрации 20 мкг/мл; 1 мМ t-BHP; амилоидные фибриллы в концентрации 20 мкг/мл и 1 мМ t-BHP. Обнаружено, что сами амилоидные фибриллы не оказывают влияния на процесс генерации АФК и повреждение ДНК в лимфоцитах человека. Однако, при сочетанном воздействии на лимфоциты амилоидных фибрилл и t-BHP мы наблюдали более выраженное изменение микровязкости липидного бислоя мембран лимфоцитов и увеличение генерации АФК в клетках по сравнению с контрольными клетками и клетками, подвергшимися воздействию отдельно амилоидов или t-BHP. Таким образом, амилоидные фибриллы при воздействии на лимфоциты человека *in vitro*, усиливают окислительный стресс, вызванный t-BHP, проявляющийся в интенсификации процессов генерации АФК, усилении повреждения ДНК, изменении структурно-функционального состояния липидного бислоя мембран лимфоцитов крови.

## ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ПОЛЯ ВЫСОКОГО НАПРЯЖЕНИЯ (50 Гц) НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФ-азы

Дадашов М.З.<sup>1</sup>, Джафар Н.А.<sup>2</sup>, Оруджова А.Я.<sup>1</sup>, Мамедзаде Ч.С.<sup>1</sup>, Джафар Н.Ш.<sup>1</sup>,  
Гусейнов Т.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт Биофизики НАН Азербайджана, Баку, Азербайджан,

<sup>2</sup>Клиника MediClub, Баку, Азербайджан

Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФ-аза представляет собой олигомерный интегральный мембранный белок, осуществляющий асимметричное распределение ионов Na<sup>+</sup> и K<sup>+</sup> во внутренней и внешней среде клеток путем активного транспорта, и таким образом контролирующей поддержание клеточного объема, рН и уровней Ca<sup>2+</sup>, а также мембранный потенциал в клетках. Благодаря этим механизмам происходит определенная регуляция обмена веществ и энергии в ответ на внешние воздействия [1, 2]. Целью данной работы было исследование изменения функциональной активности Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФ-азы эритроцитов под воздействием электромагнитных полей (50 Гц) антропогенного происхождения.

Для оценки активности Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФ-азы эритроциты практически здоровых доноров, после промывания по стандартной методике, разбавляли в 10 раз изотоническим 0,01 М Tris-HCl буферным раствором, содержащим 0,145 М NaCl и помещали на 30 и 60 мин под действие электрического поля (ЭП) интенсивностью 20 кВ/м и частотой 50 Гц (ЭП создавали трансформатором И-50). Контрольные образцы содержались в аналогичных условиях в отсутствие воздействия ЭП. Активность Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФ-азы как в опытных, так и в контрольных образцах определяли в мкмоль/ч на 1 мл эритроцитов путем измерения количества неорганического фосфата в реакционной среде. Для контрольных образцов активность Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФ-азы определяли как 27,3±2,6 мкм/ч на 1 мл эритроцитов без существенных отклонений. Были установлены дозозависимые изменения активности ферментов в образцах эритроцитов после 30 и 60 мин воздействия ЭП. Так, в экспериментальных образцах наблюдалось снижение активности фермента до ~11,7% при 30-минутной экспозиции и на ~35,6% при 60-минутной экспозиции. Полученные результаты показывают, что наблюдаемая вариабельность активности Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФ-азы изолированных эритроцитов здорового человека под действием высоковольтных ЭП в 50 Гц связана с устойчивостью эритроцитов к стрессу, вызываемому ЭМП, и этот эффект зависит от времени воздействия электрического поля и биохимико-генетических резервов клеток. Полученные результаты могут быть полезны для регулирования активности ферментов.

### Библиографические ссылки

1. Шамансурова З.М., Мухамедова Ф.А., Цой А.Г., Ташманова А.Б., Алиева А.В., Ахрарова Н.А. Нарушение активности натрий-калиевой АТФазы эритроцитов у пациентов с сахарным диабетом. Сахарный диабет. 2009, т.1, №2, с.5-57, <https://doi.org/10.14341/2072-0351-5399>
2. Болдырев А.А. Роль Na/K-насоса в возбудимых тканях (обзор) Journal of Siberian Federal University. Biology 3, 2008 с.206-225

## ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ НИТРИТА НАТРИЯ НА МЕМБРАНОСВЯЗАННЫЕ ФЕРМЕНТЫ ЭРИТРОЦИТОВ

Джафарова С.А.<sup>1</sup>, Джафар Н.А.<sup>2</sup>, Оруджова А.Я.<sup>1</sup>, Мамедзаде Ч.С.<sup>1</sup>, Умудлу У.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт Биофизики НАН Азербайджана, Баку, Азербайджан,

<sup>2</sup>Клиника MediClub, Баку, Азербайджан

Источниками гипоксии на клеточном уровне, являющейся причиной и следствием ряда критических состояний, могут быть случаи острой и хронической нитритной интоксикации, приводящие к метгемоглобинемии в эритроцитах и окислению гема [1, 2]. Нитритная интоксикация может иметь значительный мембранотоксический эффект, влияющий на мембраносвязанные белки ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-аза, лактатдегидрогеназа (ЛДГ)). С этой целью были изучены изменения функциональной активности эритроцитарных ЛДГ,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-азы под влиянием окислительного стресса, вызванного токсическими дозами нитрита натрия.

В исследованиях проанализированы окислительные процессы, индуцируемые различными дозами нитрита натрия ( $\text{NaNO}_2$ ) (нетоксичный 0,07; субтоксичный 0,70; токсичный 7,00 мМ) в изолированных мембранах эритроцитов доноров ( $n = 15$ ). Результаты показывают, что действие нетоксичных доз  $\text{NaNO}_2$  (0,07 мМ) приводило к некоторому снижению уровня малонового диальдегида (МДА), субтоксических (0,7 мМ) доз  $\text{NaNO}_2$  к увеличению количество МДА в 1,2 раза, токсическая доза  $\text{NaNO}_2$  (7,0 мМ) значительно увеличивала (в 2 раза) накопление продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), соответственно по сравнению с контролем. Под влиянием интенсификация процессов ПОЛ, при субтоксических (0,7 мМ) и токсических (7,0 мМ) дозах  $\text{NaNO}_2$  наблюдалось снижение активности фермента ЛДГ в 1,1 и 1,3 раза, соответственно по сравнению с контролем. Было отмечено при низких концентрациях нитрита (из-за некоторой щелочности растворов нитрита натрия) слабое повышение активности фермента  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-азы (нетоксичные дозы) и значительное снижение активности при увеличении концентрации (субтоксические (1,2 раза) и токсические (в 3,0 раза) дозы).

На основании полученных результатов можно сказать, что токсические дозы нитрита оказывают заметное влияние на мембранные белки –  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-азы и ЛДГ, снижая их активность. Это снижение возможно за счет окисления аннулярных липидов в результате интенсификации ПОЛ, нарушающего функциональную целостность и структуру мембранных белков. Изменение активности ЛДГ и  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-азы в эритроцитах при усилении ПОЛ мембран под влиянием токсических факторов (7,00 мМ  $\text{NaNO}_2$ ) может влиять на деформационную способность и стабильность эритроцитов.

### Библиографические ссылки

1. Цой Е.М., Коваленко Р.И., Кузьмин Д.А. Сравнительно-физиологическое исследование участия лейкоцитов в инициации перекисного окисления липидов при нитритной интоксикации у крыс и ондатр. Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2008, т. 44, № 4, с.403-408.
2. Голубева Е.К., Назаров С.Б. Влияние острой нитритной интоксикации на эритроциты в раннем постнатальном онтогенезе у крыс. Вестник новых медицинских технологий 2011, т. XVIII, № 1, С. 93-95

## ВЛИЯНИЕ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ

Джафарова С.А.<sup>1</sup>, Джафар Н.А.<sup>2</sup>, Мамедзаде Ч.С.<sup>1</sup>, Джафар Н.Ш.<sup>1</sup>, Гусейнов Т.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт Биофизики НАН Азербайджана, Баку, Азербайджан,

<sup>2</sup>Клиника MediClub, Баку, Азербайджан

Известно, что ферменты и ферментные комплексы, ассоциированные с мембранными системами, могут изменять свои каталитические свойства при интенсификации процессов свободнорадикального окисления вследствие воздействия стрессорных факторов (низкие и высокие температуры, изменение рН и т.д.) [1, 2]. Однако остается неизученным влияние факторов среды, ставшими неблагоприятными в результате деятельности человека, на каталитическую активность гликолитических ферментов.

Целью данного исследования было изучение влияния неблагоприятных экологических факторов на изменение активности гликолитического фермента лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в плазме крови и в лизате эритроцитов. Исследовалось влияние токсических доз нитритов (7,00 мМ), окислительное действие умеренных доз (10 кДж/м<sup>2</sup>) ультрафиолетового облучения (УФ) и влияние электрического поля высокого напряжения (24 кВ/м) (ЭПВН) на функциональную стабильность ЛДГ.

После 20-ти часовой экспозиции плазмы крови и суспензии эритроцитов практически здоровых доноров под ЭПВН было установлено значительное понижение активности фермента по сравнению с контролем. Функциональная активность ЛДГ в плазме крови доноров после 20-ти часовой выдержки под ЭПВН была понижена в 2 раза, а в лизате эритроцитов в 1,2 раза по сравнению с контролем соответственно.

Также были проведены опыты для выяснения токсических доз нитритов, способных к угнетению функциональной активности фермента ЛДГ. Было установлено, что при инкубации в течении 30 мин при 37 °С плазмы и суспензии эритроцитов с раствором нитрита натрия в конечной концентрации 7,0 мМ/мл активность фермента была существенно подавлена. Это выражалось в снижении активности ЛДГ в плазме в 2,4 раз и в лизате эритроцитов 1,4 раза по сравнению с контролем.

В опытах с индуцированием УФ-окислительных процессов в плазме и суспензии эритроцитов было установлено, что после облучения УФ 10 кДж/м<sup>2</sup> активность ЛДГ снижалась в 2,1 и 1,1 раза соответственно.

Таким образом, было установлено, что неблагоприятные факторы экологии имеют влияние на функциональную активность ЛДГ. Причем в плазме крови эта разница была более выражена, чем в лизате эритроцитов, что очевидно связано с антиокислительной активностью липидной фракции мембран эритроцитов, защищающих от окисления мембраносвязанные белки.

### Библиографические ссылки

1. Бедняков Д.А., Невалённый А. Н. Влияние температуры и рН на уровень активности пищеварительных ферментов ленского осетра (*Acipenser baerii*) // Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство. 2013. №1.

2. Игнатъева С.Н., Кубасов Р.В. Метаболические адаптационные возможности организма к обучению студентов медицинского вуза на Европейском Севере. Вестник РАМН. 2014; 11–12: с.84–88

## СРАВНЕНИЕ ПОРООБРАЗУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ЦИТОХРОМА С ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОМ рН И В ИЗОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ ТОЧКЕ МЕТОДОМ БЛМ

Жиленкова А.Е., Юдаева А.Д., Корепанова Е.А.

*Российский национальный исследовательский медицинский университет  
им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия*

**Введение.** Как известно, апоптоз – запрограммированная клеточная смерть – осуществляется двумя путями: внешним (рецепторным) и внутренним (митохондриальным). Важнейшим событием для осуществления внутреннего пути является выход цитохрома с в цитозоль, который запускает образование апоптосом, что приводит к активации каспаз. Молекула цитохрома с заряжена положительно, благодаря большому количеству Lys и His, которые образуют несколько сайтов связывания белка с липидами, фосфолипиды мембраны несут отрицательный заряд, следовательно, просто цитохром с не может преодолеть гидрофобный барьер.

**Материалы и методы.** Мембрана для метода бимолекулярных липидных мембран (БЛМ) формировалась по Мюллеру на круглом отверстии в стенке тефлоновой камеры диаметра 0,8 нм из азолектина в н-декане с концентрацией 28 мг/мл (азолектин из соевых бобов, Sigma). В каждый из отсеков камеры помещали хлорсеребряный электрод и заливали 2,5 мл 100 мМ KCl, 5 мМ Tris-HCl рН 7,4 в первом эксперименте и 100 мМ KCl, 5 мМ Tris-HCl рН 10,7 во втором. Цитохром с (Sigma) добавляли в концентрации 5 мг/мл. После формирования модельного бислоя производились ассиметричные добавки (в одну камеру) цитохрома с по 30 мкл до 120 мкл. На электроды подавалось переменное пилообразное напряжение равное +/-100 мВ и постоянное напряжение +30 и -30 мВ.

**Результаты и выводы.** Далее рассчитывались значения ёмкости мембраны, которые составили от 1799 до 2093,75 пФ при рН 7,4 и от 1730 до 2674 пФ при рН 10,7. Рассчитанные значения проводимости при рН 7,4 менялись незначительно, от 31,25 до 17,8 пСм, а при рН 10,7 проводимость резко возрастала от 26,8 до 159,8 пСм. Кроме того, была зафиксирована значительная поровая активность с радиусом пор, равным 0,4-1,2 нм. При физиологическом рН, напротив, обнаружена лишь пара единичных пор.

Можно предположить, что при физиологическом рН цитохром с, благодаря своему положительному заряду прикреплен к отрицательно заряженному слою липидов. В более щелочных рН, соответствующих его изоэлектрической точке (рН 10,1), цитохром с теряет заряд, что позволяет ему проходить через мембрану, осуществляя порообразующую активность. Следовательно, именно потеря заряда цитохромом с, например, при алкалозе или соединении с отрицательно заряженной молекулой, может являться ключевым событием перед его выходом в цитозоль.



## АЛГОРИТМ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ ТОКОВ ЧЕРЕЗ ОДИНОЧНЫЕ ИОННЫЕ КАНАЛЫ ТРОМБОЦИТОВ

Кохан А.Ю.<sup>1,2</sup>, Шамова Е.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Методы электрофизиологии, в частности, метод фиксации потенциала «пэтч-кламп», позволяют регистрировать многие важные мембранные характеристики клеток, такие как трансмембранный потенциал, емкость, проводимость и временные характеристики ионных каналов. Ионные каналы плазматической мембраны не только поддерживают ионный гомеостаз клетки, но и играют важную роль во внутриклеточной передаче сигналов. Анализ ионных каналов методом «пэтч-кламп» представляет особую сложность при исследовании клеток малых размеров, таких как тромбоциты (около 2 мкм). Недавние исследования позволили идентифицировать ряд ранее не охарактеризованных ионных каналов плазматической мембраны тромбоцитов. Однако существует не так много информации о точных характеристиках данных ионных каналов из-за трудностей в обработке данных, полученных методом «пэтч-кламп». Целью данной работы стала разработка алгоритма расчета параметров одиночных ионных каналов тромбоцитов по регистрируемым кинетикам токов.

Алгоритм состоит из трех частей. Первая часть – вычитание базовой линии. Мы использовали метод «катыщегося круга». Он моделирует вращение окружности по «внутренней поверхности» кинетики тока и сохраняет траекторию верхней точки окружности. Затем эта траектория вычитается из исходного сигнала. Радиус окружности в алгоритме равен половине длины кинетики. Данный алгоритм позволил правильно идентифицировать изменение базового тока не изменяя амплитуду одиночных каналов.

Вторая часть алгоритма – этап фильтрации. С учетом быстрого открытия и закрытия одиночных каналов использовали нелинейный фильтр с банком прямых и обратных предикторов переменной длины. Получены наилучшие результаты со следующими параметрами: 16 прямых и обратных предикторов с длиной от 2 до 64 точек, параметром нелинейности 2 и размером окна сравнения 20 точек. Каждая кинетика обрабатывалась 2-3 раза для достижения наилучшего результата. Применение данного фильтра не влияло на форму кинетик одиночных токов, но в то же время значительно снизило уровень шума.

В заключительной части разработан метод обнаружения и оценки параметров одиночных событий. Метод основан на вычислении производной сигнала, присваивания индексов +1 и -1 полученным пикам и дальнейшем вычислении амплитуды и времени между последовательными пиками +1 и -1. Выходной массив состоял из амплитуды тока каждого ионного канала, а также времени их открытия и закрытия, из которого легко вычислить время нахождения в открытом и закрытом состоянии для каждого типа ионного канала в записи.

Алгоритм был протестирован на кинетиках одиночных токов тромбоцитов, активированных тромбином (0,05 ед/мл). Необработанная кинетика была проанализирована с помощью программного обеспечения WinEDR, а затем с помощью разработанного алгоритма. Предложенный метод позволил идентифицировать ионные каналы точнее, чем WinEDR и значительно сократить время анализа.

Таким образом, предложен алгоритм обработки кинетик токов, регистрируемых методом «пэтч-кламп», позволяющий повысить точность результатов и сократить время анализа. Предлагаемый алгоритм может быть использован для анализа характеристик ионных каналов тромбоцитов и других типов клеток.

## НАРУШЕНИЕ ТРАНСПОРТА ЛИПИДОВ В КРОВИ

Кубасов С.Ф.

*ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет  
Минздрава России, Челябинск, Россия*

**Введение.** Липиды представляют собой группу биополимеров, выполняющих ряд жизненно важных функций в организме человека [1]. Особенностью липидов является то, что большинство представителей данной группы являются гидрофобными и не могут передвигаться по организму аналогично белкам и углеводам. В связи с этим транспорт липидов представлен двумя транспортными системами: экзогенной и эндогенной [1].

Нарушение транспорта липидов хотя бы по одной из систем приводит к повышению концентрации различных групп липидов в крови, что, в свою очередь, является фактором риска развития жировых дистрофий, которые в значительной степени могут снизить качество жизни человека. Основными состояниями, характеризующими нарушения транспорта липидов крови являются гипер- и гиполипотеинемии.

**Цель исследования.** Проанализировать информацию относительно нарушений транспорта липидов в крови. Изучить заболевания, обусловленные нарушением транспорта липидов в крови.

**Материалы и методы.** Анализ информационных текстовых ресурсов по изучаемой теме. Были использованы следующие общенаучные методы исследования: анализ, синтез.

**Результаты.** Гиперлипотеинемия – это состояние организма, для которого характерно повышение концентрации в сыворотке крови липопротеинов за счет преимущественного повышения либо холестерина, либо триглицеридов, либо в связи с совместным повышением уровня холестерина и триглицеридов [3].

Этиологией большей части гиперлипотеинемий является нарушение транспорта липидов по организму человека, в меньшей степени временные гиперлипотеинемии возникают в результате избыточного поступления в организм жирной пищи.

В зависимости от этиологии и патогенеза в практике разделяют три формы гиперлипотеинемий: транспортная; алиментарная; ретенционная.

Гиполипотеинемия – это состояние, характеризующееся резким снижением содержания в плазме крови липопротеидов, в особенности липопротеидов низкой и высокой плотности [3].

Гиполипотеинемия развивается в результате снижения концентрации в сыворотке крови одной или нескольких групп липопротеидов. Выделяют две группы гиполипотеинемий: приобретенные – развивающиеся в результате голодания; наследственные – возникающие в результате генетических дефектов.

**Выводы.** Во-первых, были рассмотрены две группы патологических состояний, развитие которых обусловлено нарушением транспорта липидов в сыворотке крови.

Во-вторых, были рассмотрены вопросы этиологии и патогенеза трех форм гиперлипотеинемий и гиполипотеинемий, в частности, приобретенной и нескольких наследственных форм.

### Библиографические ссылки

1. Булавинцева, О.А. Обмен липидов: учебное пособие для студентов / О.А. Булавинцева, И.Э. Егорова, ГБОУ ВПО ИГМУ Минздрава России, Кафедра химии и биохимии. – Иркутск: ИГМУ. 2013, - 37 с.
2. Куимова, Ж.В. Нарушения липидного обмена у пациентов пожилого возраста / Ж.В. Куимова, М.В. Филонова, Т.В. Болотнова// Тюменский медицинский журнал. – 2014. – Т. 16. - №2. – С. 21-22.

## АМФОТЕРИЦИН В КАК ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ ЗОНД ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ ХОЛЕСТЕРИНА В МЕМБРАНАХ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Литвинов Н.В., Калаева Е.А., Соколова Л.О., Артюхов В.Г.

Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

Важную роль в организации и поддержании устойчивости биологических мембран играет особый класс органических соединений – стерины (стеролы), к которым относится холестерин (холестерол) [3]. Информация о локализации и количестве холестерина в мембранах является одним из ключевых аспектов для понимания механизмов развития заболеваний, связанных с нарушением обмена холестерина, и разработки подходов к их лечению [5]. Одним из эффективных методов идентификации холестерина в клеточной мембране является спектрофлуориметрия с применением в качестве зонда амфотерицина В, который может связываться с молекулами холестерина, образуя комплекс «антибиотик-холестерин» [2].

Целью работы явилось обнаружение холестерина в мембранах лимфоцитов крови человека методом спектрофлуориметрии с применением амфотерицина В в качестве флуоресцентного зонда. Лимфоциты выделяли методом центрифугирования крови доноров в градиенте плотности фиколл-урографина (плотность – 1,077 г/см<sup>3</sup>). Мембраны лимфоцитов получали методом гипоосмотического гемолиза с последующим осаждением на центрифуге MiniSpin при 13400 об/мин в течение 10 мин с 3-кратной отмывкой трис-НСI буфером (рН 7,4) [1]. В полученную суспензию, содержащую нативные мембраны, было добавлено 2 мл раствора амфотерицина В (ОАО «Синтез», Россия) в концентрации  $3,24 \cdot 10^{-4}$  моль/л, после чего для обеспечения максимального взаимодействия антибиотика и холестерина в составе лимфоцитарных мембран проводилась темновая инкубация суспензии в течение 30 мин. Измерение показателей интенсивности флуоресценции проводили с помощью спектрофлуориметра RF-1501 (Shimadzu, Япония) в диапазоне длин волн 350-550 нм при длине волны возбуждения 328 нм. Описываемая методика была разработана и использована нами ранее для детекции холестерина в мембранах эритроцитов периферической крови человека [4]. Статистическую обработку результатов экспериментов проводили с помощью пакета статистических программ «STADIA 7.0 Professional» (InCo, Россия).

Было установлено, что неокрашенные мембраны лимфоцитов не флуоресцировали в исследуемом диапазоне длин волн. Максимум эмиссии комплекса «холестерин-амфотерицин В» приходился на длину волны 470 нм. Интенсивность флуоресценции суспензии мембран лимфоцитов, окрашенных амфотерицином В, составила  $10,2 \pm 1,4$  ед. Таким образом, ассоциаты «холестерин-амфотерицин В» в мембранах лимфоцитов способны к флуоресценции и могут быть обнаружены по наличию свечения в области 470 нм.

### Библиографические ссылки

1. Практикум по биофизике / Под общ. ред. В. Г. Артюхова. — Воронеж: Издательский дом ВГУ, 2016. — 314 с.
2. Самедова А.А.Г. Противогрибковые полиеновые антибиотики и их активность в клеточных и липидных мембранах // Проблемы медицинской микологии. 2010. № 2. С. 43-48.
3. Шевченко О. Г. Роль холестерина в структурной организации мембран эритроцитов // Вестник института биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН. 2010. № 6. С. 10-14.
4. Amphotericin B as a Cholesterol Identifier in Human Erythrocyte's Membrane / E.A. Kalaeva, L.O. Sokolova, V.G. Artyukhov, M.A. Nakvasina, O.V. Putintseva // Opera Medica et Physiologia. 2022. Vol. 9. No 1. P. 42-48.
5. Cellular cholesterol and how to find it / V. Schoop, A. Martello, R. Eden, D. Hoglinger // Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids. 2021. № 1866 (9). P. 1-12.

## ПРИМЕНЕНИЕ КОНФОКАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ К ЗОНДИРОВАНИЮ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ РАКОВЫХ КЛЕТОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАНОЧАСТИЦ CdSe/ZnS

Мотевич И.Г.<sup>1</sup>, Стрекаль Н.Д.<sup>1</sup>, Чайковская А.А.<sup>1</sup>, Шульга А.В.<sup>2</sup>, Шиман О.В.<sup>2</sup>,  
Israa Akram Hantoosh<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Гродненский государственный университет им. Янки Купалы, Гродно, Беларусь

<sup>2</sup>Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Полупроводниковые наночастицы (НЧ) CdSe/ZnS являются перспективными материалами в медицине, биологии, оптике и т.д. В диагностических целях они используются как флуоресцентные метки, конъюгированные со специфическими антителами-онкомаркерами [1]. Данные наночастицы обладают уникальными оптическими и химическими характеристиками, что отличает их от обычных органических флуоресцирующих красителей. Гидрофильные полупроводниковые наночастицы CdSe/ZnS, солюбилизированные цистеамином по оригинальной методике на границе раздела двух несмешивающихся жидкостей [2] являются чувствительными к pH [3] и к зарядовому окружению [4].

Для изучения контрастности и морфологии тканей использовались гистологические срезы шейки матки и яичников, окрашенные квантовыми точками (КТ) CdSe/ZnS, солюбилизированными по оригинальной методике. В качестве патологических элементов были выбраны железистые эпителиальные новообразования, а именно клетки злокачественной опухоли – плоскоклеточного рака шейки матки, серозного рака яичников, доброкачественной опухоли – серозной цистоаденомы яичников. В качестве образца сравнения использовались препараты шейки матки и яичников без патологии.

Флуоресцентное изображение образцов регистрировалось в виде массива, представляющего собой набор спектров флуоресценции, измеренных в каждой точке сканируемого изображения. Полученные флуоресцентные изображения являются контрастными. Можно видеть, что полоса флуоресценции КТ очень чувствительна к патологии, а именно меняется положение полосы. Так, в клетках желез серозной цистоаденомы яичников максимум полосы флуоресценции квантовых точек приходится на 595 нм, в то время как в стромальном окружении свечение наблюдается на 620 нм. В клетках желез плоскоклеточного рака шейки матки полоса флуоресценции КТ приходится на 620 нм, а в стромальном окружении – на 595 нм. Влияние кислотности окружения на спектры флуоресценции наночастиц моделируется в рамках эффекта электрохромизма, обусловленного эффектом Штарка.

### Библиографические ссылки

1. Oleinikov V. A. Fluorescent semiconductor nanocrystals (quantum dots) in protein biochips //Russian Journal of Bioorganic Chemistry, 2011, vol., P.151–167.
2. Стрекаль Н.Д., Маскевич С.А. // пат. 17735 ВУ. 2013
3. Мотевич И.Г., Стрекаль Н.Д., Шульга А.В. и др. Флуоресцентные наночастицы CdSe/ZnS как нанозонды локального pH в диагностике онкологических заболеваний // Оптика и спектроскопия. 2018, т. 124, вып. 5. С.605-611.
4. Мотевич И.Г., Н.М. Попко, Н.Д. Стрекаль и др. Влияние технологии модификации поверхности на спектральные характеристики гидрофильных наночастиц CdSe/ZnS при взаимодействии с полиэлектролитами // Оптика и спектроскопия. 2018. Т. 124, вып. 6. С. 766-769.

## ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ ДОНОРОВ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫМ ПРЕПАРАТОМ «МОНОСАН» (PRO.MED.CS PRAHA a.s., ЧЕШСКАЯ РЕСПУБЛИКА)

Немченко А.А., Путинцева О.В., Артюхов В.Г.

*Воронежский государственный университет, г. Воронеж, Россия*

Нами проводилось исследование влияния лекарственного препарата «Моносан» (PRO.MED.CS Praha a.s., Чешская Республика) на структуру мембран эритроцитарных клеток. Данный препарат относится к донаторам оксида азота, которые применяются для лечения сердечно-сосудистых заболеваний [1]. Механизм их действия основан на высвобождении NO, который переносится гемоглобином эритроцитов, что может приводить к обратимым и необратимым трансформациям формы этих клеток, а также изменению структурно-функциональных характеристик внутриэритроцитарного гемоглобина. Эти изменения затрудняют выполнение эритроцитами своей основной функции – процесса обратимого связывания молекул кислорода и транспорта их по организму.

С помощью метода сканирующей электронной микроскопии была изучена цитоархитектоника эритроцитов крови доноров после воздействия лекарственного препарата «Моносан» (концентрация  $1,047 \cdot 10^{-4}$  моль/л) в течение 1 и 24 ч при 37 °С. Было выявлено, что при длительном контакте препарата с клетками происходит возрастание числа трансформированных клеток и снижение количества дискоцитов [2]. Метод биофлуоресценции позволил установить, что монооксид азота проявляет высокую реакционную способность и может выступать в роли физиологического регулятора или токсического агента. Токсическое действие NO обусловлено его реакцией с супероксидом, в результате этого образуется пероксинитрит, который приводит к повреждению клеток, индуцирует перекисное окисление липидов и другие явления, сопровождающие окислительный стресс [3]. Результаты спектрофотометрического анализа свидетельствуют о том, что воздействие лекарственного препарата в течение 24 ч индуцирует конформационные перестройки молекул исследуемого гемопотеида, влекущие за собой изменения положения хромофоров ароматических аминокислот, окисление железа гема оксигемоглобина и накопление метформы гембелка в эритроцитах.

Исходя из вышеизложенного, следует, что необходим мониторинг состояния эритроцитов пациентов, длительное время принимающих нитратные вазодилататоры, для исключения негативного воздействия лекарственных препаратов данной группы на организм.

### Библиографические ссылки

1. Аляутдин Р.Н. Фармакология. Москва: ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 592 с.
2. Путинцева О.В., Артюхов В.Г., Немченко А.А. Оценка цитоархитектоники эритроцитов доноров, модифицированных лекарственным препаратом «Моносан» // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2020. № 3. С. 142-147.
3. Немченко А.А., Путинцева О.В., Артюхов В.Г. Исследование параметров флуоресценции эритроцитов крови доноров в условиях воздействия лекарственного препарата «Моносан» и УФ-света// Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов. 2021. № 23. С. 171-175.

## РЕГУЛЯЦИЯ ФУНКЦИЙ НЕЙТРОФИЛОВ ПАЛЬМИТОКСИАЦЕТОНОМ

Новицкий И.А.<sup>1</sup>, Амазгбери Н.В.<sup>1</sup>, Семенкова Г.Н.<sup>1</sup>, Хруцкий В.Ю.<sup>1,2</sup>, Шадыро О.И.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>НИИ физико-химических проблем БГУ, Минск, Беларусь

Пальмитоксиацетон (ПА) образуется в результате свободнорадикальной фрагментации лизофосфолипидов, в том числе и под действием активных форм кислорода (АФК). Известно, что лизофосфолипиды образуются в результате катализируемого фосфолипазами А<sub>2</sub> гидролиза глицерофосфолипидов. Нами установлено, что ПА присутствует в сыворотке крови здоровых людей в микромолярных концентрациях [1]. Поскольку в организме нет ферментативных систем, которые бы продуцировали это соединение, можно предположить, что накопление ПА в крови происходит под действием эндогенных АФК, основным источником которых являются нейтрофилы и моноциты [2]. Учитывая, что активность фосфолипаз А<sub>2</sub>, а также кислородоактивирующая способность фагоцитов возрастают при патологиях, связанных с развитием воспаления, ПА можно рассматривать в качестве одного из маркёров этих заболеваний. В связи с этим, актуальным является исследование биологической роли этого кетона, его участие в процессах метаболизма.

Цель работы: изучить влияние ПА на функциональные свойства нейтрофилов крови здоровых людей.

Методом флуоресценции с PI показано, что инкубирование нейтрофилов в течение 4 ч с ПА в диапазоне концентраций 0,1-100 мкмоль/л не вызывает клеточной гибели по механизму некроза. С помощью Annexin V-FITC выявлено, что взаимодействие клеток с ПА (10-100 мкмоль/л) в течение 3 ч не влияет на количество живых и мёртвых нейтрофилов, однако наблюдается перераспределение клеток в стадиях раннего и позднего апоптоза по сравнению с контролем.

Нами изучено влияние ПА на fMLP-стимулированную генерацию H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> нейтрофилами. Измерения проводили с применением флуоресцентного зонда H<sub>2</sub>DCFDA. Выявлено, что предварительное инкубирование с 0,1 мкмоль/л ПА не оказывает влияния на продукцию H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> клетками. При увеличении концентрации этого кетона от 1 до 10 мкмоль/л наблюдается усиление генерации H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> на 28 и 31% соответственно по сравнению с контролем, тогда как добавление 100 мкмоль/л ПА вызывает снижение генерации пероксида водорода на 29%. С использованием аминифенилфлуоресцеина, специфического зонда для определения HOCl, показано, что ПА в диапазоне концентраций 10-100 мкмоль/л индуцирует в нейтрофилах, стимулированных fMLP и PMA, усиленное образование хлорноватистой кислоты: на 14-62% для PMA и 19-110% для fMLP. При этом ПА не влияет на процессы секреторной дегрануляции. Установлено, что действие ПА в концентрациях 10 и 100 мкмоль/л приводит к снижению величины митохондриального мембранного потенциала (флуоресцентный зонд JC-1) на 14 и 23% соответственно.

Таким образом, ПА в физиологических концентрациях способен регулировать редокс-активность нейтрофилов крови здоровых людей.

### Библиографические ссылки

1. Shadyro O., Samovich S., Edimecheva I. Free-radical and biochemical reactions involving polar part of glycerophospholipids // Free Radical Biology and Medicine. 2019. Vol. 144. P. 6–15.
2. Babior B.M. Phagocytes and oxidative stress // Am. J. Med. 2000. Vol. 109. P. 33–44.

Влияние экзогенного салицилата на содержание водорастворимых фенольных соединений в инфицированных грибом Bipolaris sorokiniana растениях ярового ячменя

## ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО САЛИЦИЛАТА НА СОДЕРЖАНИЕ ВОДРАСТВОРИМЫХ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ИНФИЦИРОВАННЫХ ГРИБОМ *BIPOLARIS SOROKINIANA* РАСТЕНИЯХ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ

Пашкевич Л.В.

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Фенольные соединения являются одним из самых распространенных продуктов вторичного метаболизма у растений. Фенольные соединения выполняют разнообразные функции в растительной клетке: участвуют в пигментации, росте, размножении, устойчивости к патогенам и других процессах. На присутствие фенольных метаболитов в растениях большое влияние оказывают условия окружающей среды, а также генетический контроль [1]. В условиях грибного инфицирования фенольные соединения замедляют рост патогенных грибов, реагируя с белками и вызывая потерю их ферментативной активности. Более того, они ограничивают жизнеспособность патогенов и могут откладываться внутри клеточной стенки в качестве первой линии защиты [2]. В этой связи актуальным является исследование возможности праймирования синтеза водорастворимых фенольных соединений посредством экзогенного салицилата в инфицированных фитопатогенным грибом *Bipolaris sorokiniana* проростках ярового ячменя.

Объектом исследования служили первые листья 6-8-дневных проростков ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) белорусского сорта Магутны. 4-дневные проростки ячменя за 1 сут до инокуляции патогеном обрабатывали водным раствором салициловой кислоты (СК) в концентрации  $10^{-4}$  М. Инокуляцию зеленых проростков ячменя патогеном *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem., вызывающим темно-бурую пятнистость листьев злаковых культур, осуществляли путем опрыскивания 5-дневных листьев споровой взвесью, содержащей  $10^6$  спор/мл из расчета 5 мл на растение. Анализ проростков проводили в течение первых 3-х суток после инокуляции. Содержание водорастворимых фенольных соединений определяли в спиртовых экстрактах спектрофотометрически [3].

В условиях развития грибной инфекции фенольный метаболизм растений изменялся. Установлено, что грибное заражение вызывало увеличение содержания водорастворимых фенолов в растениях ячменя на 9-18% в течение 1-3 сут с момента инокуляции спорами. После предобработки салицилатом отмечалась активация накопления фенолов на 24-32% в 6-8-дневных проростках ярового ячменя в течение первых трех суток после инфицирования. Это может свидетельствовать о важной роли салицилата в адаптации растений ячменя к грибному заболеванию – темно-бурой пятнистости. Интенсивность накопления водорастворимых фенольных соединений у здоровых растений после обработки салицилатом была на 11-16% выше по сравнению с контролем и на 8-21% ниже, чем у зараженных СК-обработанных растений, что указывает на специфичность действия экзогенного салицилата в условиях биотического стресса. Полученные результаты позволяют предположить, что посредством обработки растений экзогенным салицилатом происходит усиление защитных механизмов в зараженных грибом *Bipolaris sorokiniana* растениях, что отражается в более выраженной активации биосинтеза водорастворимых фенолов уже на первых стадиях инфицирования.

### Библиографические ссылки

1. Russell W., Labat A., Scobbie L., et. al. Phenolic acid content of fruits commonly consumed and locally produced in Scotland. // Food Chemistry. 2009. Vol. 115. P. 100–104.
2. Mikulic-Petkovsek M., Schmitzer V., Stampar F., et. al. Changes in phenolic content induced by infection with *Didymella applanata* and *Leptosphaeria coniothyrium*, the causal agents of raspberry spur and cane blight // Plant pathology. 2014. Vol. 63. P. 185-192.
3. Запрометов, М.Н. Основы биохимии фенольных соединений. Москва: «Высшая школа», 1974. – 214 с.

Влияние ТГ, Кабашикова Л.Ф. ВЛИЯНИЕ ГИПЕРТЕРМИИ И САЛИЦИЛАТА НА СОСТОЯНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ПРОРОСТКОВ ЯЧМЕНЯ, ИНФИЦИРОВАННЫХ ГРИБОМ *BIPOLARIS SOROKINIANA*

## ВЛИЯНИЕ ГИПЕРТЕРМИИ И САЛИЦИЛАТА НА СОСТОЯНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ПРОРОСТКОВ ЯЧМЕНЯ, ИНФИЦИРОВАННЫХ ГРИБОМ *BIPOLARIS SOROKINIANA*

Пашкевич Л.В., Кабашикова Л.Ф.

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Известно, что активность и структурные характеристики фотосинтетического аппарата могут быть использованы в качестве индикатора структурно-функционального состояния растений в неблагоприятных условиях, позволяя более оперативно оценить реакции растений в условиях стресса.

В качестве объекта исследований использовали зеленые проростки ярового ячменя сорта Магутны. 4-дневные проростки обрабатывали водным раствором салициловой кислоты (СК) в концентрации  $10^{-4}$  М. Тепловой шок (ТШ) вызывали путем нагревания 5-дневных проростков в термостате в течение 3 ч при 40 °С. Инокуляцию 5-дневных проростков ячменя осуществляли спорами гриба *B. sorokiniana* путем опрыскивания ( $10^6$  спор/мл). Оценку структурно-функциональных параметров фотосинтетического аппарата ячменя осуществляли в течение 3-х суток после действия кратковременной гипертермии и инфицирования грибом. Содержание фотосинтетических пигментов определяли спектрофотометрически в ацетоновых экстрактах [1]. Состояние фотосистем (ФС) фотосинтеза оценивали по спектрам флуоресценции хлорофилла (Хл) *a* в проростках ячменя при комнатной температуре на флуориметре «Solar LSF 222» (Беларусь) [2]. Флуоресцентные параметры измеряли на флуориметре «Dual-PAM100» (Walz, Германия) по [3].

Установлено, что содержание фотосинтетических пигментов на фоне ТШ не снижалось в зараженных растениях и соответствовало контрольным показателям спустя 48 ч после начала действия указанных факторов. Обработка проростков СК оказывала положительный эффект на процессы накопления фотосинтетических пигментов в 8-дневных проростках ячменя, увеличивая содержание Хл *a* и Хл *b* в здоровых растениях на 12% по сравнению с необработанным контролем и на 9% – в инфицированных по сравнению с аналогичным вариантом без применения СК. Содержание каротиноидов после применения СК также возрастало. При этом обработка экзогенным салицилатом достоверно снижала в 1,8 раз количество пораженных грибной инфекцией растений к 11 сут вегетации. В СК-обработанных 8-дневных зараженных растениях величина соотношения интенсивности двух полос испускания ( $I_{685}$  и  $I_{740}$  нм) в зарегистрированных при комнатной температуре спектрах флуоресценции Хл возрастала (на 24%), как и емкость светособирающих комплексов. Проведенная методом РАМ-флуориметрии диагностика функционального состояния фотосинтетических мембран ячменя в условиях грибного инфицирования показала их высокую адаптационную способность как в условиях ТШ, так и после обработки СК. Отклонения в функциональных характеристиках ФС I и ФС II, наблюдаемые на 1 сутки после кратковременного воздействия ТШ, были нивелированы по прошествии 3-х суток. После ТШ адаптация ФС в условиях развития грибного инфицирования оказалась более эффективной. Так, сниженные в результате грибной колонизации параметры  $P_m$  (в 1,2 раза) и  $F_m$  (на 8%), адресованные ФС I и ФС II соответственно, после ТШ достигали контроля. Обработка растений СК стабилизировала максимальную флуоресценцию Хл *a* в ФС I и ФС II, сниженную в результате инфицирования *B. sorokiniana*. При этом все показатели эффективности фотохимии ФС II в СК-обработанных растениях были стабильно высокими. Полученные результаты свидетельствуют о защитном действии ТШ и СК на структурно-функциональное состояние фотосинтетических мембран ячменя в условиях грибного заражения.

### Библиографические ссылки

1. Шлык А.А. Биохимические методы в физиологии растений. Москва: «Наука», 1971. С. 154-170.
2. Ладыгин В.Г. Пигмент-белковые комплексы и число реакционных центров фотосистем у хлорофильных мутантов гороха // Физиология растений. 2004. Т. 1. С. 65-76.
3. Krause H., Weis W. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics // Annu. Rev. Plant. Physiol. Mol. Biol. 1991. Vol. 42. P. 313-349.



## ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ ОБЩЕГО СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ОКСИКОРИЧНЫХ КИСЛОТ В ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ В УСЛОВИЯХ ИНФИЦИРОВАНИЯ ФИТОФТОРОЙ

Смирнов А.А.<sup>1</sup>, Кабачевская Е.М.<sup>1</sup>, Бусько И.И.<sup>2</sup>, Вологовский И.Д.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>НПЦ НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству,

аг. Самохваловичи, Беларусь

Картофель (*Solanum tuberosum* L.) является одной из самых востребованных в мире сельскохозяйственных культур. Несмотря на применение профилактических и прямых мер борьбы с фитопатогенными инфекциями, многие тяжелые заболевания, такие как фитофтороз, вызываемый оомицетом фитофторой (*Phytophthora infestans*), могут приводить, особенно при неблагоприятных погодных условиях, к заметному снижению урожайности картофеля.

Согласно современным представлениям, иммунитет растений определяют как устойчивость растительного организма к инфекционному заболеванию при контакте его с возбудителем и наличии условий, способствующих заражению [1]. Потенциально важную роль в формировании врожденного и приобретенного иммунитета растений играют разнообразные фенольные соединения (ФС), к числу которых относится подкласс фенолпропаноидов – оксикоричные кислоты (ОКК). Наряду с тем, что ОКК выполняют самостоятельные биологические функции, они также являются одними из самых ранних интермедиатов биосинтеза других групп ФС с протекторными свойствами, таких, например, как флавоноиды, стильбены, амиды коричных кислот, а также структурного элемента клеточной стенки лигнина, обеспечивающего первичный барьер для проникновения фитопатогенов и одного из важнейших компонентов в развитии защитной реакции сверхчувствительности. Исследование динамики суммарного количества ФС (СКФС) и ОКК в тканях растений представляется перспективным направлением в изучении характера протекания иммунных реакций растений в условиях инфицирования фитопатогенами.

Целью настоящего исследования было изучение динамики СКФС и ОКК в тканях листьев картофеля в условиях заражения фитофторой в течение 3 дней.

В результате анализа были выявлены статистически достоверные различия в количестве ФС и ОКК в контрольных (без заражения) и опытных (зараженных фитофторой) образцах.

В первый день после заражения суммарное количество ФС в опытных образцах по сравнению с контролем было выше на 21,48%, во второй день – на 23,1%. На третий день заражения статистически достоверных различий не наблюдалось.

Сходная динамика была обнаружена и в отношении суммарного содержания ОКК. В первый день заражения суммарное количество ОКК в опытных образцах было выше на 38,3% по сравнению с контролем, во второй день на 42,6%, третий – на 7,52%. На основании полученных результатов был сделан вывод, что заражение тканей листьев картофеля приводит к быстрому накоплению ФС (1, 2 сутки после заражения) и ОКК (1-3 сутки), что может рассматриваться как часть генерализованного защитного ответа растительного организма на развитие фитопатогенной инфекции.

### Библиографические ссылки

1. Кабачникова Л.Ф. Молекулярные механизмы взаимодействия растений и фитопатогенов: врожденный иммунитет // Журнал Белорусского государственного университета. Экология. 2018. № 2. С. 26-37.

## РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПОВЕРХНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ И НАНОРАЗМЕРНЫХ ЧАСТИЦ ПЛАЗМЫ КРОВИ КРЫС

Стародубцева М.Н.<sup>1,2</sup>, Никитина И.А.<sup>1</sup>, Челнокова И.А.<sup>2</sup>, Шклярова А.Н.<sup>2</sup>,  
Егоренков Н.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

<sup>2</sup>Институт радиобиологии НАН Беларуси, Гомель, Беларусь

Кровь, являясь сложнocomпонентной соединительной тканью организма, наряду с форменными элементами (лейкоциты, эритроциты и тромбоциты), содержит плазму, в состав которой помимо белков и различных метаболитов входит гетерогенная популяция наноразмерных частиц (внеклеточные везикулы и липопротеины). Неоднородные по происхождению, эти структуры обеспечивают межклеточную коммуникацию и активно участвуют в процессах транспорта вещества и информации между удалённо расположенными клетками и тканями организма.

Целью работы являлась комплексная оценка изменений параметров механических свойств эритроцитов, экзосом и липопротеинов низкой и очень низкой плотности, выделенных из крови крыс, вызванных облучением цельной крови рентгеновским излучением *in vitro*.

Цельную кровь крыс самцов, содержащихся в течение 3-х месяцев на диете с повышенным содержанием холестерина, облучали рентгеновским излучением на установке биологического назначения X-Rad 320 Precision X-ray Inc (напряжение на трубке – 320 кВ, мощность дозы – 98,8 сГр/мин, фильтр № 1 (2 мм Al) расстояние до объекта – 40 см). Механические свойства поверхности эритроцитов оценивали с использованием химически фиксированных образцов клеток на воздухе, а механические свойства наноразмерных частиц крови оценивали в жидкости. Использовали атомно-силовой микроскоп Bioscope Resolve (Bruker) в режиме работы PeakForce QNM.

При воздействии рентгеновского излучения *in vitro* на кровь крыс, содержащихся на гиперхолестериновой диете, наблюдается увеличение жёсткости поверхности эритроцитов при дозе в 1 Гр и уменьшение жёсткости поверхности клеток при увеличении дозы с 1 до 100 Гр. Уменьшение жёсткости поверхности клеток сопровождается увеличением размеров ячейки мембранного скелета эритроцитов, о чём свидетельствуют результаты анализа пространственного периода карт сил адгезии участков поверхности эритроцитов. Установлена дозозависимая радиационно-индуцируемая модификация структурных и механических свойств экзосом и липопротеинов плазмы крови при облучении цельной крови *in vitro* рентгеновским излучением в дозах 0,5-100 Гр. Выявлено, что относительно низкие дозы рентгеновского излучения (0,5-1 Гр) вызывают значительные изменения параметров механических свойств исследуемых наноразмерных частиц крови. При этом, изменения для экзосом и липопротеинов крови носят разнонаправленный характер: увеличение жёсткости для экзосом и её уменьшение для липопротеинов. Увеличение дозы рентгеновского излучения до 100 Гр практически не изменяет упругие свойства экзосом и приводит к увеличению жёсткости липопротеинов.

Полученные данные важны для понимания механизмов реакции цельной крови, компонентами которой являются эритроциты, экзосомы и липопротеины, на действие ионизирующего излучения.

Работа выполнена в рамках темы ГПНИ «Природные ресурсы и окружающая среда», подпрограмма 3 «Радиация и биологические системы» и проекта БРФФИ Б20Р-427 (2020-2022 гг.).

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛЕТОК НАДЗЕМНЫХ ОРГАНОВ РАСТЕНИЙ ТОМАТА ПРИ ДЕЙСТВИИ ГРАВИТАЦИОННОГО СИГНАЛА

Суховеева С.В., Кабачевская Е.М., Волоотовский И.Д.

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

На протяжении своего онтогенеза растение испытывает действие гравитационного поля Земли, которое реализуется благодаря полярности отдельных клеток и целых органов растения. Восприятие и трансдукция гравитационного сигнала в корнях и стеблях растений характеризуется сложными структурно-функциональными изменениями на всех уровнях организации внутри и вне клетки. В корнях и стеблях растений гравистимул запускает процесс перемещения статолитов в пределах статолита на его нижнюю сторону. Такое перемещение вызывает многочисленные изменения, приводящие в конечном итоге к формированию гравитационного ответа. Несмотря на то, что гравистимуляция изучается уже довольно давно, механизмы, лежащие в основе гравитропического ответа, далеки от полного понимания. В частности, они, в основном, изучены в корнях и стеблях растений. Чувствительность листьев к гравистимуляции показана лишь в единичных исследованиях. Например, нами выявлены значительные изменения экспрессии отдельных групп генов в клетках листьев томата при гравистимуляции.

Целью данной работы стала идентификация положения амилопластов в клетках черешков листьев и изменение полисахаридного состава в стеблях растений томата (*Lycopersicon esculentum* L.) в различные временные интервалы при воздействии одиночного гравистимула, гравистимула и предшественника этилена этефона, гравистимула и синтетического брассиностероида эпина для того, чтобы оценить особенности структурно-функциональных изменений в этих органах и возможное влияние на них фитогормонов.

В результате микроскопических исследований срезов черешков верхушечных листьев 50-дневных растений томата было обнаружено осаждение амилопластов в клетках обкладки проводящего пучка при гравистимуляции, которое происходило в соответствии с изменяющимся направлением силы тяжести. Седиментация амилопластов начиналась уже через 15 мин после гравистимуляции. При обработке растений эпином, как и в случае действия одной гравистимуляции, через 15 мин воздействия, амилопласты перемещаются на нижнюю сторону клетки. Первые изменения положения амилопластов при обработке этефоном проявляются значительно позднее – не ранее, чем через 1 ч.

Изучено также влияние гравистимула на изменение относительного содержания разных групп полисахаридов в верхней и нижней частях зоны изгиба стебля томата в период времени 0,25-24 ч. Показано снижение доли структурных полисахаридов, лигнина, гемицеллюлозы, а также увеличение растворимых веществ в верхней части стебля и увеличение доли структурных полисахаридов, холоцеллюлозы,  $\alpha$ -целлюлозы, снижение растворимых веществ, гемицеллюлозы в нижней части стебля, начиная с 3 ч гравистимуляции. При воздействии гравистимуляции и эпина наблюдаются сходные изменения, но они проявляются раньше во времени (уже через 1 ч после воздействия). При воздействии гравистимуляции и этефона изменения в полисахаридном составе проявляются лишь после 6 ч воздействия.

Полученные данные свидетельствуют о сложных структурно-функциональных изменениях как в клетках стебля, так и листьев томата.

## СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНОГО NBD-ВАНКОМИЦИНА И АНАЛИЗ ЕГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКОЙ МИКРООРГАНИЗМОВ

Фалетров Я.В.<sup>1,2</sup>, Глинская Л.И.<sup>2</sup>, Барановская А.В.<sup>2</sup>, Шкуматов В.М.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>НИИ физико-химических проблем БГУ, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь.

Ванкомицин (vancomycin, ВАН) – антибиотик из группы трициклических гликопептидов, выделенный из *Amycolatopsis orientalis*. Механизм действия ВАН в отношении грамположительных бактерий обусловлен его способностью ингибировать биосинтез клеточной стенки путем образования стабильных комплексов с С-концевыми дипептидными остатками пептидогликана D-Ala-D-Ala [1]. Использование флуоресцентно-меченных производных ВАН позволяет наблюдать специфическую флуоресценцию клеточной стенки бактерий, а также области деления клеток из-за протекания в ней активного биосинтеза пептидогликана [2-4].

Нами было получено флуоресцирующее производное ВАН, NBD-ВАН, путем модификации ВАН реагентом 7-нитробензофуразан-4-ил хлоридом (NBD-Cl) с помощью оригинальной методики, включающей изначальную реакционную смесь диметилсульфоксид/ацетонитрил с петролейным эфиром, позволяющим высаживание продукта и его отмывку от избытка NBD-Cl и ряда побочных продуктов. Чистота и идентичность продукта была подтверждена с помощью ТСХ ( $R_f = 0,3$  против  $R_f = 0$  для  $\text{SiO}_2$ /ацетон:уксусная кислота 4:1) и масс-спектрометрии с сигналом  $m/z$  1612 и 1777, что соотносится с ионом положительной ионизации моно- и ди-NBD-производного соответственно вследствие наличия двух аминогрупп в составе ванкомицина.

Методом эпифлуоресцентной конфокальной микроскопии показано, что NBD-ВАН сохраняет способность подавлять рост грамположительных бактерий *Bacillus subtilis* с эффективностью немодифицированного аналога, а также способен осуществлять связывание с мембраной или клеточной стенкой дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, что ранее не описано для других известных флуоресцирующих производных ванкомицина. Механизмы этого взаимодействия будут детально изучены в дальнейшей работе.

Работа выполнена при финансовой поддержке ГПНИ № г.р. 20210560.

### Библиографические ссылки

1. Pedro M. Pereira, Sergio R. Filipe, Alexander Tomasz et. al. Fluorescence Ratio Imaging Microscopy Shows Decreased Access of Vancomycin to Cell Wall Synthetic Sites in Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* // J. Antimicrob. Chemother. 2007. Vol. 51. P. 3627-3633.
2. Lu Miao, Weiwei Liu, Qinglong Qiao et. al. Fluorescent antibiotics for real-time tracking of pathogenic bacteria // J. Pharm. Anal. 2020. Vol. 10. P. 444-451.
3. J.N. Louvet, C. Carrion, T. Stalder et. al. Vancomycin sorption on activated sludge Gram<sup>+</sup> bacteria rather than on EPS; 3D Confocal Laser Scanning Microscopy time-lapse imaging // Water Res. 2017. Vol. 124. P. 290-297.
4. Ling Gui Ning, Shuai Wang, Xue Feng Hu et. al. Vancomycin-conjugated polythiophene for the detection and imaging of Gram-positive bacteria // J. Mater. Chem. B. 2017. Vol. 5. P. 8814-8820.

# СКРИНИНГ ЭЛЕКТРОФИЛЬНЫХ ФРАГМЕНТОВ ДЛЯ НОВЫХ БЕЛКОВЫХ МЕТОК И ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ НЕПЕПТИДНЫХ ИНГИБИТОРОВ КАТЕПСИНОВ

Фалетров Я.В.<sup>1,2</sup>, Яковец П.С.<sup>2</sup>, Шкуматов В.М.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>НИИ физико-химических проблем БГУ, Минск, Беларусь;  
<sup>2</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь.

Цистеин – уникальная протеиногенная аминокислота с сильно нуклеофильной тиольной группой. Из-за относительно редкого содержания в белках и участия в различных каталитических процессах модификация белков остатком цистеина широко используется для изучения структуры и функций таких белков, имитации посттрансляционных модификаций, протеомики и дизайна ковалентных ингибиторов. Известно, что соединения с фрагментом -CH<sub>2</sub>-Br способны быстро и селективно реагировать с тиолами. Мы синтезировали несколько таких соединений (рис. 1).

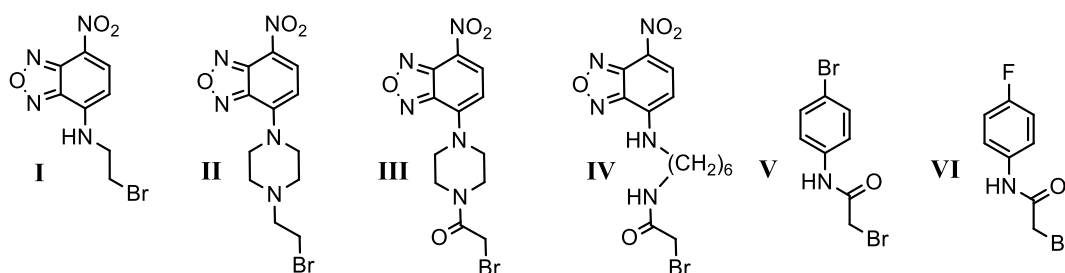


Рис. 1. Структуры рассматриваемых соединений.

Структуры соединений частично подтверждены с помощью масс-спектрометрии и <sup>1</sup>H-ЯМР. Соединения I-IV имеют 7-нитробензоксадиазол-4-аминную группу и, таким образом, модификация белка соединениями будет приводить к флуоресцентным конъюогатам, тогда как соединения V и IV имеют биоортогональные атомы галогена и, таким образом, их конъюогаты с белками могут иметь преимущества для анализа с помощью масс-спектрометрии высокого разрешения, ЯМР <sup>19</sup>F и <sup>79</sup>Br/<sup>81</sup>Br, рентгеноструктурных исследований. Для дополнительного анализа потенциала соединений в рамках подхода к поиску ингибиторов на основе фрагментов мы провели их докинг с несколькими PDB-структурами катепсинов – лизосомальных цистеиновых протеаз, рассматриваемых в качестве мишеней лекарственных средств. Используя Autodock Vina вместе со вспомогательным инструментом FYTdock, мы выявили аффинное связывание II с катепсином S (коды PDB 3n4c, 2h7j, 2op3) со значениями энергии связывания (оценка докинга) от -7,7 до -7,3 и колокализацию атома брома соединения близко к S-атому CYS25. Из-за известной способности NBD-пиперазина (фрагмента II-IV) поглощаться лизосомами предсказанная способность II открывает перспективы для экспериментальной оценки. Для оценки потенциальной возможности полученных соединений II и III вступать во взаимодействие с тиольной группой цистеинов белков нами были проведены квантово-химические расчеты с использованием Gaussian 09W и GaussView 6.0 методом Хартри-Фока с базисным набором STO-3G и моделью учета воды как растворителя CPCM. Исходя из полученной в ходе расчета величины изменения энергии Гиббса, реакция ковалентной модификации остатка цистеина возможна.

Работа выполнена при поддержке ГПНИ (Беларусь) № 20210560 и гранта Министерства образования РБ (Яковец П.С.)

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ РАЗНЫХ НАНОРАЗМЕРНЫХ ЧАСТИЦ В СЛОЖНОКОМПОНЕНТНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДАХ МЕТОДОМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Челнокова И.А.<sup>1</sup>, Стародубцева М.Н.<sup>1,2</sup>, Байрамуков В.Ю.<sup>3</sup>, Ронищенко Б.В.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Институт радиобиологии НАН Беларуси, Гомель, Беларусь*

<sup>2</sup>*Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь*

<sup>3</sup>*Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Санкт-Петербург, Россия*

<sup>4</sup>*Институт физико-органической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

В биологических жидкостях возможно одновременное циркулирование наноразмерных частиц биологического происхождения таких, как экзосомы, экзомы, липопротеины, так и частиц неорганического происхождения таких, как наночастицы серебра, липосомы, нанотрубки, которые могут использоваться в наномедицине. Форма и размеры этих частиц похожи, а их наноразмерность является фактором, затрудняющим их идентификацию в сложно-компонентных биологических жидкостях классическими методами. Одним из методов исследования наноразмерных частиц является атомно-силовая микроскопия (АСМ). К преимуществам данного метода можно отнести возможность изучения объектов биологического происхождения как на воздухе, так и в жидкости, сохраняя естественные для них условия среды. Данный метод позволяет получать трёхмерные изображения и оценивать такие механические свойства, как модуль упругости, силу неспецифической адгезии, энергию диссипации механической энергии и др.

Целью работы являлось установление различия параметров механических свойств наночастиц разной природы, находящихся в биологических жидкостях, с помощью атомно-силовой микроскопии. В работе использовали Bruker Bioscope Resolve АСМ.

Выявлена неоднородность по механическим свойствам популяции наночастиц плазмы крови, выделенных классическими способами выделения экзосом из плазмы крови. Характерными чертами разных типов наночастиц плазмы крови являются различия в параметрах их механических свойств и связи этих параметров с их геометрическими параметрами. Так, наночастицы с размером более 50 нм обладают свойствами везикул с жидким содержанием: они имеют относительно низкий модуль упругости и относительно высокую деформацию в центральной части. Наномеханические свойства двух других типов наночастиц плазмы крови диаметром 50 нм и менее различаются по структуре и механическим свойствам. Везикулы плазмы человека диаметром 30-50 нм можно считать классическими экзосомами. Они имеют более низкий модуль Юнга и более высокую деформацию в сравнении с меньшими немембранными наночастицами диаметром менее 30 нм, которые намного жёстче и которые могут быть экзомерами. В работе обсуждаются также выявленные различия механических свойств экзосом, липопротеинов, липосом и наночастиц серебра. Таким образом, АСМ-исследования позволяют выявить различия параметров геометрических и механических свойств различных по природе наночастиц (экзосом, экзомеров, липопротеинов из биологических жидкостей, наночастиц серебра и липосом) и идентифицировать и различать эти наночастицы при изучении сложнокомпонентных биологических сред с возможным содержанием разных типов наночастиц.

Работа поддержана БРФФИ (проект Б20Р-427, 2020-2022 гг.)

ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МЕМБРАНЫ ПЕПТИДЕРГИЧЕСКОГО НЕЙРОНА ЦНС МОЛЛЮСКА *LYMNAEA STAGNALIS* ПРИ ГИПЕРГЛИКЕМИИ

Шаденко В.Н., Сидоров А.В.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

**Введение.** Действие глюкозы в отношении нервных клеток не ограничивается узким участком мозга, содержащим специализированные для её рецепции нейроны пищевой сети [1]. Реакция других, не относящихся к пищедобыче, нервных центров на изменение содержания глюкозы в интерстиции остаётся изученной недостаточно. Пептидергические нейроны ЦНС беспозвоночных способны выступать и в роли нейросекреторных клеток, обеспечивая комплексный нейрогормональный контроль за рядом физиологических функций [2]. Начальный этап рецепции глюкозы такими клетками связан с изменением их частотных характеристик [3]. Не меньший интерес представляет изменение электрических свойств их мембраны при длительном действии метаболических сигналов, как это имеет место в естественных условиях. Целью данной работы было оценить эффекты пролонгированной гипергликемии в отношении электрической активности FMRF-амид-содержащего нейрона ЦНС моллюска *Lymnaea stagnalis*.

**Материалы и методы.** При помощи стеклянных микроэлектродов регистрировали электрическую активность индивидуальных нейронов изолированной ЦНС *Lymnaea* – RPaD1. Опытные препараты ЦНС инкубировали (2 ч) в 10 мМ растворе D-глюкозы (на основе раствора Рингера). Запись и анализ электрических сигналов, рассчитанные значения сопротивления, ёмкости, постоянной времени мембраны, её вольтамперной характеристики (ВАХ) производили при помощи программы электронного осциллографа InputWin. Статистическая обработка проведена посредством Statistica 6.0.

**Результаты.** Отмечена деполяризация мембраны RPaD1, выражающаяся в снижении мембранного потенциала в экспериментальной группе относительно контроля с  $-72 \pm 4$  до  $-58 \pm 4$  мВ при  $n = 9$  для обеих групп соответственно ( $t = 2,31$ ,  $P = 0,0347$ ). В 2-х из 9-ти клеток контроля отмечалось наличие спонтанной ритмики, а в опытной группе лишь один нейрон из 9-ти находился в молчащем состоянии. В случае стимуляции молчащих нейронов контрольной группы, значения импульсации были в 1,75 раза меньше по сравнению с таковыми, естественно наблюдаемыми, в условиях гипергликемии: 0,65 (0,44; 0,84) против 1,14 (0,82; 1,59) Гц, при  $n = 28$  и 32 соответственно. Достоверных различий в электрических характеристиках мембраны RPaD1 (сопротивление, постоянная времени, ёмкость,) между контрольной и опытной группами выявлено не было. Изменения ВАХ мембраны также были не значимы –  $F = 1,04$ ,  $p = 0,41$  (repeated measures ANOVA), в том числе отдельно для выходящих и входящих токов.

**Выводы.** В условиях гипергликемии повышается возбудимость пептидергических нейронов ЦНС *Lymnaea*, связанная с изменением их мембранной проводимости, усиливая нейрогормональный контроль у беспозвоночных при изменении глюкозного гомеостаза.

Работа выполнена при поддержке БРФФИ (проект Б22-105).

### Библиографические ссылки

1. Tups A., Benzler J., Sergi D. et al. Central regulation of glucose homeostasis // *Comp. Physiol. C*. 2017. Vol. 7. P. 741–764.
2. Benjamin P.R., Kemenes I. Peptidergic systems in the pond snail *Lymnaea*: from genes to hormones and behavior // *Advances in Invertebrate (Neuro)Endocrinology: a collection of reviews in the post-genomic era*. 2020. Vol. 1. P. 213–254.
3. Sidorov A.V., Shadenko V.N. Electrical activity of identified neurons in the central nervous system of a mollusk *Lymnaea stagnalis* under acute hyperglycemia // *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2021. Vol. 57. P. 1257–1266.

## РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ФИБРОБЛАСТОВ КРЫСЫ

Шаховская О.В.<sup>1</sup>, Матвеевская Т.Д.<sup>1</sup>, Стародубцева М.Н.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт радиобиологии НАН Беларуси, Гомель, Беларусь

<sup>2</sup>Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

В сложной системе регуляции многообразных функций клетки в физиологических условиях и в условиях воздействия на клетку патогенных факторов, включая ионизирующее излучение, активное участие принимают активные формы кислорода (АФК). АФК вместе с антиоксидантной системой клетки образуют единую равновесную регуляторную систему, призванную модулировать основные функции клетки. Знание патофизиологических и патобиохимических процессов, индуцируемых АФК в клетках, позволяет проводить коррекцию метаболических и функциональных изменений, предупреждая развитие органных и системных нарушений и, как следствие, развитие многих заболеваний. Синтез коллагена является важной функциональной особенностью фибробластов. Нарушения в синтезе коллагена как в сторону гипо-, так и гиперпродукции является важным звеном в дистрофическом изменении тканей (ухудшение эстетического вида кожи, дистрофия мышечной ткани, нарушение работы суставов и т. д.). Целью исследования было установление закономерностей влияния рентгеновского излучения на синтез коллагена в фибробластах и изменения окислительно-восстановительных свойств (редокс-свойств) их окружения. Объектом исследования были фибробласты, выделенные из кожи крысы-самца линии Wistar, возрастом 6 месяцев, методом первичных эксплантов с предварительной ферментативной обработкой. Облучение клеток рентгеновским излучением проводилось в дозах 1 Гр и 100 Гр (параметры облучения: мощность дозы 5 Гр/м, напряжение на трубке 320 кВ, сила тока 12,5 мА, фильтр: 2 мм Al, расстояние до объекта 40 см), контрольный образец выдерживался при таких же условиях, исключая воздействие рентгеновского излучения. Оценку свойств клеток и межклеточной среды проводили через сутки после облучения. Оценивали уровень экспрессии клетками коллагена IV и параметры редокс-свойств межклеточной среды. Редокс-свойства межклеточной среды характеризовали, анализируя кинетику люминол-зависимой хемилюминесценции с помощью 3 параметров функции Гомпертца ( $x_c$ ,  $a$  и  $k$ ). Для проверки достоверности различий средних выборочных использовали  $t$ -критерий Стьюдента. Количественная оценка уровня экспрессии коллагена IV выполнялась с помощью окрашивания образцов клеток антителами коллагену IV и анализа их цифрового микроскопического изображения с использованием программы Aperio Image Scope. Рассчитывали общий индекс интенсивности окрашивания хромогена (диаминобензидин) ( $I_{avg}$ ) и индекс интенсивности в иммунопозитивных участках ( $I_{wavg}$ ). Статистический анализ проводился с помощью программы GraphPad Prism. Облучение фибробластов *in vitro* вызывало дозозависимые изменения редокс-свойств межклеточной среды: антиоксидантная способность культуральной среды уменьшалась (параметр  $x_c$ ), а прооксидантная способность увеличивалась (параметры  $a$  и  $k$ ), что свидетельствует об изменении её состава в результате изменения функционирования клеток. Облучение также вызывало дозозависимое увеличение уровня экспрессии коллагена IV в фибробластах: при облучении клеток в дозе 100 Гр параметры  $I_{avg}$  и  $I_{wavg}$  были увеличены в 1,4 раза в сравнении с контрольными образцами. При этом различий между параметрами, оцененными для клеток после облучения в дозе 1 Гр и контрольной выборки, не выявлено. Полученные данные важны для разработки новых диагностических критериев радиационно-индуцированной изменений соединительной ткани.

Работа выполнена в рамках задания 3.1.2 темы ГПНИ «Природные ресурсы и окружающая среда», подпрограмма 3 «Радиация и биологические системы».



# **МЕДИЦИНСКАЯ БИОФИЗИКА**

## MECHANISMS OF CINNAMATES EFFECT ON REACTIVE OXYGEN AND CHLORINE SPECIES GENERATION IN NEUTROPHILS

Amaegberi N.V., Zhang Y., Melnikova E.A., Lukyanava K.A., Shulhanova A.V., Semenkova G.N., Shadyro O.I.

*Belarusian State University, Minsk, Belarus*

Cinnamates are a wide class of phenolic compounds, the most important of which are cinnamic acid and its hydroxy derivatives. These compounds are found in large quantities in cereals, legumes, oilseeds, vegetables, fruits. It has been shown that various cinnamates representatives have anti-inflammatory, antibacterial, antiproliferative, antitumor, and antioxidant effects [1]. It is known that the level of reactive oxygen and chlorine species (ROCS) produced in blood cells is an important characteristic of the body's metabolic state. Its change serves as a signaling mechanism for triggering various cellular processes, such as differentiation, proliferation, and apoptosis [2]. The molecular-cellular basis of cinnamates' effect on ROCS production by cells is poorly studied.

The purpose of the work is to establish the effect of cinnamic acid and its hydroxy derivatives (caffeic, ferulic, and sinapic acids; concentration range 0.001-10  $\mu$ M) on the mechanisms of the "respiratory burst" formation in human blood neutrophils.

Neutrophils were isolated from the peripheral blood of healthy people according to the standard method. Myeloperoxidase (MPO) was isolated from the resulting suspension of neutrophils by three freezing/thawing cycles, followed by centrifugation for 20 min at 3000 rpm. The MPO containing supernatant was then analyzed. ROCS production was assessed using the luminol-dependent chemiluminescence (LumCL) method on a BCL-1 chemiluminometer (Minsk, Belarus). Cinnamates' effect on intracellular signaling processes was studied using specific inhibitors of signaling pathways components. MPO activity was assessed by the LumCL in the system "neutrophil lysate-luminol- $H_2O_2$ ". The anti- and prooxidant effect of cinnamates was studied in the model systems "luminol-HOCl" and "luminol- $H_2O_2$ ".

It has been found that studied cinnamates, depending on the concentration, are capable of exerting anti- or prooxidant effects on neutrophils stimulated by fMLP. Cinnamic, caffeic, and sinapic acids have a multidirectional effect on HOCl formation in the halogenating cycle of MPO localized inside cells or isolated from them, which may be associated with the modification of intracellular signaling pathways in activated neutrophils. Cinnamic acid and its hydroxy derivatives alter the output of ROCS by selective multidirectional correction of the signaling pathway components contribution such as PKC, PI3 kinase, ERK1/2 kinase, and p38-MAP kinase in fMLP-stimulated neutrophils. In model systems caffeic, ferulic, and sinapic acids inhibit ROS release during the luminol oxidation by  $H_2O_2$ . According to the inhibition effectiveness the analyzed cinnamates form the following series: sinapic acid > caffeic acid > ferulic acid.

Thus, cinnamic, caffeic, ferulic, and sinapic acids are regulators of neutrophils' functional activity, which is due, firstly, to their pro- or antioxidant action associated with direct interaction with ROS, and secondly, to the cinnamates' effect on signal transduction pathways activation in these cells.

The research was supported by Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (№ M22M-071).

### Bibliographic references

1. Ruwizhi N., Atim A.B. Cinnamic acid derivatives and their biological efficacy // Int. J. Mol. Sci. 2020. Vol. 21. P. 1–34.
2. Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine // Redox. Biol. 2015. Vol. 4. P. 180–183.

# ATOMIC FORCE MICROSCOPY STUDY OF BLOOD CELLS INTERACTION

**Kukhareno L.V.<sup>1</sup>, Walheim S.<sup>2</sup>, Barczewski M.<sup>2</sup>, Gröger R.<sup>2</sup>, Schimmel Th.<sup>2</sup>,  
Goltsev M.V.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Belarussian State Medical University, Minsk, Belarus*

<sup>2</sup>*Institute of Applied Physics and Center for Functional Nanostructures, Karlsruhe Institute of  
Technology (KIT), Karlsruhe, Germany*

The atomic force microscope (AFM) has proven to be an instrument that can image biomedical systems at high resolution and obtain time-dependent dynamic information about their surface morphology changes [1].

Here platelet surface morphology change, platelet aggregation and interaction with red blood cells in a thrombus formation were investigated by AFM after addition of adenosine diphosphate (ADP) to cause platelet aggregation.

Venous blood was collected from healthy donors. Platelet rich plasma (PRP) was obtained by centrifugation citrated blood at 110 g for 10 min at room temperature. PRP was removed from the low area of supernatant. The platelet suspension was incubated at 37 °C for 30 min before the platelet surface morphology change studies were performed to allow platelets to reach a resting condition. Platelet suspensions were activated by the addition of ADP ( $10^{-5}$  M). Platelets were fixed with 1.5% glutaraldehyde for 30 min. Then platelets were attached to mica by centrifugation at 250 g for 30 sec, washed five times in HEPES saline buffer, dehydrated by 5 min incubations in 30%, 50%, 70% and 96% ethanol and air dried. All data were obtained on a Nanoscope (R) IIIa MultiMode atomic force microscope. E and J scanners were used. Taping mode images in air were captured using noncontact silicon cantilevers NSC15/100 with spring constants of 30-40 N/m and resonance frequencies of 270-300 kHz (NSC 15, MikroMasch, Estonia). AFM images were processed with the Nanoscope software.

When platelet suspension was activated by the addition of ADP platelets were transformed into a rough sphere with numerous short, blunt irregular membrane projections and aggregated. Thin filopodia connecting small aggregates were visualized. The platelet height increased dramatically up to 1.2  $\mu\text{m}$ . Activated platelet releasate can induce or mediate red blood cell pro-thrombotic activity by losing phospholipids asymmetry and exposure of phosphatidylserine on red blood cell membrane. Platelets interact with red blood cells which play the remarkable role in the signal transduction mechanisms of platelets during aggregation process. AFM investigations show many events of red blood cell capture and adhesion to activated platelets. Red blood cells act on platelets by physical and biochemical mechanisms. Interaction of activated platelets with red blood cell occurs through a specific ligand-receptor binding. Red blood cells may express adhesion molecule ICAM-4 responsible for platelet-red blood cell interaction. Activated platelet glycoprotein GPIIb/IIIa binding to red blood cell ICAM-4 ligand initiates platelet-red blood cell interaction. Red blood cells reinforce platelet aggregability by increase of P-selectin exposure on platelets and enhance  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  integrin receptor activation. Red blood cells can also promote platelet aggregability by releasing ATP and ADP. In turn, the activated platelet releasate can induce or mediate red blood cell prothrombotic activity. AFM investigation has shown that a close contact between red blood cells and platelets occurs with multiple cell-cell interactions: short blunt membrane projections, long thin filopodia and direct cell to cell contact. Red blood cells can be covered completely or partially by activated platelets.

## Bibliographic references

1. Dufrene, Y.F., et al., Imaging modes of atomic force microscopy for application in molecular and cell biology // Nature Nanotechnology. 2017. Vol. 12. P.295-307.

## AN IN VITRO STUDY OF THE EFFECTS OF A FEW NOVEL SYNTHETIC CATIONIC ANTIMICROBIAL PEPTIDES ON HUMAN PLASMA COAGULATION

Vakhrusheva T.V.<sup>1</sup>, Moroz G.D.<sup>1,2</sup>, Grafskaja E.N.<sup>1</sup>, Latsis I.A.<sup>1</sup>, Panasenko O.M.<sup>1</sup>, Lazarev V.N.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

<sup>2</sup>Moscow Institute of Physics and Technology (State University), Dolgoprudny, Russia

The increasing spread of bacteria that have become resistant to current antibiotics has prompted the search for new-generation antibacterial agents. Cationic antimicrobial peptides (cAMPs) could be candidates for this purpose. A chemical synthesis of short peptides is considered a relatively cheap way to produce therapeutic forms of cAMPs. We have designed and synthesized a number of short cAMPs using a bioinformatic analysis of the medicinal leech genome: (P1) Phe-Arg-Ile-Met-Arg-Ile-Leu-Arg-Val-Leu-Lys-Leu; +4 charge; 10  $\mu\text{M}$  MIC<sub>max</sub>; (P2) Phe-Arg-Ile-Met-Arg-Ile-Leu-Arg-Val-Leu-Lys; +4 charge; 10  $\mu\text{M}$  MIC<sub>max</sub>; (P3) Arg-Trp-Arg-Leu-Val-Cys-Phe-Leu-Cys-Arg-Arg-Lys-Lys-Val; +6 charge; 17  $\mu\text{M}$  MIC<sub>max</sub>; (P4) Lys-Phe-Lys-Lys-Val-Ile-Trp-Lys-Ser-Phe-Leu; +4 charge; 90  $\mu\text{M}$  MIC<sub>max</sub>; (P5) Arg-Pro-Ile-Leu-Ile-Arg-Val-Arg-Arg-Ile-Arg-Val-Ile; +5 charge; 77  $\mu\text{M}$  MIC<sub>max</sub>; (P6) Arg-Leu-Lys-Arg-Phe-Lys-Arg-Val-Ala-Leu-Arg-Arg-Glu-Lys-Thr-Ala-Arg-Asn-Phe-Arg-Ser-Ile-Val-Ser; +9 charge; 11  $\mu\text{M}$  MIC<sub>max</sub>; (P7) Phe-Leu-Ile-Gly-Lys-Ala-Ile-Lys-Arg-Lys-Phe-Cys-Leu-Arg-Ser-Val-Trp-Asn-Ala; +3 charge; 7  $\mu\text{M}$  MIC<sub>max</sub>; (P8) Ser-Ala-Val-Ile-Tyr-Lys-Ile-Pro-Tyr-Asn-Ala-Ile-Ala-Ser-Arg-Trp-Ile-Ile-Ala-Pro-Lys-Lys-Cys; +4 charge; 12  $\mu\text{M}$  MIC<sub>max</sub>. The minimum inhibitory concentrations (MICs) for Gram-negative (*Escherichia coli*) and Gram-positive (*Bacillus subtilis*) bacteria were determined, and the higher one among these two MICs for each peptide is indicated above as MIC<sub>max</sub>. The traditional biocompatibility assessment consists of determining cytotoxicity. However, as our earlier results have shown, the peptide-induced hemolysis can be inhibited by the addition of blood plasma to the hemolysis assay medium. This suggests peptide binding in plasma, with an affinity sufficient to prevent the peptide translocation to cells. Hence, the biocompatibility evaluation of cAMPs should include a study of their interaction with plasma components. The goal of the present research was to reveal whether cAMPs can affect plasma coagulation. The coagulation behavior of the peptides was investigated by measuring activated partial thromboplastin time (APTT) and prothrombin time (PT). APTT assesses the intrinsic and common pathways of coagulation cascade. PT assesses the extrinsic and common pathways. Plasma was pretreated with different peptide concentrations (25, 50, and 100  $\mu\text{M}$ ). Adding 25  $\mu\text{M}$  peptide did not lead to significant changes in APTT and PT compared to control plasma. At higher concentrations, a profound effect was observed for P3 and P6. APTT was prolonged with P3 by 75 $\pm$ 25% at 50  $\mu\text{M}$  and 415 $\pm$ 20% at 100  $\mu\text{M}$ , and with P6 by about 120 $\pm$ 20% and 350 $\pm$ 50% at 50  $\mu\text{M}$  and 100  $\mu\text{M}$ , respectively. P8 exerted a milder APTT prolongation (by 50 $\pm$ 15% at 100  $\mu\text{M}$ ). Like it was with APTT, PT was considerably prolonged with P3. The PT increase was 310 $\pm$ 30% and 730 $\pm$ 50% at 50  $\mu\text{M}$  and 100  $\mu\text{M}$  P3, respectively. It was shown in an additional experiment that P3 can bind to fibrinogen, a coagulation factor involved in the common pathway of coagulation. The combined effect of P3 on APTT and PT may be ascribed to this binding. By contrast to P3, P6 had no effect on PT, which suggests that its influence on coagulation occurs at the intrinsic pathway level, probably through binding to an intrinsic coagulation. Other peptides had no effect or caused non-significant prolongation of plasma coagulation time even at the highest concentration used. The results obtained revealed the possibility of cAMPs' side effects on plasma coagulation.

The work was supported by RSF (grant No. 20-15-00270).

## ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЕМЕННИКАХ КРЫС ПОСЛЕ $\gamma$ -ОБЛУЧЕНИЯ

Аль Меселмани М.А., Глинская Н.А.

*Полесский государственный университет, Пинск, Беларусь*

Тщательный анализ данных отечественной и зарубежной литературы показал, что проблема изучения воздействия ионизирующего излучения на мужскую репродуктивную систему является актуальной проблемой [1-3]. Целью работы являлось изучение состояния сперматогенного эпителия извитых семенных канальцев беспородных белых крыс массой 200-220 г., подвергнутых однократному внешнему облучению на установке ИГУР в дозе 0,5 Гр.

В опытах на крысах изучали состояние морфологии семенников в разные сроки (3-10-40-60-90 суток) после общего однократного внешнего низкодозового  $\gamma$ -облучения (0,5 Гр, мощность 0,92 Гр/мин). Гистологические срезы окрашивали гематоксилин-эозином, после чего подсчитывали количество поперечно срезанных извитых семенных канальцев. По состоянию сперматогенного эпителия извитые семенные канальцы были поделены на пять типов, где деструктивные изменения нарастают от II к IV типу. К I типу были отнесены извитые канальцы нормального строения. Количественная оценка морфологических изменений сперматогенеза проводилась в 100 поперечно срезанных извитых канальцах. В ходе исследования было показано, что в подопытных (облучавшихся) группах проявлялись существенные изменения состояния сперматогенного эпителия канальцев семенников крыс. Изменение обнаружено не только по соотношению между канальцами I-IV типа, но также было достоверное уменьшение в них количества извитых канальцев. Ранним признаком облучения являются морфологические изменения сперматогенного эпителия спустя 72 ч после облучения. С 3-х по 10-е сут в семенниках сохранялась тенденция к уменьшению общего числа извитых канальцев по сравнению с контролем, а также отсутствовали извитые канальцы с нормальным строением (I тип). Спустя 40 суток в срезах семенников крыс обнаружили канальцы 4-х типов – I, II, III и IV. После облучения снижено количество канальцев с нормальным строением, а также с признаками легкого нарушения сперматогенеза.

В срок с 2-х до 3-х месяцев после облучения морфологическая картина резко меняется. И хотя в срезах семенников крыс присутствуют канальцы всех типов, обнаружены канальцы V типа, с незавершенным сперматогенезом, но без признаков дегенерации половых клеток, что также может служить доказательством начала восстановительных процессов в семенниках.

Полученные данные свидетельствуют о том, что в результате однократного низкодозового  $\gamma$ -облучения у крыс происходит дестабилизация большинства клеток сперматогенного эпителия, что приводит к изменениям структуры канальцевого аппарата половых желёз.

### Библиографические ссылки

1. Аль Меселмани М.А., Шабанов П.Д. Морфофункциональное состояние семенников в условиях радиационного воздействия. Экологический Вестник. 2014;27(1): С.45-50.
2. Мамина В.П., Шейко Л.А. Оценка функционального состояния семенников и яичников у крыс, подвергнутых действию шестивалентного хрома в малых дозах. Проблемы репродукции. 2017;(1): С.25-28.
3. Liu G, Gong P, Bernstein L.R, Bi Y, Gong S, Cai L. Apoptotic cell death induced by low-dose radiation in male germ cells: hormesis and adaptation. Critical Rev. in Toxicology.2007;37(7): P.587-605.

## АНТИОКСИДАНТНАЯ СПОСОБНОСТЬ КОФЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Бабенкова И.В., Разживайкин Д.А., Калинин Т.П., Теселкин Ю.О., Осипов А.Н.

*Российский национальный исследовательский медицинский университет  
им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия*

Известно, что оксидативный стресс является важным патогенетическим фактором многих заболеваний человека [1]. Ключевую роль в развитии оксидативного стресса играет ослабление антиоксидантных механизмов защиты, поэтому актуальной задачей является разработка новых лекарственных препаратов, обладающих антиоксидантными свойствами. В качестве перспективных антиоксидантов рассматриваются вещества природного происхождения. К числу таких веществ относится кофеиновая кислота (КК), которая входит в состав многих растительных экстрактов [2].

Цель работы – изучение антиоксидантной способности КК.

Антиоксидантную способность КК изучали (а) по восстановлению катион-радикалов диаммониевой соли 2,2'-азинобис(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислоты) (АБТС<sup>+</sup>), которое оценивали спектрофотометрическим методом, измеряя оптическую плотность раствора при 734 нм; (б) по торможению окисления люминола, индуцированного 2,2'-азобис(2-амидинопропан)дигидрохлоридом (система АБАП-люминол), которое регистрировали методом хемилюминесценции; (в) по связыванию ионов Fe<sup>2+</sup>, которое изучали методом спектрофотометрии.

Обнаружено, что КК (2,5-15 мкМ) дозозависимым образом восстанавливала АБТС<sup>+</sup>, что проявлялось в уменьшении оптической плотности раствора при 734 нм. При добавлении КК (0,025-0,25 мкМ) в систему АБАП-люминол наблюдалось появление латентного периода хемилюминесценции. Наблюдаемый латентный период увеличивался прямо пропорционально концентрации КК, что обусловлено взаимодействием КК с радикалами-инициаторами окисления люминола, образующимися при термогидролизе АБАП. Антиоксидантная способность КК в системе с АБТС<sup>+</sup> не отличалась от АОС тролокса, который использовали в качестве стандартного антиоксиданта, и в 3,6 раза превышала антиоксидантную способность тролокса в системе АБАП-люминол.

Добавление ионов Fe<sup>2+</sup> к раствору КК (рН 7,0) приводило к изменению спектров поглощения. В УФ-части спектра наблюдался сдвиг полосы поглощения с максимумом 325 нм в более длинноволновую область спектра (344 нм). В видимой части спектра появлялась полоса поглощения с максимумом в области 600 нм. Установлено, что наблюдаемые изменения спектров поглощения КК обусловлены образованием комплекса с ионами Fe<sup>2+</sup>. Для определения параметров связывания ионов Fe<sup>2+</sup> с КК были выполнены прямое и обратное титрование. Изменение оптической плотности раствора регистрировали при длине волны 600 нм. Полученные результаты обрабатывали с помощью методов Клотца и Скэтчарда. Значение константы связывания ионов Fe<sup>2+</sup> с КК составило  $(1,29 \pm 0,05) \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}$ , стехиометрический состав комплекса – 2:1, т.е. в образовании комплекса участвуют две молекулы КК и один ион Fe<sup>2+</sup>.

Таким образом, КК обладает как радикалперехватывающими, так и железохелатирующими свойствами, что может быть использовано при разработке лекарственных средств для профилактики и лечения заболеваний, ассоциированных с оксидативным стрессом.

### Библиографические ссылки

1. Hajam Y.A., Rani R., Ganie S.Y. et al. Oxidative stress in human pathology and aging: Molecular mechanisms and perspectives // Cells. 2022. Vol.11. P. 552.
2. Khan F.A., Maalik A., Murtaza G. Inhibitory mechanism against oxidative stress of caffeic acid // J. Food Drug Anal. 2016. Vol. 24. P. 695–702.

## СПЕКТРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА РАДИКАЛОВ ИНДОТРИКАРБОЦИАНИНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Белько Н.В.<sup>1</sup>, Мальтанова А.М.<sup>2</sup>, Смоляков А.А.<sup>3</sup>, Луговский А.П.<sup>1</sup>, Луговский А.А.<sup>1</sup>,  
Позняк С.К.<sup>2</sup>, Самцов М.П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт прикладных физических проблем им. А.Н. Севченко БГУ, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>НИИ физико-химических проблем БГУ, Минск, Беларусь

<sup>3</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Метод фотодинамической терапии (ФДТ) злокачественных новообразований активно развивается и находит все более широкое применение в клинической практике. ФДТ является минимально инвазивной и органосохраняющей процедурой, оказывающей селективное цитотоксическое воздействие на неопластические клетки [1]. Полиметиновые красители являются перспективными фотосенсибилизаторами для ФДТ, так как они обладают интенсивным поглощением в области прозрачности биологических тканей и рядом других преимуществ [2]. Некоторые полиметиновые красители способны сохранять фотоактивность даже в гипоксических условиях [3]. Ранее полученные экспериментальные данные указывают на способность таких полиметиновых красителей генерировать при фотовозбуждении не только синглетный кислород, но и реактивные свободно-радикальные продукты.

В данной работе исследуются свободные радикалы индотрикарбоцианинового красителя, являющегося эффективным фотосенсибилизатором для ФДТ [4]. Генерация радикалов осуществляется электрохимическим методом в модельной среде.

Превращения красителя в процессе хроноамперометрического электролиза при +1,1 В (относительно насыщенного каломельного электрода) были исследованы при помощи спектроскопии электронного поглощения и электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). При электролизе наблюдается убывание оптической плотности в полосе поглощения исходного красителя при 714 нм одновременно с возникновением новой полосы при 561 нм. В ЭПР спектрах проявляется интенсивная бесструктурная полоса с g-фактором 2,002. Представленные данные свидетельствуют о том, что в процессе электролиза происходит образование радикалов индотрикарбоцианинового красителя. Время жизни радикалов составляет 25 мин.

Таким образом, в процессе электроокисления образуются свободные радикалы индотрикарбоцианинового красителя. В дальнейшем будет исследована роль радикалов в фотоактивности фотосенсибилизатора на основе индотрикарбоцианинового красителя.

### Библиографические ссылки

1. Gunaydin G., Gedik M. E., Ayan S. Photodynamic Therapy for the Treatment and Diagnosis of Cancer—A Review of the Current Clinical Status // Front. Chem. 2021. Vol. 9. P. 1–26.

2. Shi C., Wu J.B., Pan D. Review on near-infrared heptamethine cyanine dyes as theranostic agents for tumor imaging, targeting, and photodynamic therapy // J. Biomed. Opt. 2016. Vol. 21. P. 050901.1–050901.11.

3. Istomin Y.P., Alexandrova E.N., Zhavrid E.A. et al. The effect of hypoxia on photocytotoxicity of TICS tricarboyanine dye in vitro // Exp. Oncol. 2006. Vol. 28. P. 80–82.

4. Lugovski A.A., Samtsov M.P., Kaplevsky K.N. et al. Novel indotricarboyanine dyes covalently bonded to polyethylene glycol for theranostics // J. Photochem. Photobiol. A Chem. 2016. Vol. 316. P. 31–36.

Войнаровский В.В., Мартинович Г.Г. ДИНАМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-ИНДУЦИРОВАННОГО МЕХАНИЗМА ЗАЩИТЫ ЭРИТРОЦИТОВ

## ДИНАМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-ИНДУЦИРОВАННОГО МЕХАНИЗМА ЗАЩИТЫ ЭРИТРОЦИТОВ

Войнаровский В.В., Мартинович Г.Г.

*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

Защита эритроцитов при стрессовых воздействиях осуществляется цитоплазматическими механизмами, включающими регуляцию функционального состояния гемоглобина и взаимодействия окисленных форм гемоглобина с мембраной и цитоскелетом клетки [1]. Ранее нами было показано, что повышение структурной стабильности мембран эритроцитов в результате изменения соотношения мембранных комплексов метгемоглобина и феррилгемоглобина может индуцироваться при действии пероксида водорода [2]. В настоящей работе на основе численного моделирования и спектрофотометрического анализа исследована зависимость данного эффекта от времени разрушения клеток.

Показано, что диапазон концентраций пероксида водорода, при котором наблюдается увеличение доли негемолизированных клеток (область гормезиса), зависит от типа разрушающего фактора. Гемолиз эритроцитов индуцировали осмотически, наночастицами серебра, нитратом серебра и хлорноватистой кислотой. Обнаружено, что область гормезиса зависит от времени разрушения клеток при действии повреждающего фактора. Максимум защитного эффекта при разрушении наночастицами серебра наблюдается при концентрации пероксида водорода 1250 мкМ, при разрушении нитратом серебра – при 700 мкМ, при гемолизе хлорноватистой кислотой – при 350 мкМ, а при осмотическом гемолизе – при 100 мкМ. Наиболее медленное разрушение эритроцитов индуцировалось наночастицами серебра (50 мин), наиболее быстрое – осмотически (1 мин). Время гемолиза, индуцированного нитратом серебра и хлорноватистой кислотой, составило 20 мин и 5 мин соответственно.

Защитный механизм, основанный на связывании метгемоглобина с клеточной мембраной, является универсальным для эритроцитов при действии окислителей. Однако, количество образующихся на мембране комплексов и защитные свойства клеток неодинаковы для разных стрессовых факторов. Численное моделирование процессов восстановления метгемоглобинов и феррилгемоглобинов позволяет сделать вывод о необходимости большего количества пероксида водорода при увеличении времени, затрачиваемого на разрушение. Сокращение времени гемолиза, наоборот, приводит к смещению максимума доли неразрушенных клеток к более низким концентрациям окислителя.

Таким образом, защитные свойства клеток носят динамический характер и зависят от ряда внутриклеточных и внеклеточных факторов. Динамика процессов связывания метгемоглобинов и феррилгемоглобинов играет ключевую роль в способности эритроцитов к защите от разрушения повреждающими факторами.

Работа выполнена при поддержке БРФФИ, договор Б22-045.

### Библиографические ссылки

1. Космачевская О.В., Насыбуллина Э.И., Блиндарь В.Н., Топунов А.Ф. Связывание эритроцитарного гемоглобина с мембраной как способ осуществления сигнально-регуляторной функции // Прикл. биохим. и микробиол., 2019. Т. 55, № 2. С. 107–123.
2. Voinarouski V., Martinovich G. Regulation of the structural stability of erythrocytes by hydrogen peroxide: mathematical model and experiment // Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology. 2022. Vol. 16, № 1. P. 28–43.



## **ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ, ИНДУЦИРОВАННОЕ ЦИТОХРОМОМ С В ПРИСУТСТВИИ ФОСФАТИДНОЙ КИСЛОТЫ. ПЕРСПЕКТИВНАЯ РОЛЬ В РАЗВИТИИ АПОПТОТИЧЕСКИХ И ФЕРРОПТОТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ**

**Волков В.В., Степанов Г.О., Осипов А.Н.**

*Российский национальный исследовательский медицинский университет  
им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия*

Известно множество заболеваний, патогенетическим звеном которых является нарушение регулируемой клеточной гибели (РКГ). Со временем было открыто множество вариантов РКГ: апоптоз, ферроптоз, пироптоз и другие. На сегодняшний день хорошо изучена роль кардиолипина в инициации структурных изменений в цитохроме *c* (далее CytC), которые, в свою очередь, приводят к изменению его пероксидазной активности, что приводит к перекисному окислению липидов (ПОЛ) и развитию апоптотических процессов [1].

Цель: исследование влияния кардиолипина (CL) и фосфатидной кислоты (PA) на перекисное окисление фосфолипидных мембран, которое инициируется митохондриальным CytC. CytC-опосредованное окисление фосфолипидов является ключевым инициирующим событием развития запрограммированной гибели клеток.

Известно, что пероксидазная активность CytC резко возрастает в присутствии CL митохондрий. Было показано как окисление отдельных липидов, так и образование пор в митохондриальных мембранах под действием CytC [2]. Однако процессы перекисного окисления митохондриальных мембран, индуцированного комплексами CytC с DOPA, ранее не изучены. При помощи хемилюминесценции показано, что интенсивность CytC-индуцированного ПОЛ при увеличении процентного содержания TOCL или DOPA в липосомах (от 10 до 50%) увеличивается до 24 раз относительно DOPC содержащих образцов. При этом CytC-фосфолипидные комплексы с DOPC, не влияют на интенсивность хемилюминесценции. Нужно заметить, что зависимость интенсивности хемилюминесценции от концентрации CytC не линейная. Максимальной она была при соотношении анионных фосфолипидов к CytC 200-250 к 1 соответственно.

Таким образом, показано, что: 1. Способность CytC инициировать ПОЛ в присутствии TOCL- или DOPA-содержащих липосом возрастает до 24 раз. 2. При увеличении количества CytC его способность вызывать ПОЛ изменяется не линейно (сначала увеличивается, а потом резко снижается), что может быть связано с особенностями структурных изменений CytC, которые, как известно, зависят от соотношения анионные фосфолипиды/CytC. 3. Данная способность CytC в присутствии TOCL и DOPA может играть ключевую роль в развитии как апоптотических, так и ферроптотических процессов. Они, в свою очередь, являются неотъемлемым элементом патогенеза онкологических, сердечно-сосудистых и многих других заболеваний.

### **Библиографические ссылки**

1. Kagan, V.E., et al., Redox phospholipidomics of enzymatically generated oxygenated phospholipids as specific signals of programmed cell death. *Free Radic Biol Med*, 2020. 147: p. 231-241.
2. Puchkov, M.N., et al., Cytochrome *c* produces pores in cardiolipin-containing planar bilayer lipid membranes in the presence of hydrogen peroxide. *Biochim Biophys Acta*, 2013. 1828(2): p. 208-12.

## ХАРАКТЕРИСТИКА ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ МУЖСКОЙ ИНФЕРТИЛЬНОСТИ ПО УРОВНЮ АКТИВНОСТИ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ СПЕРМОПЛАЗМЫ

Герловский Д.О., Литвинко Н.М., Павлюченко Н.И.

*Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Мужское бесплодие является распространённой проблемой во всем мире. Для проведения ранней диагностики необходим поиск соответствующих молекул-маркеров, присутствие которых свидетельствовало бы о начале патологического процесса [1]. После сложного процесса дифференцировки мужских половых клеток сперматозоиды для выполнения своей физиологической функции должны обладать не только свойством высокой степени подвижности, но и способностью преодолевать при оплодотворении яйцеклетки клеточный барьер, состоящий из белков и фосфолипидов. В связи с этим изучение в семенной жидкости человека общей протеазной и фосфолипазной (КФ 3.1.1.4, ФЛА<sub>2</sub>) активности (или специфичности), которые являются целью данного исследования, приобретают особую актуальность. Ранее нами с помощью диффузии ФЛА<sub>2</sub> в субстрат-содержащий гель [2, 3] и при взаимодействии жирной кислоты, как продукта действия ФЛА<sub>2</sub>, с гемоглобином [3] установлено, что существует корреляция между уровнем ФЛА<sub>2</sub> в спермоплазме пациентов и диагнозом бесплодие. Концентрация белка в условиях эксперимента *in vitro* для пациента с диагнозом бесплодие и для здорового донора не отличалась и составила 8,8 мг/мл спермоплазмы.

Определение общей активности ФЛА<sub>2</sub> спермоплазмы проводили с использованием тонкослойной хроматографии (ТСХ), которая показала наличие пятен гидролизованного субстрата, что может свидетельствовать о достаточной чувствительности метода для анализа активности данного фермента. Скорость гидролиза субстрата под действием ФЛА<sub>2</sub> спермоплазмы больного и здорового донора составила 0,0195 мкмоль/мин·мл и 0,0026 мкмоль/мин·мл или на мг белка – 0,022 МЕ/мг и 0,003 МЕ/мг соответственно. Обнаружено, что ФЛА<sub>2</sub> семенной жидкости проявляет большую специфичность к фосфатидилхолину (ФХ) в сравнении с ФЭА. Показано *in vitro*, что скорость протеолитического гидролиза субстрата, под действием спермоплазмы больного с диагнозом бесплодие была вдвое выше здорового донора: 0,12 мкмоль/мл·мин и 0,062 мкмоль/мл·мин соответственно. Конечная общая протеазная активность спермоплазмы на мг белка составила 0,136 МЕ/мг в случае больного и 0,07 МЕ/мг – здорового доноров, что свидетельствует об увеличении активности обоих ферментов при развитии заболевания. Полученные результаты обсуждаются в свете того, что для количественного анализа активности ФЛА<sub>2</sub> спермоплазмы возможно использование метода ТСХ с предпочтительным использованием ФХ в качестве субстрата реакции при оценке потенциальной мужской фертильности.

### Библиографические ссылки

1. Камышников В.С. Клиническая лабораторная диагностика (методы и трактовка лабораторных исследований) / В. С. Камышников [и др.]; под общ. ред. В.С. Камышникова. М.:МЕВ пресс-информ., 2015. – 720 с.
2. Папино Д.С. [и др.]; Использование метода определения лецитиназной активности при диффузии фермента в желточно-солевой агар для диагностики заболеваний репродуктивной системы/Материалы Международной научно-практической конференции «Биотехнологии микроорганизмов», г. Минск, 27-29 ноября 2019 г., С.379 – 381.
3. Литвинко, Н.М. [и др.]; Прогнозная оценка потенциальной мужской фертильности по определению активности фосфолипазы А<sub>2</sub>. Лабораторная диагностика. Восточная Европа.– 2021.– Т.10, №2, С.119-129.

## АКТИВАЦИЯ ПРОЛЕКАРСТВ НА ОСНОВЕ ФОСФОЛИПИДОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ФОСФОЛИПАЗ, ВЫДЕЛЯЕМЫХ МИКРООРГАНИЗМАМИ

Герловский Д.О., Расич В.А., Литвинко Н.М.

Институт биоорганической химии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

Существует ряд проблем, которые ограничивают применение многих лекарственных веществ: низкая растворимость, биоразлагаемость, побочные эффекты, токсичность. Использование технологий модификации препаратов prodrugs, предусматривающих конъюгацию фосфолипидов с производными нуклеозидов, облегчает проникновение веществ через мембрану, повышает действенность препарата, предоставляет возможность направленной доставки к мишени, снижает токсичность. В представленной работе технологию prodrugs применяли к неларабину [5]. В качестве микроорганизма-мишени выбран штамм *Candida sake*, который является возбудителем спондилодисцита у пациентов на гемодиализе [2] и вульвовагинального кандидоза [3]. Известны случаи заболевания грибковым эндокардитом, вызванным *C. sake*, у пациентов с ревматической недостаточностью митрального клапана после операции [1]. Целью данной работы являлось изучение возможности активации пролекарств под действием факторов вирулентности – фосфолипаз самих микроорганизмов.

Показано методом диффузии в агарозный гель, что штамм *Candida sake* обладает фосфолипазной активностью. Установлено, что липоконъюгат димиристоилфосфатидилнеларабин, изученный как потенциальное пролекарство разными методами в составе мицеллярной и ламеллярной фаз, проявил антимикробную активность по отношению к грибам рода *Candida*. Мицеллярная липоформа препарата оказалась более эффективной: значения минимальной ингибирующей концентрации (МИК), полученные *in vitro*, находятся в диапазоне 0,05-0,125 мкмоль/мл. Такие препаративные липоформы неларабина начинали действовать через 10 ч и показали блокировку скорости роста микроорганизма в 10 раз по сравнению с контролем. Живых клеток *C. sake* после 24 ч инкубации с исследуемым димиристоилфосфатидилнеларабином обнаружено не было. Длительное время проявления антимикробного эффекта вероятнее всего связано с необходимостью наработки фосфолипазы микроорганизмом для фосфолиполиза. Различия в действии мицеллярных и липосомальных форм препарата подтверждают ранее установленную роль межфазной поверхности «липид-вода» в активации реакций фосфолиполиза. Полученные результаты обсуждаются в свете того, что данное пролекарство с учетом диапазона установленной МИК не уступает по эффективности другим антимикробным препаратам: к примеру, такие значения для флуконазола колеблются от 0,0004 до 0,209 мкмоль/мл [4].

### Библиографические ссылки

1. Anuradha, S. *Candida sake* – A Rare Cause of Fungal Endocarditis / S. Anuradha – P. 2.
2. *Candida sake* as the causative agent of spondylodiscitis in a hemodialysis patient / A. Palmisano [et al.] // The Spine Journal. – 2011. – Vol. 11, № 3. – P. e12-e16.
3. Epidemiological phenotypic characteristics of vaginal yeasts at the Comoros / C. Farina [et al.] // Mycoses. – 2009. – Vol. 52, № 5. – P. 458-461.
4. Minimum inhibitory concentrations of amphotericin B, azoles and caspofungin against *Candida* species are reduced by farnesol / R.A. Cordeiro [et al.] // Med Mycol. – 2013. – Vol. 51, № 1. – P. 53-59.
5. Sanford, M. Nelarabine / M. Sanford, KA. Lyseng-Williamson // Drugs. – 2008. – Vol. 68, № 4. – P. 439-47.

## СРАВНЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ К НИТРИТНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У ВАКЦИНИРОВАННЫХ SINOVAС-CORONAVAC И ПЕРЕНЕСШИХ COVID-19

Гулиева Р.Т.<sup>1</sup>, Джафар Н.А.<sup>2</sup>, Оруджова А.Я.<sup>1</sup>, Мамедзаде Ч.С.<sup>1</sup>, Умудлу У.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт Биофизики НАН Азербайджана, Баку, Азербайджан,

<sup>2</sup>Клиника MediClub, Баку, Азербайджан

Острая и хроническая интоксикация нитритами приводит к метгемоглобинемии и окислению гема в эритроцитах, вызывая гемическую и гистотоксическую гипоксию в организме. Образовавшиеся при этом высоко активные продукты свободнорадикального окисления существенным образом повреждают мембраны эритроцитов, вызывая гемолиз последних. Устойчивость к нитритной интоксикации становится особенно актуальной на фоне пандемии COVID-19 и массовой вакцинации против этого вируса, так как одним из тяжелых последствий данной инфекции является гипоксическое повреждение эритроцитов [1]. Цель работы – выявить взаимосвязь между уровнем ферритина в сыворотке крови и метгемоглобинемией при нитритном отравлении [2] у лиц, переболевших и вакцинированных COVID-19, а также проанализировать причины ее возникновения [3].

В эксперименте участвовали невакцинированные лица, перенесшие ковид (n = 7), разделенные на 2 группы: 1-ая с высоким уровнем ферритина (450,00±28,31 нг/мл), 2-ая в норме (117,00±40,11 нг/мл); и вакцинированные вакциной синовак (n = 6), которые были разделены в свою очередь на 2 группы: 1 – с высоким уровнем ферритина (330,00±15,90 нг/мл), 2 – в норме (76,00±19,20 нг/мл). Кровь забирала через 3 недели после вакцинации и перенесенного заболевания. В экспериментальных исследованиях изолированные эритроциты инкубировали в течение 30 мин с использованием различных концентраций нитрита натрия (NaNO<sub>2</sub>) (нетоксичный 0,07; субтоксический 0,70; токсичный 7,00 мМ). в фосфатном буфере рН 7,4. Уровень метгемоглобина в лизате эритроцитов в 1-ой группе у перенесших ковидную инфекцию возрастал на 4,2% при нетоксической; на 68,0% при субтоксической; и на 89,1% при токсической дозах соответственно. Тогда как в во 2-ой группе эти показатели не поднимались выше 32%. У вакцинированных в группе с высоким ферритином при токсической дозе уровень метгемоглобина повышался на 44,9%, тогда как в группе с нормальным уровнем ферритина это повышение составило 28,1%. Согласно полученным результатам устойчивость гемоглобина к токсическим дозам нитрита у лиц, перенесших ковид, значительно снижалась по сравнению с вакцинированными Синовак, что показывает необходимость проведения вакцинных мероприятий.

### Библиографические ссылки

1. Jafarova SH, Adnaev SA, Guliyeva RT, Jafar NH. The Role of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase in the Development of Hyponatremia under Conditions of Hypoxic Stress in Patients with SARS-CoV-2 Infection. Bull Exp Biol Med. 2022 Jan;v.172, №3,p.283-287.

doi: 10.1007/s10517-022-05377-7.

2. Гусейнова Севиндж Явус, Гулиева Ругия Таирага, Дадашов Мурсал Зубайил, Джафаров Ахверди Исмаил, Яхьяева Флорида Радик, Гусейнов Токай Магеррам Окислительная модификация гемоглобина изолированных эритроцитов в инкубационной среде, содержащей нитрит натрия и селенит натрия // Вестник НГПУ. 2016, №5, с.33

3. Полушин Ю.С., Шлык И.В., Гаврилова Е.Г., Паршин Е.В., Гинзбург А.М. Роль ферритина в оценке тяжести COVID-19. Вестник анестезиологии и реаниматологии. 2021,т.18, №4, с.20-28. doi: 10.21292/2078-5658-2021-18-4-20-28

**ГЕМОСОВМЕСТИМОСТЬ ГРАФЕНОВЫХ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК****Екимчик В.В.<sup>1</sup>, Коваленко Е.И.<sup>1</sup>, Богданова А.В.<sup>2</sup>, Голубева Е.Н.<sup>2</sup>, Демиденко М.И.<sup>2</sup>,  
Кулагова Т.А.<sup>2</sup>**<sup>1</sup>*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*<sup>2</sup>*НИУ «Институт ядерных проблем» БГУ, Минск, Беларусь*

Эффективность использования наночастиц для адресной доставки лекарственных веществ зависит от персистенции нанообъектов в крови и от их гемосовместимости. Введение наночастиц должно сопровождаться отсутствием гемолиза эритроцитов, агрегации тромбоцитов и активации фагоцитов крови. Благодаря интенсивной фотолюминесценции, графеновые квантовые точки (ГКТ) используются для биовизуализации клеточных органелл и перспективны для контролируемой адресной доставки лекарств [1]. Цель работы – исследование взаимодействия ГКТ с эритроцитами крови человека.

Эритроциты выделяли из периферической крови человека. «Тени» эритроцитов выделяли путем 2-х кратного помещения клеток в гипоосмотическую среду и центрифугирования. Влияние ГКТ на целостность клеток изучалось по спектрам поглощения супернатантов. Структурные и геометрические параметры клеток, а также накопление ГКТ эритроцитами изучали методом флуоресцентной микроскопии при возбуждении излучением с длиной волны 470 нм. Оценка влияния ГКТ на мембранные характеристики проводилась флуориметрически с использованием липофильного флуоресцентного зонда 1,6-дифенил-1,3,5-гексатриена (ДФГТ).

Выявлено, что ГКТ в концентрации 1-50 мкг/мл при добавлении к эритроцитам накапливаются на мембранах клеток уже через 1 ч инкубирования. При этом меняется форма эритроцитов, регистрируется формирование эхиноцитов. Однако клетки сохраняют свою целостность, концентрация гемоглобина в супернатанте не превышает контрольных значений и метгемоглобин не образуется. Нами зарегистрирована флуоресценция ГКТ на поверхности эритроцитов после инкубирования клеток с нанообъектами 24 ч. Флуоресценция ГКТ наблюдается и при использовании «теней» эритроцитов. Следовательно, ГКТ не оказывают цитотоксического воздействия на эритроциты человека и могут транспортироваться этими клетками в крови.

Анализируя степень поляризации люминесценции ДФГТ в мембранах «теней» эритроцитов, установлено, что при добавлении ГКТ в концентрации 50 мкг/мл этот параметр возрастает с 0,24 до 0,26. Следовательно, ГКТ в данной концентрации накапливаются на поверхности эритроцитов, что приводит к увеличению микровязкости мембран.

Таким образом, ГКТ в концентрации до 50 мкг/мл не оказывают повреждающего действия на эритроциты человека. При этом данный наноматериал равномерно распределяется на поверхности клеток, встраиваясь в мембрану и повышая ее вязкость. На основании проведенных исследований можно заключить, что ГКТ являются перспективным нанообъектом для контролируемой адресной доставки лекарственных соединений.

Авторы выражают благодарность БРФФИ за финансовую поддержку, грант M22MB-19.

**Библиографические ссылки**

1. Perini G., Palmieri V., Ciasca G. et al. Unravelling the Potential of Graphene Quantum Dots in Biomedicine and Neuroscience // Int. J. Mol. Sci. 2020. Vol. 21(10). P. 3712.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФОСФАТИДНОЙ КИСЛОТЫ НА ТЕМПЕРАТУРУ КОНФОРМАЦИОННОГО ПЕРЕХОДА КОМПЛЕКСОВ [ЦИТОХРОМ С + ФОСФОЛИПИДЫ]

Журавлева Э.Р., Степанов Г.О., Осипов А.Н.

*Российский национальный исследовательский медицинский университет  
им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия*

Изучение молекулярных и клеточных механизмов апоптотических процессов является одной из наиболее актуальных проблем современной медицинской науки. Так, одним из путей инициации апоптоза является митохондриальный механизм [1], который характеризуется увеличением пероксидазной активности цитохрома *c*. Однако данному событию предшествует взаимодействие цитохрома *c* с анионными фосфолипидами митохондриальных мембран [2]. Данное взаимодействие приводит к конформационной перестройке активного центра цитохрома *c*.

Целью данной работы было исследование зависимости изменения структуры комплексов цитохрома *c* с фосфатидной кислотой при нагревании, а также определение значений температур, при которых данный конформационный переход происходит в присутствии фосфатидной кислоты.

Исследование было проведено при помощи спектрофлуориметрии при значениях длины волны возбуждения и испускания 280 и 335 нм соответственно. Исследование было выполнено в диапазоне температур 25-90 °С с шагом 5 °С. Образцы содержали комплексы цитохрома *c* с фосфатидной кислотой или фосфатидилхолином.

Ранее при помощи хемилюминесценции было показано, что изменение пероксидазной активности цитохрома *c* происходит наиболее выражено при добавлении фосфатидной кислоты. В присутствии фосфатидной кислоты значительно изменялась форма кинетической кривой, показывая резкое увеличение интенсивности. А при исследовании зависимости флуоресценции от температуры для аналогичных комплексов цитохрома *c* с фосфолипидами показано, что температура конформационного перехода для комплексов [цитохром *c* + фосфатидилхолин] и [цитохром *c* + фосфатидная кислота] составляла 66 °С и 75 °С соответственно.

Полученные результаты подтверждают ранее исследованные функциональные изменения цитохрома *c* и способность фосфатидной кислоты оказывать на них влияние. Можно предположить, что эти отличия связаны с тем фактом, что конформационные переходы для комплексов [цитохром *c* + фосфатидилхолин] и [цитохром *c* + фосфатидная кислота] происходят при разных температурах.

### Библиографические ссылки

1. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol.* 2007 Jun;35(4):495-516. doi: 10.1080/01926230701320337. PMID: 17562483; PMCID: PMC2117903.
2. Kagan VE, Tyurina YY, Vlasova II, Kapralov AA, Amoscato AA, Anthonyuthu TS, Tyurin VA, Shrivastava IH, Cinemre FB, Lamade A, Epperly MW, Greenberger JS, Beezhold DH, Mallampalli RK, Srivastava AK, Bayir H, Shvedova AA. Redox Epiphospholipidome in Programmed Cell Death Signaling: Catalytic Mechanisms and Regulation. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021 Feb 19;11:628079. doi: 10.3389/fendo.2020.628079. PMID: 33679610; PMCID: PMC7933662.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЛОКАЛИЗАЦИИ, РАСПРЕДЕЛЕНИЯ И МЕХАНИЗМОВ ФОТОЦИТОТОКСИЧНОСТИ РЯДА АМИНОПРОИЗВОДНЫХ ХЛОРИНА E<sub>6</sub> В КЛЕТОЧНЫХ СИСТЕМАХ

Зорина Т.Е.<sup>1</sup>, Кравченко И.Е.<sup>1</sup>, Коблов И.В.<sup>1</sup>, Ермилова Т.И.<sup>2</sup>, Шман Т.В.<sup>2</sup>,  
Кустов А.В.<sup>5</sup>, Березин Д.Б.<sup>4</sup>, Зорин В.П.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Беларусь

<sup>3</sup>Международный государственный экологический институт им. А.Д. Сахарова БГУ,  
Минск, Беларусь

<sup>4</sup>Ивановский государственный химико-технологический Университет, Иваново, Россия

<sup>5</sup>Институт химии растворов им. Г.А. Крестова РАН, Иваново, Россия

Выбор фотосенсибилизатора (ФС) является одним из основных факторов, определяющих успех фотодинамической терапии (ФДТ). Следует отметить, что результативность ФДТ зависит не только от свойств ФС, но и от биологических особенностей опухолей. Поэтому ФС, работающие при одном типе онкопатологии, могут оказаться малоэффективными при другом. Результаты исследования *in vitro*, в которых сравниваются различные фотоактивные соединения, служат базовой информацией в поисках оптимального ФС для конкретного клинического применения.

Одним из ФС, наиболее широко используемых в настоящее время в клинической практике, является хлорин E<sub>6</sub> (Хл E<sub>6</sub>). Исследования с использованием Хл E<sub>6</sub> в качестве сенсибилизатора для ФДТ проводились в Республике Беларусь и в России и результатом работ явилось создание препаратов широкого спектра применения на основе Хл E<sub>6</sub>: «Фотолон» (Беларусь), «Радахлорин», «Фотодитазин» (Россия), которые вошли в клиническую практику.

Целью настоящей работы было исследование физико-химических и фотофизических характеристик широкого ряда (6 соединений) новых аминопроизводных хлорина E<sub>6</sub> (АПХл E<sub>6</sub>), синтезированных в Ивановском государственном химико-технологическом Университете (г. Иваново, Россия). Кроме того, были изучены процессы распределения данных соединений в модельных клеточных системах, а также их способность сенсибилизировать клетки к действию видимого света. Согласно полученным данным, химическая модификация Хл E<sub>6</sub> при синтезе АПХл E<sub>6</sub> не приводит к существенным изменениям спектральных и фотофизических характеристик ФС. В то же время появление новых латеральных заместителей сильно меняет полярные свойства молекул фотосенсибилизаторов, что приводит к изменению характеристик биораспределения. Подобно неполярным этерифицированным производным Хл E<sub>6</sub> (ЭПХл E<sub>6</sub>), АПХл E<sub>6</sub> проявляют повышенное сродство к липопротеинам сыворотки и клеточным мембранам, а также характеризуются более высокими, по сравнению с Хл E<sub>6</sub>, скоростями внутриклеточного накопления. Наибольшая эффективность сенсибилизации клеток к повреждающему действию света наблюдалась для двух гидрофобных АПХл E<sub>6</sub> (коэффициент распределения октанол/вода  $\approx 30,2 \pm 1,9$ ). Таким образом, замещение боковых анионных групп в молекуле Хл E<sub>6</sub> на аминоксодержащие катионные позволяет получить соединения, с повышенной фотоактивностью в составе клеточных систем. Особенностью фотосенсибилизации с участием АПХл E<sub>6</sub> является относительно высокий в сравнении с ЭПХл E<sub>6</sub> выход некротически поврежденных клеток. Принимая во внимание особенности механизмов транспорта ФС в крови, кинетики связывания и накопления клетками, можно предположить, что исследуемые АПХл E<sub>6</sub> способны обеспечить повышенную тропность фотосенсибилизации сосудистой системы тканей.

## АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОНТРАНСФЕРАЗЫ В ЭРИТРОЦИТАХ ПАЦИЕНТОВ ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Зубрицкая Г.П.<sup>1</sup>, Найда Е.Н.<sup>2</sup>, Григоренко Е.А.<sup>2</sup>, Митьковская Н.П.<sup>2</sup>, Слобожанина Е.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

Распространенность сердечно-сосудистых заболеваний на фоне артериальной гипертензии (АГ) неуклонно растет во всем мире и, в том числе, в Республике Беларусь. АГ в течение многих лет может развиваться бессимптомно и до сих пор не определены лабораторные маркеры, указывающие на повреждение головного мозга при АГ. Большое количество работ посвящено исследованию системы антиоксидантной защиты при АГ. Ранее нами было обнаружено, что в эритроцитах пациентов с перенесенным острым нарушением мозгового кровообращения (ОНМК) происходит увеличение активности как глутатиопероксидазы, так и каталазы по сравнению с пациентами с АГ без поражения головного мозга. Многофункциональными ферментами, играющими важную роль при обезвреживании цитотоксических соединений путем различных механизмов, являются глутатионтрансферазы (ГТ). К настоящему времени у человека известен 21 фермент, обладающий глутатионтрансферазной активностью. Наличие в эритроцитах человека ГТ является принципиально важным, так как способствует детоксикации не только экзогенных гидрофильных соединений уже на первых этапах их проникновения в организм, но и продуктов, образовавшихся в клетках при окислительном стрессе. Цель настоящей работы – провести сравнительный анализ активности ГТ в эритроцитах пациентов с АГ и поражением головного мозга, у лиц с АГ при отсутствии повреждения головного мозга, а также в эритроцитах пациентов с перенесенным ОНМК.

В исследование вовлечены пациенты с АГ различной степени тяжести. Активность глутатионтрансферазы в эритроцитах определяли спектрофотометрически по методу Nabis W.H. и др. В качестве субстрата использовали 1-хлор-2,4-динитробензол.

Нами установлено, что среднее значение активности глутатионтрансферазы в эритроцитах пациентов с ОНМК и с бессимптомным поражением головного мозга достоверно увеличено по сравнению с активностью этого фермента в эритроцитах пациентов с АГ без поражения головного мозга ( $222,2 \pm 25,6$  мкМ/мин/мг Нб,  $153,2 \pm 10,2$  мкМ/мин/мг Нб и  $89,2 \pm 20,4$  мкМ/мин/мг Нб соответственно ( $p < 0,05$ )). При этом обнаружены индивидуальные различия данного показателя внутри обследуемых групп. Например, из 10 обследованных пациентов с бессимптомным поражением головного мозга у 3-х активность ГТ была близка к значению, характерному для эритроцитов пациентов с АГ без поражения головного мозга. В то же время содержание восстановленного глутатиона – главного низкомолекулярного антиоксиданта эритроцитов, было достоверно снижено ( $p < 0,05$ ) как у пациентов с ОНМК, так и в группе пациентов с АГ и поражением головного мозга по сравнению с группой пациентов с АГ без поражения головного мозга. Это может свидетельствовать о некотором истощении антиоксидантной системы в эритроцитах при исследуемых патологиях, либо об активировании глутатионтрансфераз продуктами катализируемых реакций – глутатион-S-конъюгатами. Полученные результаты могут свидетельствовать о том, что активность ГТ в эритроцитах пациентов с АГ связана со степенью поражения головного мозга. Полученные результаты могут быть использованы в дальнейшем при разработке лабораторного способа диагностики бессимптомного поражения головного мозга при АГ.



## ВЛИЯНИЕ ИОНОВ ЛИТИЯ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ БЕЛКОВ И ЛИПИДОВ В ЭРИТРОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА

Зубрицкая Г.П., Слобожанина Е.И.

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Соли лития используются в медицине в качестве психотропных и других лекарственных средств, а также их применяют в составе кормовых добавок в животноводстве. Литий в настоящее время широко применяется и для изготовления литиевых аккумуляторов. В связи с этим возникла опасность неконтролируемого накопления лития в организме человека. До сих пор неизвестны механизмы, посредством которых литий оказывает свое действие на клетки. Одним из них может быть изменение физико-химических свойств мембран эритроцитов. Цель настоящей работы – выявить изменение структурно-функциональных параметров мембранных белков и липидов в эритроцитах человека при воздействии на них солей лития *in vitro*.

Эритроциты подвергались воздействию сульфата лития в фармакологических (0,6 мМ, 3 мМ) и токсичных (6 мМ; 10 мМ) концентрациях в течение 3 ч при 37 °С. Из них выделяли мембраны эритроцитов. Активность ацетилхолинэстеразы (АХЭ) определяли спектрофотометрически по методу Элмана. Для выявления изменений микровязкости липидов в мембранах эритроцитов были использованы липофильные флуоресцентные зонды 1-(4-триметиламмоний-6-фенил-1,3,5-гексатриен (ТМА-ДФГ) и 6-додеканол-2-диметиламинонафтаден (лаурдан), параметры флуоресценции которых позволяют оценить изменение физического состояния фосфолипидов на разной глубине липидного бислоя мембран. В литературе практически отсутствует информация о влиянии ионов лития на эритроцитарную АХЭ, которая структурирована в поверхностном слое мембраны в виде липопротеидного комплекса. Нами установлено, что средние значения максимальной скорости ( $V_{\text{макс}}$ ) и константы Михаэлиса ( $K_M$ ) мембраносвязанной АХЭ достоверно снижены ( $p < 0,05$ ) в эритроцитах, подвергшихся воздействию максимальной фармакологической и токсической концентраций сульфата лития по сравнению с контролем, причем наиболее выраженный эффект после воздействия 10 мМ  $\text{Li}_2\text{SO}_4$ . Обнаруженное снижение активности мембраносвязанной АХЭ свидетельствует об индуцированном ионами лития изменении структурно-функционального состояния мембран эритроцитов. Известно, что ключевая роль в регуляции всех процессов, происходящих в мембранах, принадлежит микровязкости липидов. Нами выявлено достоверное повышение степени поляризации флуоресценции ТМА-ДФГ в изолированных мембранах из эритроцитов, подвергшихся воздействию сульфата лития в фармакологических (3 мМ) (на 25%), токсических концентрациях (6 мМ) – на 35% и 10 мМ – на 40-45% по сравнению с контролем. Увеличение поляризации флуоресценции ТМА-ДФГ, встроенного в изолированные мембраны эритроцитов, свидетельствует о снижении текучести липидного бислоя в мембранах под влиянием ионов лития. Обнаружено незначительное снижение генерализованной поляризации флуоресценции лаурдана, включенного в изолированные мембраны из эритроцитов, обработанных как фармакологическими, так и токсическими концентрациями сульфата лития, по сравнению с контролем. Изменения параметров флуоресценции различных по локализации в мембране липофильных зондов дает основание заключить, что на разной глубине липидного бислоя мембран имеет место литий-индуцированная модификация липидов. Полученные результаты свидетельствуют о нарушении структурно-функционального состояния мембран эритроцитов при воздействии на клетки солей лития в токсических концентрациях.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ИК СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ УРОВНЯ ЛИПОПРОТЕИНОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН

Иванов А.А.<sup>1</sup>, Козлякова О.В.<sup>2</sup>, Королик А.К.<sup>3</sup>, Тарасик М.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Городской центр трансфузиологии УЗ 6-ой ГКБ, Минск, Беларусь

<sup>3</sup>ГУ Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии, Минск, Беларусь

В последние годы метод ИК спектроскопии, благодаря существенному повышению его аналитических возможностей в результате использования ИК-фурье-спектрометров, находит все большее применение в медицине, в частности, для компонентного анализа плазмы крови и структуры входящих в ее состав белков, диагностики на этой основе различных заболеваний [1]. Однако исследования ИК спектров плазмы крови беременных женщин до настоящего времени не проводились. Между тем кровь в организме беременных женщин выполняет интегрирующую функцию и отражает состояние матери и плода. Поэтому компонентный анализ плазмы крови важен для быстрого выявления особенностей патологического процесса либо подтверждения нормально протекающей беременности. Одним из показателей нормального или нарушенного протекания основных физиологических процессов в организме человека является уровень липопротеинов в плазме крови.

Цель данной работы – анализ изменения уровня липопротеинов в плазме крови беременных женщин с положительной (Rh<sup>+</sup>) и отрицательной (Rh<sup>-</sup>) резус-принадлежностью крови, а также беременных женщин с резус-иммунизацией (Rh-иммунизация) в зависимости от сроков беременности методом ИК-фурье-спектроскопии.

Для проведения ИК спектроскопических исследований плазмы крови женщин контрольной группы, беременных с Rh<sup>+</sup> и Rh<sup>-</sup> при физиологической беременности и с Rh-иммунизацией на разных сроках беременности, а также модельных образцов-альбумина и липопротеинов разной плотности нами были получены тонкие пленки на поверхности оптических окон из кристаллов KRS-5 путем нанесения и последующей сушки дозированных количеств разбавленной плазмы и водных растворов модельных соединений. Пленки формировались при комнатной температуре и влажности в течение не менее 24 ч. ИК спектры в области частот 400-4000 см<sup>-1</sup> регистрировались на ИК-фурье спектрометре *Nexus 670* (Nicolet, США) при спектральном разрешении 2 см<sup>-1</sup> и числе сканирований 128, при этом прибор постоянно продували сухим воздухом.

Полученные результаты исследований ИК спектров пленок плазмы крови здоровых женщин репродуктивного возраста, беременных женщин с положительной и отрицательной резус-принадлежностью крови, а также беременных женщин с резус-иммунизацией в зависимости от сроков беременности позволили установить, что уже на ранних сроках беременности наблюдается увеличение содержания липопротеинов в плазме крови всех групп исследованных беременных женщин независимо от резус-принадлежности и достигает максимума на сроках 30-35 недель. Показано, что для беременных женщин с положительным и отрицательным резусом зависимость уровня липопротеинов в плазме крови от сроков беременности количественно одна и та же. Впервые установлено, что эта зависимость для беременных женщин с резус-иммунизацией отличается существенным увеличением содержания липопротеинов на сроке беременности 30-32 недели и очень сильным и быстрым снижением к 36 неделе.

### Библиографические ссылки

1. Petibois C., Cazorla G., Cassaigne A., Derleris G. // *Clinical Chem.* 2001. Vol. 47. P. 730-738.

## ВЛИЯНИЕ ЕСТЕСТВЕННЫХ МОДУЛЯТОРОВ ФУНКЦИИ НЕЙТРОФИЛОВ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ АГЕНТОВ НА МАРКЕРЫ ГАЛОГЕНИРУЮЩЕГО СТРЕССА В КРОВИ БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

Иванов В.А.<sup>1</sup>, Костевич В.А.<sup>1,2</sup>, Горбунов Н.П.<sup>1,2</sup>, Соколов А.В.<sup>1,2</sup>, Галкина Н.В.<sup>1</sup>, Гусев С.А.<sup>1</sup>, Островский Е.М.<sup>1</sup>, Панасенко О.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Москва, Россия

<sup>2</sup>ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

В азурофильных гранулах нейтрофилов содержится фермент – миелопероксидаза (МПО), способный катализировать окисление галогенидов с образованием гипогалоидных кислот, так называемых активных форм галогенов (АФГ). АФГ способны модифицировать многие биологически важные молекулы, повреждать клетки и ткани организма-хозяина, что приводит к развитию галогенирующего стресса (ГС). Известно, что ГС играет важную роль в патогенезе многих заболеваний, сопряженных с инфекцией и воспалением. Одно из таких заболеваний – сахарный диабет 2 типа (СД2Т). В литературе есть указания на то, что МПО, провоцируя эндотелиальную дисфункцию, служит одним из важных связующих звеньев между воспалением, окислительным/галогенирующим стрессом и сердечно-сосудистыми осложнениями при СД2Т. Об участии ГС в развитии осложнений СД2Т говорит и тот факт, что нейтрофилы крови пациентов с СД2Т генерируют больше АФГ по сравнению с клетками здоровых доноров. В этой связи актуальным становится поиск средств, способных минимизировать ГС и модулировать реакцию нейтрофилов при воспалении у больных СД2Т. Цель работы – исследовать влияние модуляторов функции нейтрофилов и противовоспалительных агентов естественного происхождения на маркеры галогенирующего стресса в крови больных СД2Т в экспериментах *ex vivo*.

В кровь больных СД2Т и здоровых доноров, взятую с использованием ЭДТА в качестве антикоагулянта, добавляли лактоферрин (ЛФ, 1 мг/мл), церулоплазмин (ЦП, 0,03 мг/мл), полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК: эйкозапентаеновую 0,03 мг/мл и докозагексаеновую 0,03 мг/мл), витамин D<sub>3</sub> (5 нг/мл) или его метаболит 25-гидрокси-D<sub>3</sub> (45 нг/мл), инкубировали 2 ч при 37 °С, затем добавляли активатор нейтрофилов форбол-12-миристат-13-ацетат (ФМА, 100 нМ), в контрольные пробы добавляли аликвоту его растворителя – ДМСО и продолжали инкубировать еще 30 мин. В плазме крови методом ИФА определяли содержание МПО, а также хлорированные ЧСА (ЧСА-Cl), ЦП (ЦП-Cl) и липопротеины низкой плотности (ЛНП-Cl).

Показано, что ПНЖК, витамин D<sub>3</sub> и 25-гидрокси-D<sub>3</sub> достоверно не влияли на содержание маркеров ГС, определяемых в крови здоровых доноров и больных СД2Т. ЛФ не влиял на содержание маркеров ГС ни у здоровых доноров, ни у больных СД2Т. Однако он достоверно снижал маркеры ГС после добавления в кровь ФМА, как у здоровых доноров (МПО – на 61%, ЧСА-Cl – на 65%, ЦП-Cl – 58%, ЛНП-Cl – 57%), так и у больных СД2Т (МПО – на 53%, ЧСА-Cl – на 53%, ЦП-Cl – 53%, ЛНП-Cl – 53%). ЦП только в крови больных СД2Т после добавления ФМА снижал ЧСА-Cl на 49%, ЦП-Cl на 38%, ЛНП-Cl на 31%. Таким образом, ЛФ, обладающий антимикробной, антивирусной, противогрибковой активностью, увеличивающий жизнеспособность нейтрофилов в очаге воспаления, оказался эффективным сдерживающим фактором ГС в условиях активации лейкоцитов в крови здоровых доноров и больных СД2Т. Обнаруженный эффект ЦП, вероятнее всего, обусловлен его описанной ранее способностью ингибировать галогенирующую активность МПО. Работа поддержана грантом РНФ № 20-15-00390.

## АУДИОМЕТРИЯ. ИЗМЕРЕНИЯ ПОТЕРИ СЛУХА

**Йоник Е.А., Марченко Р.Е., Калинин Д.Д., Терехов И.И., Ефременко Е.Н.,  
Лобанова Н.Р., Торопыгина М.И., Мешков Г.А., Ерохина Я.Р., Прокопова К.И.,  
Ажинова Г.А., Кузнецова Е.В.**

*ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава, Москва, Россия*

Метод, позволяющий судить о степени потери слуха, называется аудиометрией [1]. Результаты фиксируются по ответам пациента и наносятся на специальный бланк – аудиограмму [2]. Специалист с помощью сертифицированного источника звука подает сигналы различной тональности (частоты) и интенсивности, задача пациента – определить, когда будет слышен звуковой сигнал. Однако не исключена ситуация отсутствия сертифицированного оборудования или возможности его сертифицировать.

Мы исследовали возможность проведения аудиометрии без сертифицированного оборудования.

В данном эксперименте источником электрического сигнала являлся низкочастотный генератор сигналов ГЗ-118 (РФ), соединенный с громкоговорителем электродинамического типа 2ГД-36-2500 (РФ), который являлся источником акустического сигнала. Электрический сигнал контролировался цифровым осциллографом UTD2025CL (Китай). Исследован порог слышимости 10 здоровых молодых людей обоих полов в возрасте от 20 до 22 лет. Испытуемые находились на расстоянии двух метров от динамика. Эти данные использовались для получения нормальной кривой порога слышимости. На основе этих данных определена потеря слуха испытуемого А.

Кривая порога слышимости в норме получена путем усреднения результатов тестирования группы, состоящей из 10 человек. Минимум порогового уровня звукового давления по ГОСТу приходится на диапазон частот 1-2 кГц, в экспериментальных данных минимум приходится на частоту 3 кГц, что, на наш взгляд, не является существенным различием. Согласно ГОСТ и нашему исследованию порог слышимости на остальных частотных интервалах соответствует более высоким значениям. Отметим, что в частотном диапазоне от 0.5 до 8 кГц порог слышимости по ГОСТу имеет перепад от максимума до минимума в 10.5 дБ, а экспериментальная зависимость – 40 дБ. График порога слышимости по ГОСТу более пологий, чем экспериментальный. У испытуемого А (60 лет), который, по его словам, плохо слышит, потеря слуха во всем исследованном частотном диапазоне от 0.5 до 8 кГц составила (по сравнению с нормой) от 20 до 40 дБ.

### Библиографические ссылки

1. Шахова, Е. Г., Пелих, Е. В., Козловская, С. Е., Зайцев, В. А. (2017). Атлас аудиограмм.
2. Антонов В. Ф. и др. Физика и биофизика. Учебник/Под ред. В.Ф Антонова //М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2008.

## ИССЛЕДОВАНИЕ АКУСТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ФАНТОМОВ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ

Калинин Д.Д., Марченков Р.Е., Терехов И.И., Йоник Е.А.

*ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава, Москва, Россия*

Ультразвуковое исследование (УЗИ) – это метод диагностики органов и тканей организма с помощью ультразвуковых волн. При прохождении через границы тканей ультразвук отражается. Отраженный сигнал, который является основой полученного в итоге изображения, фиксирует специальный датчик. Приборы УЗИ-диагностики работают подобно эхолокаторам, которые для обнаружения объекта в пространстве используют принцип импульс-эхо. Источником импульса и приемником эха сигнала является ультразвуковой датчик [1].

В эксперименте использовались: УЗ-энцефалограф (АНГИОДИН-Эхо/У), оргстекло и пластизол. В качестве геля использовалось глицериновое масло. Частота сигнала была 2 МГц.

Было проведено два эксперимента, в оргстекле и пластизоле. В результате получили скорости распространения волны в исследуемых объектах: для оргстекла 2414 м/с и для пластизоля 1612 м/с.

В мягких тканях скорость распространения ультразвука примерно равна 1585 м/с, в жировой ткани она составляет в среднем 1450 м/с, в крови – 1570 м/с, а в костной ткани – 4080 м/с [2]. Скорость ультразвука в органическом стекле ~2400 м/с, поэтому этот материал можно использовать как модельную среду, промежуточную по акустическому сопротивлению между мягкими и костной тканями. Можно предположить, что по этому параметру оргстекло может служить фантомом хрящевой ткани. Но это требует дополнительных исследований. Скорость ультразвука в пластизоле ~1600 м/с, поэтому этот материал можно использовать как модельную среду мягких тканей, например, мышц.

### Библиографические ссылки

1. Антонов В. Ф. и др. Физика и биофизика. Учебник/Под ред. В.Ф Антонова //М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2008.
2. Резников И. И. и др. Физические основы использования ультразвука в медицине //учебное пособие, Москва. – 2015.

## ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЯМОГО ВОЗБУЖДЕНИЯ РАСТВОРЕННОГО МОЛЕКУЛЯРНОГО КИСЛОРОДА В БЛИЖНЕЙ ИК ОБЛАСТИ (800-1300 НМ) В СВЯЗИ С ВОПРОСАМИ МОДЕЛИРОВАНИЯ МЕХАНИЗМА ЛАЗЕРНОЙ ТЕРАПИИ

Козлов А.С.<sup>1</sup>, Журавлев С.Г.<sup>2</sup>, Егорова О.Н.<sup>2</sup>, Медведков О.И.<sup>2</sup>, Красновский А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>ФИЦ «Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН», Москва, Россия

Терапия, основанная на применении ИК лазерных источников излучения низкой и средней интенсивности в области 800-1300 нм, активно используется для лечения различных заболеваний. Поскольку известно, что кислород имеет полосы поглощения в ближней ИК области спектра, выдвинута гипотеза, что именно молекулярный кислород, растворенный в живых клетках и тканях, является фоторецептором лазерного излучения. Чтобы выяснить, насколько вероятен этот механизм лазерной терапии, мы исследовали действие ИК лазерного излучения в области 800-1300 нм на кислород воздуха, растворенного в аэробных средах при комнатной температуре и атмосферном давлении. Данные получены с помощью набора диодных и волоконных ИК лазеров, при этом использовали кюветы с длиной оптического пути 1 см. Скорость генерации синглетного кислорода при возбуждении кислородных молекул лазерным излучением измеряли с помощью химической ловушки синглетного кислорода – 1,3-дифенилизобензофурана. В качестве растворителей использовали четыреххлористый углерод, гексафторбензол, хладон-113, а также ацетон, этанол и тяжелую воду. Установлено, что во всех растворителях в спектрах действия окисления ловушки, наиболее интенсивна полоса, совпадающая с основной абсорбционной полосы кислорода с максимумом 1273 нм (переход ( $^1\Delta_g(0) \leftarrow ^3\Sigma_g^-(0)$ ). Кроме нее, обнаруживается в 100 раз менее интенсивная полоса с максимумом 1070 нм и полушириной 8-18 нм, соответствующая первому вибронному переходу молекулярного кислорода ( $^1\Delta_g(1) \leftarrow ^3\Sigma_g^-(0)$ ). Добавление тушителей синглетного кислорода (ацетона в гексафторбензоле и азид натрия в тяжелой воде) приводило к одинаковому уменьшению скорости выцветания ловушки под действием лазеров 1070 и 1273 нм. Измерены коэффициенты поглощения кислорода в этих максимумах во всех средах. При действии ИК излучения в диапазоне 800-1060 нм скорость выцветания ловушки во всех средах была еще на порядок более низкой, причем она не зависела от длины волны возбуждения и почти не превышала скорость темного выцветания ловушки в отсутствии облучения. Отсюда следует, что величина коэффициентов поглощения кислорода, соответствующих этой области спектра, гораздо меньше, чем даже у полосы при 1070 нм. Таким образом, проведенные измерения с одной стороны, позволили впервые получить абсорбционные коэффициенты, соответствующие ИК полосам поглощения молекулярного кислорода, растворенного в естественных условиях в полярных и неполярных средах; с другой стороны, они говорят о том, что терапевтические эффекты ИК излучения, по крайней мере в области 800-1100 нм, скорее всего не связаны с возбуждением кислорода. Часть результатов этой работы опубликована в статье [1]. Работа была частично поддержана грантом РФФИ № 19-04-00331 А и госзаданием ФИЦ Биотехнологии РАН.

### Библиографические ссылки

1. Kozlov A.S., Egorova O.N., Medvedkov O.I., Krasnovsky A.A., Jr. Activation of oxygen molecules by 1070 nm laser radiation in aerated solvents // Optics Letters. 2021. vol. 46. №3. pp. 556-559.

## ОЦЕНКА СВЯЗЫВАНИЯ И ПЕРОКСИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСОВ [CytC - DOPA]. РОЛЬ ФОСФАТИДНОЙ КИСЛОТЫ В МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМАХ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ

Конюхова С.П., Степанов Г.О., Осипов А.Н.

*Российский национальный исследовательский медицинский университет  
им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия*

На сегодняшний день управление механизмами программируемой смерти клетки, такими как апоптоз и ферроптоз, может лежать в основе лечения и профилактики многих социально значимых заболеваний. В развитии запрограммированной клеточной гибели важную роль играет окисление фосфолипидов мембран. Но до сих пор не все механизмы ясны: так, взаимодействие цитохрома *c* (CytC) с кардиолипин-содержащими мембранами ведет к увеличению пероксидазной активности CytC и запускает апоптоз [1, 2]. Непонятно, почему при наличии кардиолипина (CL) и CytC в составе митохондрий нормальных клеток они не погибают самопроизвольно. Возможно другие фосфолипиды, например, фосфатидная кислота (PA), которая структурно похожа на CL, участвуют в развитии этих процессов?

Цель настоящего исследования – сравнение способности CytC формировать комплексы с PA и CL и изменение пероксидазной активности этих комплексов. Изменение конформации CytC при его взаимодействии с фосфолипидами приводит к резкому повышению его пероксидазной активности, что можно показать при образовании феноксильного радикала этопозида методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Связывание CytC с мембранами было измерено методом спектрофлуоресценции с использованием флуоресцентной метки NBD(C6)PC на фосфолипидах.

В результате измерений тушения флуоресцентно-меченных фосфолипидов была показана способность CytC взаимодействовать с мембранами, содержащими CL или PA, причем с PA более выражено (в 1,6 раз). Одновременно, CytC-фосфолипидные комплексы изучались по способности влиять на пероксидазную активность. Данные измерения были выполнены при помощи метода ЭПР. Присутствие как CL, так и PA демонстрирует увеличение пероксидазной активности в 1,8 и 1,7 раз соответственно.

Таким образом, PA, как и CL, может приводить к резкому увеличению пероксидазной активности CytC, чему предшествует в 1,6 раз более выраженное, чем у CL, связывание CytC с биологическими мембранами. А повышение пероксидазной активности CytC способствует изменению проницаемости, порообразованию мембран митохондрий, выходу железа из CytC и развитию клеточной гибели. Данные наблюдения позволяют предполагать значимую роль PA в процессах инициации гибели клеток.

### Библиографические ссылки

1. Vladimirov Y.A., Proskurnina E.V., Alekseev, A.V. Molecular mechanisms of apoptosis. Structure of cytochrome *c*-cardiolipin complex // Biochemistry Moscow. 2013. Vol. 78. No. 10. P. 1391–1404.
2. Stepanov G.O., Gnedenko O.V., Osipov A.N. et. al. Evaluation of cytochrome *c* affinity to anionic phospholipids by means of surface plasmon resonance // FEBS Letters. 2006. Vol. 583. P. 97–100.

## ВЛИЯНИЕ ЦИНКА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

Король Ю.Д.<sup>1</sup>, Кохан А.Ю.<sup>1,2</sup>, Шамова Е.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Катионы металлов играют важную роль в регуляции процессов в биологических системах. Одним из наиболее распространенных микроэлементов в организме человека является цинк. Цинк выступает в качестве кофактора множества ферментов, структурных и сигнальных белков и факторов транскрипции. Также показана роль цинка в качестве сигнальной молекулы [1]. Нарушение гомеостаза цинка приводит к ряду патофизиологических процессов, в том числе и нарушению системы гемостаза. Известно, что цинк регулирует функциональную активность тромбоцитов, однако механизмы изучены недостаточно. В данной работе исследовано влияние экзогенного цинка (10-150 мкМ) на активацию интегринового рецептора  $\alpha\text{IIb}\beta_3$ , формирование прокоагулянтной поверхности и проводимость ионных каналов плазматической мембраны тромбоцитов.

Тромбоциты выделяли из венозной донорской крови, стабилизированной цитратом. Активацию  $\alpha\text{IIb}\beta_3$  и формирование прокоагулянтной поверхности оценивали на проточном цитометре с помощью FITC-меченных антител к активированному интегрина  $\alpha\text{IIb}\beta_3$  – PAC-1 и BV421-меченного аннексина V соответственно. Проводимость ионных каналов мембраны тромбоцитов оценивали методом «пэтч-клэмп» в конфигурации «cell-attach».

Установлено, что преинкубирование тромбоцитов с  $\text{ZnSO}_4$  в течение 5 мин в диапазоне концентраций 10-50 мкМ приводило к увеличению количества активированных рецепторов фибриногена  $\alpha\text{IIb}\beta_3$  как в отсутствии дополнительного стимула, так и в присутствии тромбина (0,02 ед/мл). В диапазоне концентраций 80-150 мкМ  $\text{ZnSO}_4$ , напротив, ингибировал тромбин-индуцированную активацию интегриновых рецепторов. Анализ влияния цинка на тромбин-индуцированное формирование прокоагулянтной поверхности тромбоцитов также показал бифазный эффект: при концентрациях  $\text{ZnSO}_4$  10-50 мкМ наблюдалось потенцирование, а при концентрациях выше 50 мкМ – ингибирование экспонирования фосфатидилсерина на внешней поверхности мембраны тромбоцитов. Одним из механизмов регуляции функциональных свойств тромбоцитов цинком может быть воздействие на ионную проводимость плазматической мембраны. Установлено, что  $\text{ZnSO}_4$  (30 мкМ) индуцирует открытие ионных каналов тромбоцитов, как за счет непосредственного взаимодействия с каналами (прямая активация), так и в результате цинк-индуцированной внутриклеточной сигнализации (активация посредством вторичных мессенджеров).

Таким образом, обнаружен бифазный эффект цинка в зависимости от концентрации на процессы активации тромбоцитов (активация интегрин  $\alpha\text{IIb}\beta_3$  и формирование прокоагулянтной поверхности). Показано участие ионных каналов в цинк-зависимой активации тромбоцитов. Полученные данные важны для понимания механизмов нарушения и разработки способов коррекции функций тромбоцитов при патологических процессах, ассоциированных с нарушением цинкового гомеостаза.

### Библиографические ссылки

1. Гармаза Ю.М., Слобожанина Е.И. Цинк в живом организм: биологическая роль и механизмы действия / Минск: Беларуская навука. – 2021. – 189 с.



## ЛАЗЕРНАЯ АКТИВАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО КИСЛОРОДА В АЭРИРОВАННЫХ РАСТВОРАХ. ОБСУЖДЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ БИОЛОГИЧЕСКОГО И ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЛАЗЕРОВ

Красновский А.А., Бендикис А.С., Гончаров С.Е., Козлов А.С.

*ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия*

В докладе суммированы многолетние данные группы по лазерной активации растворенного кислорода в аэрированных органических растворителях и воде в естественных условиях. Данные получены путем измерения скоростей химического захвата синглетного кислорода и интенсивности его собственной флуоресценции. При действии лазерного облучения в интервале длин волн 600-1300 нм обнаружено два главных максимума спектра действия активации кислорода при 765 и 1273 нм. Относительная интенсивность этих максимумов зависела от природы растворителей. В неполярных гидрофобных средах полоса 765 нм в 7-8 раз меньше длинноволновой полосы. В воде и спиртах полоса 765 нм – в 1,5-2 раза меньше ИК полосы. Кроме этих главных полос обнаружены существенно более слабые полосы при 690 и 1070 нм. Первая – примерно в 15 раз слабее, чем полоса 765 нм, вторая во всех средах – примерно в 100 раз слабее, чем полоса 1273 нм. Все обнаруженные максимумы примерно соответствуют по длине волны полосам поглощения газообразного кислорода в атмосфере Земли. Однако относительные интенсивности полос отличаются от полос поглощения атмосферного кислорода на порядки величины. При действии красного света 630 нм достоверной генерации синглетного кислорода обнаружить не удалось. Однако она обнаруживалась при действии излучения в зеленой, синей и фиолетовой области, которые, как показано, не связаны с прямым возбуждением кислородных молекул. На основе этих данных измерены спектры поглощения кислорода, растворенного в органических растворителях и воде в нормальных условиях. Обсуждаются значение полученных данных для понимания спектроскопии растворенного кислорода и механизмов биологического и терапевтического действия лазеров. Подробная информация приводится в цитированных ниже публикациях и указанных в них ссылках. Работа частично поддержана грантом РФФИ № 19-04-00331 А и госзаданием ФИЦ Биотехнологии РАН.

### Библиографические ссылки

1. Krasnovsky A.A., Kozlov A.S. Laser photochemistry of oxygen. Application to studies of the absorption spectra of dissolved oxygen molecules // *J. Biomed. Photonics & Engineering*. 2017. Vol. 3, P. 010302: 1-10.
2. Krasnovsky A.A., Kozlov A.S., Benditkis A.S. Comparison of Photodynamic Activities of Molecular Oxygen and Porphyrins // *Macroheterocycles*. 2019. Vol. 12, P. 171-180.
3. Kozlov A.S., Egorova O.N., Medvedkov O.I., Krasnovsky A.A. Activation of oxygen molecules by 1070 nm laser radiation in aerated solvents // *Optics Lett.* 2021. Vol. 46. No. 3/1, P. 556-559
4. Benditkis A.S., Kozlov A.S., Goncharov S.E., Krasnovsky A. A. Detection of the Fraunhofer band B (690 nm) in the absorption spectra of oxygen in aerated solvents. // *J. Opt. Soc. of America, series B*. 2021. Vol. 38, No 11. P. 3410-3415.
5. Krasnovsky A. A., Kozlov A. S., Benditkis A. S. Laser activation of oxygen in aerated solvents. Measurement of the absorption spectra of oxygen dissolved in aerated solvents under natural conditions. // *Russ. Phys. J.* 2022. Vol. 64, No. 11, P. 2035-2045

## ДЕФОРМАЦИЯ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ В МЕСТЕ СЛИЯНИЯ ПОЗВОНОЧНЫХ АРТЕРИЙ В БАЗИЛЯРНУЮ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЯЗКОСТИ КРОВИ И СТРОЕНИЯ ЧЕРЕПА

Мансуров В.А., Трушель Н.А., Гольцев М.В.

*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь*

**Актуальность.** Деформация стенок сосудов является важным показателем при развитии патологий сердечно-сосудистой системы. Эта деформация зависит от модуля упругости сосудистой стенки, вязкости крови и геометрии строения сосудов. Исследование взаимосвязи данных компонентов может играть важную роль в диагностике ряда заболеваний, связанных с сердечно-сосудистой системой.

**Цель.** Установить взаимосвязь между вязкостью крови и абсолютной деформацией стенки сосуда в месте слияния позвоночных артерий в базилярную при различных типах строения черепа, а также влияние на нее различных заболеваний.

**Материалы и методы.** Макроскопически изучены морфометрические показатели на 30 препаратах головного мозга взрослых людей обоего пола с разной формой черепа в месте слияния позвоночных артерий в базилярную. Методом конечно-разностного интегрирования [1] исследовано взаимодействие жидкой и упругой среды для связанных задач: течения вязкой жидкости и деформации упругой среды в месте слияния позвоночных артерий в базилярную артерию. Исследована зависимость максимальной абсолютной деформации стенки сосуда для трех численных 3D моделей. Для расчетов использованы значения вязкости крови, приведенные в научной литературе для различных патологий: при анемии вязкость крови составляет  $2,5 \pm 0,5$  мПа·с; при компенсированной хронической почечной недостаточности вязкость крови составила  $4,12 \pm 0,49$  мПа·с; при сахарном диабете II типа вязкость крови равна  $5,5 \pm 0,5$  мПа·с; при полицетимии вязкость крови составила  $6,5 \pm 1,5$  мПа·с [2].

**Результаты и их обсуждение.** Максимальная абсолютная деформация возникает в области слияния указанных сосудов. Стенка сосуда в этом месте вытягивается в одном направлении и сжимается в другом, так как в случае сложной геометрии эти деформации могут быть несимметричны. Объяснить выпячивание стенки можно суммированием динамического давления  $p_d = \rho v^2 / 2$  ( $\rho$  – плотность жидкости,  $v$  – скорость жидкости в данной точке) при взаимодействии двух потоков. Уменьшение вязкости приводит к увеличению скорости течения при заданном перепаде давления в сосудах и, следовательно, к увеличению динамического давления и местных гидравлических потерь в указанном месте. В результате исследования установлено, что при увеличении вязкости крови абсолютная деформация стенки сосуда уменьшается.

**Выводы.** Установлено, что изменения вязкости крови при патологиях приводят к изменению абсолютной деформации стенки сосуда. В результате исследования установлена нелинейная обратная зависимость между абсолютной деформацией стенки сосуда и вязкостью крови для слияния позвоночных артерий в базилярную для всех типов строения черепа, найдена связь между изменением значения вязкости крови и наличием патологий, получены эмпирические формулы этой зависимости.

### Библиографические ссылки

1. Othman Yakhlef and Cornel Marius Murea. Numerical Simulation of Dynamic Fluid-Structure Interaction with Elastic Structure–Rigid Obstacle Contact // Fluids 2021. Vol.6. №2. P. 51 – 60. - <https://doi.org/10.3390/fluids6020051>

2. Oguz K Baskurt, Ozlem Yalcin, Herbert J Meiselman. Hemorheology and vascular control mechanisms // Clin Hemorheol Microcirc. 2004. Vol. 30. № 3-4. P. 169-78.

## ФАКТОР ТРАНСКРИПЦИИ NRF2 КАК НОВАЯ МИШЕНЬ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ

Мартинюк И.В., Войнаровский В.В., Мартинюк Г.Г.

*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

Формирование лекарственной устойчивости опухолевых клеток является одной из причин недостаточной эффективности современной противоопухолевой терапии. Повышение резистентности клеток к ионизирующей радиации и к действию ряда лекарственных соединений наблюдается при увеличении уровня антиоксидантов в результате редокс-адаптации клеток [1]. В последние годы выяснено, что регуляция экспрессии генов белков антиоксидантной системы клеток млекопитающих осуществляется фактором транскрипции Nrf2 (nuclear E2-related factor 2), активность которого контролируется с участием редокс-зависимого белка Keap1 (Kelch-like ECH-associated protein 1) [2].

В нормальных условиях Keap1 нековалентно связывает Nrf2, что обуславливает направленный транспорт и деградацию белка в протеасоме 26S. Умеренный окислительный стресс и электрофильные агенты нарушают взаимодействие Nrf2-Keap1, в результате Nrf2 активирует транскрипцию сотен генов, участвующих в защите клеток и адаптации к окислительному стрессу. Ключевая роль системы Keap1-Nrf2 в адаптации клеток при стрессовых воздействиях позволяет рассматривать ее в качестве потенциальной мишени для терапии широкого спектра заболеваний [3, 4].

Во многих опухолевых тканях и клеточных линиях опухолей наблюдается конститутивная активация Nrf2, что во многом обуславливает их повышенную резистентность к лучевой и химиотерапии [5]. В настоящее время ингибирование Nrf2 рассматривается как перспективная стратегия лечения рака. Однако ингибиторы Nrf2 неселективны и снижают активность Nrf2 и в нормальных клетках, что приводит к нежелательным эффектам химиотерапии. С другой стороны, при превышении определенного порога активации Nrf2 запускается экспрессия генов, продукты которых способствуют развитию окислительного стресса и последующей гибели клеток [6]. Из-за различий в транскрипционной активности Nrf2 между нормальными и опухолевыми клетками активаторы Nrf2 в определенных концентрациях могут усиливать окислительный стресс и действие противоопухолевых препаратов в опухолевых клетках и проявлять защитные свойства в нормальных клетках [4]. Разработка фармакологических подходов к гиперактивации системы Keap1-Nrf2 в опухолевых клетках является новой стратегией в противоопухолевой терапии.

Работа выполнена при поддержке БРФФИ, договор Б22-045.

### Библиографические ссылки

1. Мартинюк Г.Г., Мартинюк И.В., Черенкевич С.Н. и др. Редокс-биотехнологии как основа для новой стратегии в противоопухолевой терапии // Известия НАН Беларуси. Сер. мед. наук. 2012. №2. С. 85–104.
2. Zenkov N.K., Chechushkov A.V., Kozhin P.M. et al. Mazers of Nrf2 Regulation // Biochemistry (Moscow). 2017. Vol. 82. P. 556–564.
3. Зенков Н.К., Кожин П.М., Чечушков А.В. и др. Окислительный стресс при старении // Успехи геронтологии. 2020. Т. 33, № 1. С. 10–22.
4. Martinovich G.G., Martinovich I.V., Vcherashniaya A.V. et al. Chemosensitization of Tumor Cells by Phenolic Antioxidants: The Role of the Nrf2 Transcription Factor // Biophysics. 2020. Vol. 65. P. 920–930.
5. Taguchi K., Yamamoto M. The Keap1–Nrf2 system in cancer // Front. Oncol. 2017. V.7. P.85.
6. Zucker S.N., Fink E.E., Bagati A. et al. Nrf2 amplifies oxidative stress via induction of Klf9 // Mol. Cell. 2014. Vol. 53. P. 916–928.

## ВЛИЯНИЕ УВЧ-ПОЛЯ НА ФАНТОМЫ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ

Марченко Р.Е., Калинин Д.Д., Терехов И.И., Йоник Е.А.

*ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава, Москва, Россия*

УВЧ-терапия (ультравысокочастотная терапия) – физиотерапевтический метод лечения, при котором используют электромагнитные поля ультравысокой частоты (30-50 МГц). Лечебным фактором УВЧ-воздействий является электрическое поле. Поля УВЧ используются для нагревания тканей организма [1]. Они оказывают противовоспалительное действие, стимулируют регенерацию поврежденных тканей и устраняют боль. С учётом того, что проведение экспериментов на биологических объектах затруднено, целесообразным является их проведение на фантомах, то есть объектах, имитирующих свойства биологических объектов [2].

В данном эксперименте источником ультравысоких частот является генератор УВЧ-30М (ООО «Фикс», Луганск). Исследовались два различных по качеству изготовления и форме пластизоля. Изменение их температуры контролировалось термометрами с ценой деления 0,1 °С. Перед проведением эксперимента была измерена первоначальная температура изучаемых объектов. Далее мы расположили первый объект между пластинами аппарата УВЧ. Сначала измерение температуры проводилось каждую минуту, затем раз в две минуты. Спустя 76 мин от начала опыт был завершён. Потом повторно всё было проведено со вторым пластизолом.

По результатам охлаждения фантомов рассчитали коэффициент температуропроводности, который для пластизолов 1 и 2 составил 0,1942 и 0,0158 мм<sup>2</sup>/с соответственно.

Сравнивая полученные нами значения коэффициентов температуропроводности для пластизоля 1 и пластизоля 2 со значениями коэффициентов для биологических объектов, наибольшее сходство получилось у пластизоля 1 с мышечной тканью (0,131 мм<sup>2</sup>/с). Таким образом, можно сделать вывод, что пластизол по своим термометрическим характеристикам сходен с мышечной тканью и возможно может быть использован в качестве фантома биологических объектов.

### Библиографические ссылки

1. Аносов А. А. и др. Совместное использование пассивной акустической и инфракрасной термометрии для контроля УВЧ-нагрева //Акустический журнал. – 2020. – Т. 66. – №. 6. – С. 690-696.
2. Быков А. В. и др. Изготовление тканеимитирующих фантомов и капилляров и их исследование методом оптической когерентной томографии //Научно-технический вестник информационных технологий, механики и оптики. – 2013. – №. 2 (84). – С. 98-103.

## АНТИАГРЕГАНТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ХЛОРАМИНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АНАЛОГОВ АДЕНОЗИНА

Мурина М.А.<sup>1</sup>, Рощупкин Д.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины, Москва, Россия

<sup>2</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет  
им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

В борьбе с артериальными тромбозами, начальным процессом которых выступает активация тромбоцитов, по эффективности лидируют лекарственные соединения ковалентного типа действия [1]. Настоящая работа направлена на создание на основе хлораминовых аналогов аденозина нового необратимого (ковалентного) антиагреганта (ингибитора функций тромбоцитов). Для выяснения эффективности антитромбоцитного действия хлораминовых соединений, относящихся к производным аденозина, проведено исследование изменения функций тромбоцитов с использованием нескольких клеточных систем. Данные, полученные в опытах с суспензией изолированных клеток, богатой тромбоцитами плазмой и цельной кровью, однозначно показывают, что новые хлораминовые соединения являются эффективными ингибиторами тромбоцитов. Они угнетают агрегационную активность тромбоцитов при стимуляции наиболее важными агонистами – аденозиндифосфатом и тромбином, подавляют секрецию плотных гранул, тормозят агрегацию уже активированных клеток. Таким образом, хлорамины аденозиновых соединений можно отнести к категории антиагрегантов двойного действия: они не только предотвращают агрегацию тромбоцитов, но и вызывают распад сформировавшихся агрегатов. Аденозиновые хлорамины также вызывают трансформацию формы клеток (по типу дискоид-сфероид), обнаруживаемую по изменению характера светорассеяния суспензией не активированных клеток. Осуществлен анализ ингибирования хлораминами агрегации тромбоцитов, вызываемой активацией агонистом АДФ пуринового рецептора P2Y<sub>12</sub>, с использованием графиков Лайнуивера-Берка. В присутствии исследуемых хлораминов не наблюдалось снижения количества активных рецепторов, но при этом значительно возростала кажущаяся константа Михаэлиса. Установлено, что хлораминовые аналоги аденозина характеризуются повышенной реакционной способностью по отношению к сульфгидрильной группе [2]. Можно полагать, что антиагрегантное действие исследуемых хлораминов сопряжено с модификацией рецептора АДФ, которая влечет за собой его конформационные изменения и уменьшение активности.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-04-00532.

### Библиографические ссылки

1. Siller-Matula J.M., Krumphuber J., Jilma B. Pharmacokinetic, pharmacodynamic and clinical profile of novel antiplatelet drugs targeting vascular diseases //British J.Pharmacol. 2010. Vol. 159. P. 502-517.
2. Murina M.A., Roshchupkin D.I., Sergienko V.I. The Antiplatelet Effect and Chemical Activity of N6-Chloroadenosine Phosphate. //Biophysics. 2021. Vol. 66. P.535–540.

## МОДИФИЦИРОВАННЫЙ МЕТИЛГЛИОКСАЛЕМ АЛЬБУМИНА СЫВОРОТКИ ЧЕЛОВЕКА, СВЯЗЫВАЯСЬ С МИЕЛОПЕРОКСИДАЗОЙ ЛЕЙКОЦИТОВ, ИНГИБИРУЕТ ЕЕ ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ

Панасенко О.М.<sup>1</sup>, Иванов В.А.<sup>1</sup>, Михальчик Е.В.<sup>1</sup>, Горудко И.В.<sup>2</sup>, Григорьева Д.В.<sup>2</sup>, Басырева Л.Ю.<sup>1</sup>, Шмелева Е.В.<sup>1</sup>, Гусев С.А.<sup>1</sup>, Костевич В.А.<sup>1,3</sup>, Горбунов Н.П.<sup>1,3</sup>, Соколов А.В.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Москва, Россия

<sup>2</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

<sup>3</sup>ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Гипергликемия при сахарном диабете приводит к неферментативному гликированию белков под действием глюкозы и основных продуктов ее превращения – глиоксаля и метилглиоксаля (МГ). Гликированные белки способны снижать активность таких бактерицидных агентов, как лизоцим и лактоферрин, способствуя развитию инфекционных осложнений. Основной компонент неспецифического клеточного иммунитета – нейтрофилы реализуют свой бактерицидный потенциал преимущественно через образование активных форм кислорода (АФК) и галогенов (АФГ). Ключевую роль играют продукты реакций, катализируемых миелопероксидазой (МПО), содержащейся в азурофильных гранулах нейтрофилов. В работе исследовано влияние сывороточного альбумина человека (ЧСА), модифицированного метилглиоксалем (ЧСА-МГ), на МПО.

Пероксидазную активность МПО регистрировали по окислению 2,2'-диазинобис(3-этилбензотриазолин-6-сульфоната) натрия, хлорирующую – с использованием целестинового синего В. Связывание МПО с ЧСА-МГ исследовали методом электрофореза, а также с использованием моноклональных антител против МПО. Продукцию нейтрофилами АФК и АФГ регистрировали методом хемилюминесценции в присутствии люцигенина и люминола соответственно. Дегрануляцию нейтрофилов исследовали методом проточной цитофлуориметрии, регистрируя экспрессию на поверхности клеток маркеров азурофильных (CD63) и специфических/желатиназных гранул (CD11b) с использованием флуоресцентно меченых антител. Нетоз оценивали по образованию нейтрофильных внеклеточных ловушек в мазках крови, окрашенных по Романовскому.

Показано, что ЧСА-МГ связывается с МПО, образуя прочный комплекс ( $K_d = 1,1$  нМ), что подтверждает конкуренция ЧСА-МГ с 5-ю видами моноклональных антител против МПО. ЧСА-МГ ингибировал пероксидазную и хлорирующую активности МПО по неконкурентному механизму. Поскольку основным источником МПО являются нейтрофилы, исследовали влияние ЧСА-МГ на высвобождение МПО из их гранул. Установлено, что ЧСА-МГ стимулировал дегрануляцию специфических/желатиназных гранул, но не вызывал экзоцитоз содержимого азурофильных гранул, в том числе – МПО. Кроме того, ЧСА-МГ увеличивал хемилюминесценцию нейтрофилов в присутствии люцигенина, но не люминола, свидетельствуя об активации НАДФН-опосредованной продукции нейтрофилами АФК, но не АФГ, образующихся при участии МПО. ЧСА-МГ не влиял на нетоз, активированный форбол-12-миристан-13-ацетатом.

Таким образом, ЧСА, модифицированный в условиях моделирования гипергликемии, стимулирует активацию НАДФН-оксидазы, но не вызывает секрецию МПО из нейтрофилов. Связываясь с МПО, ЧСА-МГ ингибирует активность этого фермента, что, с одной стороны, будет сопровождаться снижением бактерицидной активности МПО и нейтрофилов в целом, с другой – должно препятствовать чрезмерному накоплению АФГ и повреждению ими собственных биологически важных молекул организма. Работа поддержана грантом РФФИ № 20-15-00390.

## СОЧЕТАННОЕ ДЕЙСТВИЕ УФ-ИЗЛУЧЕНИЯ И ЦИСТЕИНОВЫХ ПРОТЕАЗ НА БАКТЕРИИ В СОСТАВЕ БИОПЛЕНОК

Панкова С.М.<sup>1,2</sup>, Холявка М.Г.<sup>1,3</sup>, Байдамшина Д.Р.<sup>4</sup>, Каюмов А.Р.<sup>4</sup>, Артюхов В.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

<sup>2</sup>Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия

<sup>3</sup>Севастопольский государственный университет, Севастополь, Россия

<sup>4</sup>Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

Известно, что применение ферментных препаратов для лечения заболеваний, течение которых сопровождается развитием биопленки, приводит к снижению её массы или полной деградации, например, согласно результатам исследований, проведенных в условиях *in vitro* на модели биопленки бактерий *Staphylococcus aureus*, бромелин и папаин уменьшают биомассу пленки [1]. Бактерицидное действие УФ-лучей основано на фотохимических реакциях, в результате которых происходят необратимые повреждения ДНК [2].

В связи с этим целью работы явилось изучение сочетанного действия протеолитических ферментов (папаина, бромелина, фицина) и УФ-излучения на биопленки *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*.

Для определения эффективности разрушения биопленок клетки выращивали в 24-луночных планшетах при 37 °С на среде ВМ для образования прочной биопленки [3]. После 48 ч культивирования удаляли культуральную жидкость и облучали УФ-светом в дозах 327, 755, 1510, 3020, 4530 и 6040 Дж/м<sup>2</sup>. Далее вносили свежую среду с ферментами в концентрации 10 мг/мл, после продолжали инкубирование в течение 24 ч. Затем удаляли культуральную жидкость из лунок, однократно промывали раствором 1хPBS и оценивали жизнеспособность клеток в культуральной жидкости и в составе биопленок методом МТТ-теста.

По результатам исследований протеазы можно расположить в следующий ряд по степени угнетения жизнеспособности клеток в составе биопленок *S.aureus* и *P.aeruginosa* при сочетанном действии с УФ-излучением в дозах 3020-6040 Дж/м<sup>2</sup>: папаин → бромелин → фицин. Представленные в работе данные могут быть использованы в медицине и фармацевтической промышленности, например, в процессах стерилизации имплантируемых устройств.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания ВУЗам в сфере научной деятельности на 2020-2022 годы, проект № FZGU-2020-0044.

### Библиографические ссылки

1. Watters C.M, Burton T. et. al. Enzymatic degradation of *in vitro* *Staphylococcus aureus* biofilms supplemented with human plasma // *Infect Drug Resist.* 2016. Vol. 9. P.71-78.
2. Роцупкин Д.И., Артюхов В.Г. Основы фотобиофизики. Воронеж: ВГУ, 1997. – 116 с.
3. Sharafutdinov I., Pavlova A., et. al. The antimicrobial effect of the 5-((-)-bornyloxy)-2(5h)-furanone derivative on grampositive bacteria // *FEBS J.* 2017. Vol. 284. P.143.

# СПЕКТРОМЕТРИЯ ВОЛОС: ПРОБЛЕМЫ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ОЦЕНКИ МЕТАЛЛО-ЛИГАНДНОГО ГОМЕОСТАЗА (МЛГ)

Петухов В.И.<sup>1</sup>, Дмитриев Е.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Балтийская международная академия, Рига, Латвия

<sup>2</sup>Институт вычислительной математики РАН, Москва, Россия

Многолетние исследования МЛГ эпидермиса по результатам масс-спектрометрии волос на содержание металлов: Na, K, Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Li, Pb, V и Zn (измерения проводились в Центре биотической медицины, г. Москва, а их результаты были любезно предоставлены авторам настоящей работы) позволяют сделать следующие выводы.

Несмотря на многочисленные попытки (как в клинике, так и в эксперименте), не удалось подтвердить правоту стойкого и широко распространенного в современной элементологии убеждения, что по уровню в волосах того или иного металла можно судить о его содержании во всём организме. Такая экстраполяция не только не оправданна, но и потенциально опасна, т.к. способна стать источником диагностических и «лечебно-коррекционных» ошибок.

Нами были получены свидетельства принадлежности МЛГ в деривате эпидермиса к феноменам самоорганизованной критичности (СК). Наиболее показательными среди них могут быть следующие: а) распределение данных спектрометрии упомянутых металлов, которое не подчиняется «нормальному закону» и носит фрактальный характер; б) достоверная линейная связь (Pearson) между концентрационными значениями натрия (Na) и калия (K), свидетельствующая о синхронной работе мембранных  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФаз [1]; в) сопряжённый (кластерный) характер количественных сдвигов в МЛГ на фоне окислительного/нитрозативного стресса [2]; д) наличие степенной связи (подтверждаемой графически в двойном логарифмическом масштабе) между содержанием металлов в эпидермисе (волосы) и числом индивидов в определенных интервалах численных значений у таких металлов, как Na, K, Ca, Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Li, Pb, V и Zn [3-5].

Кроме того, величина измеряемых показателей МЛГ тесно связана с полом и возрастом испытуемых. У некоторых металлов (например, Ca, Mg, V и др.) при спектрометрии волос были выявлены достоверные половые различия нормальных значений («женская норма» для Ca может превосходить «мужскую» более чем в два раза). Имеются возрастные различия в содержании Na и K в волосах. Подобную связь с возрастом (предварительные данные) обнаруживают и другие металлы (Ca, Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Li, Pb, V, Zn).

Изменения в гомеостазе металлов при спектрометрии волос следует относить (во избежание неоправданных обобщений) только к данному субстрату (волосы).

## Библиографические ссылки

1. Petukhov V.I., Dmitriev E.V., Baumann L.Kh., et al. Homeostasis of sodium (Na) and potassium (K) in epidermis as a self-organized criticality phenomenon // *Proteomics & Bioinformatics*. 2019. Vol. 2(1). P. 62-67.
2. Petukhov V.I., Dmitriev E.V., Kalvinsh I., et al. Metal-ligand homeostasis in epidermic cells of Chernobyl accident liquidators // *Vitamins & Trace Elements*. 2011. Vol. 1(2). P. 1-8.
3. Petukhov V.I., Dmitriev E.V., Baumann L.Kh., et al. Electrogenic metals in epidermis: relationship with cell bioenergetics // *Insights in Biomed*. 2016. Vol. 1(2). P. 9-14.
4. Petukhov V.I., Dmitriev E.V., Baumann L.Kh., et al. Some aspects of regulatory criteria for metal-ligand homeostasis in epidermal cells // *Journal of Antioxidant Activity*. 2018. Vol. 1(3). P. 22-32.
5. Petukhov V.I., Dmitriev E.V., Baumann L.Kh., et al. Homeostasis of metals in epidermis: age shifts and possible connection with critical (synchronous) work of membrane ATPases // *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*. 2020. Vol. 28(3): 21697-21705.



## ОЦЕНКА МОЛЕКУЛЯРНО-СТРУКТУРНОЙ ГОМОЛОГИИ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ПРИ ОТБОРЕ МОДЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ ДЛЯ БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Пинчук П.Ю., Чиркин А.А.

*Витебский государственный университет им. П.М. Машиерова, Витебск, Беларусь*

Модельные организмы используются для изучения различных патологий при доклинических испытаниях, а также в качестве источников биологического материала для заместительной терапии. Целью данного исследования явился сравнительный анализ степени гомологии лизосомальных ферментов класса 3 у человека (*Homo sapiens*), свиньи (*Sus scrofa domestica*), мыши (*Mus musculus*) и легочного пресноводного моллюска (*Biomphalaria glabrata*) с полностью аннотированным геномом, ближайшим родственником которого является широко распространенный в Республике Беларусь моллюск (*Planorbarius corneus*). Поиск и отбор нуклеотидных последовательностей, кодирующих белки человека, осуществлялся на сервере <https://www.rndsystems.com>; поиск гомологичных последовательностей для моллюсков осуществлялся на сервере <https://www.ncbi.nlm.nih.gov> при помощи ресурса BLAST; описание белков для человека было взято с ресурса <https://www.uniprot.org>; парное выравнивание и сравнение последовательностей человека, свиньи, мыши и моллюска выполнено при помощи ресурса [https://www.ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss\\_needle/](https://www.ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss_needle/). В работе использован следующий алгоритм: поиск нуклеотидной последовательности → построение аминокислотных последовательностей сравниваемых белков → их парное выравнивание и оценка степени гомологии первичных структур [1]. Исследование мотивов и строения активных центров ферментов не входило в задачи данной работы. Биоинформатическому анализу подвергнуты 38 ферментов класса «Гидролазы», в том числе 10 ферментов подкласса «Эстеразы» (КФ 3.1.), 16 ферментов подкласса «Гликозидазы» (КФ 3.2.) и 12 ферментов подкласса «Пептидазы» (КФ 3.4.).

Предварительно была исследована молекулярно-структурная гомология ферментов человека, свиньи и мыши. Ферменты этих млекопитающих хорошо изучены, о чем свидетельствует высокий процент покрытия как по нуклеотидным последовательностям (92-100%), так и по аминокислотным (96-100%). Гомология изученных ферментов по нуклеотидным последовательностям у человека и свиньи ожидаемо оказалась в пределах 93,3-85,1%, а по аминокислотным последовательностям – в пределах 93,3-87,8%. Гомология изученных ферментов человека и мыши по нуклеотидным последовательностям оказалась в пределах 82,7-93,3%, а по аминокислотным последовательностям – в пределах 85,6-94,7%. Полученные данные доказывают, что свинья и мышь являются адекватными модельными организмами для человека, однако по этическим соображениям и стоимости широкое использование высших млекопитающих во всем мире постепенно сокращается. Сравнительный анализ ферментов класса «Гидролазы» между человеком и моллюском *Biomphalaria glabrata* недостаточен, поскольку процент покрытия по нуклеотидным последовательностям находился в пределах 51-99%, а по аминокислотным последовательностям – в пределах 33-98%. В результате гомология изученных ферментов составила по нуклеотидным последовательностям 29-68% и по аминокислотным последовательностям 30-68%. Это средний уровень гомологии, который требует дальнейших исследований, но не исключает использования легочных пресноводных моллюсков в качестве модельных организмов для биомедицинских исследований.

### Библиографические ссылки

1. Чиркин А.А., Балаева-Гихомирова О.М. Молекулярно-структурная гомология протеолитических ферментов. Чебоксары: Издательский дом «Среда», 2022. – 124 с.

## КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ХЛОРАМИНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АДЕНИНА С ТИОЛАМИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ СРЕДЫ

Рощупкин Д.И.<sup>1</sup>, Мурина М.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия*

<sup>2</sup> *ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства», Москва, Россия*

Проведено компьютерное молекулярное моделирование взаимодействия между хлораминовыми аналогами аденина и белковыми сульфгидрильными группами. Установлено [1], скорость этого взаимодействия зависит от степени кислотной диссоциации сульфгидрильной группы, а эта степень определяется химическим строением тиола. Проведен квантовомеханический расчет характеристик бимолекулярной системы (хлораминовое соединение N6-хлораденин и тиол) в состоянии минимума энергии и переходном состоянии. Использовали комплекс программ ChemBio 3D Ultra 11.0, предназначенный для многостороннего молекулярного моделирования.

Как известно, реакцию активностью химических соединений оценивают по величине константы скорости реакции ( $k$ ). При моделировании переходного состояния эту константу можно рассчитать по уравнению теории активного комплекса. После подстановки некоторых физических констант оно при стандартном состоянии системы имеет вид:  $k = 5,84 \cdot 10^{12} \cdot \exp(-\Delta H^*/298,15 \cdot R)$  [1/с]. В этом уравнении трансмиссионный коэффициент принят равным 1;  $R$  – универсальная газовая постоянная;  $\Delta H^*$  – разность между свободной энергией Гиббса в переходном состоянии и энергией в состоянии минимума системы реагентов.

Константа скорости реакции аденинового хлорамина с тиолятной группой цистеина, полученная по уравнению активированного комплекса, близка к  $10^{11}$  (1/с). Это расчетное значение константы высокое и в этом отношении соответствует экспериментальной константе реакции N6-хлораденозинфосфата с тиолятной формой цистеина; ее численное значение составляет примерно  $10^7$  [1]. В другой модели расчеты взаимодействия N6-хлораденин-меркаптоэтанол в тиольной форме проведены несколько раз при отличающемся относительном расположении активных химических групп. Эти данные показали, что, по существу, в этой системе нет образования активированного комплекса: разность свободных энергий Гиббса незначительна.

Таким образом, полученные результаты показывают, что квантовомеханический расчет переходного состояния системы – молекула хлорамина аденина и молекула тиольного соединения – позволяет оценивать реакцию активностью исследуемых хлораминовых производных соединений и проводить их отбор для дальнейшего экспериментального исследования. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-04-00532.

### Библиографические ссылки

1. Murina M.A., Roshchupkin D.I., Sergienko V.I. The Antiplatelet Effect and Chemical Activity of N6-Chloroadenosine Phosphate. //Biophysics. 2021. Vol. 66. P.535–540.

## РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ОРГАНИЗМА КРЫСЫ ПРИ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

Садардинов Д.Н.

ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, Челябинск, Россия

**Введение.** Активная и индуцированная резистентность организма предпосылает компенсаторно-приспособительные звенья по неспецифической протекции клеточных элементов и субклеточных структур оного [1].

Раскрытие механики реагирования на предъявление пониженного барометрического давления, развитием типовой патологии: гипоксии, явственно актуализирует знание по применению барической оксигенации в медицине.

**Цель исследования.** Проанализировать информацию относительно резистентности крыс к гипоксии. Изучить влияние, вызванной экзогенно острой гипоксической гипоксии на крыс линии Вистар.

**Материалы и методы.** Объектами исследования служили 10 крыс линии Вистар. Крыс помещали под колокол воздушного насоса, механически снижая барометрическое давление. Длительность проведения опыта составляла 20 мин.

**Результаты.** Основу патогенеза гипобарической гипоксической гипоксии составляет гипоксемия артериальной крови, возникшая следствием сниженного парциального давления кислорода воздуха [1]. Сочетанное воздействие на крыс низкого атмосферного давления со стрессором (звон колокольчика) обуславливает клинические проявления: бледность (лапок, кончика носа и ушей), общую слабость (адинамию), тахикардию и тахипноэ. Последующие (вторичные и третичные) предъявления пониженного барометрического давления, ранее задействованных крыс, при перекрестном контроле с интактными особями, выявляет выраженное снижение вышеуказанных клинических признаков гипоксии.

**Выводы.** Во-первых, согласимся, что характер и степень адаптационно-компенсаторных возможностей выражается степенью натренированности жизнеобеспечивающих систем [2].

Во-вторых, разреженность атмосферы служит активацией генерализованных резистивных механизмов (как срочных, так и долгосрочных) на уровне всех клеточных единиц по нормализации уровня констант показателей кислородообеспечения организма (сатурации, кислородной емкости, парциального давления, объемного содержания кислорода и рН крови).

В-третьих, методика барической оксигенотерапии принципиально нацелена против типовой патологии: гипобарической гипоксической гипоксии, что постулирует применение последней глобально отечественным здравоохранением в виду основного места гипоксии в рамках общей и частной патологии.

### Библиографические ссылки

1. Руководство для практических занятий по общей патофизиологии для студентов педиатрического факультета: учебное пособие / М.В. Осиков, Л.В. Воргова, Е.В. Ильиных; под ред. М.В. Осикова. - Челябинск : Издательство Южно-Уральского государственного медицинского университета, 2018. - 84 с.

2. Курс лекций по патофизиологии: учебное пособие для студентов медицинских вузов: в 4-х ч. / Ю.Ю. Бяловский [и др.]; под ред. Ю.Ю. Бяловского, В.В. Давыдова – Рязань, 2018. – Ч. 1. – 261 с.

## ВЛИЯНИЕ ЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

Садовничук М.Д.<sup>1</sup>, Скоробогатова А.С.<sup>1</sup>, Венская Е.И.<sup>1</sup>, Абашкин В.М.<sup>1</sup>,  
Аляхнович Н.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь  
<sup>2</sup>Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,  
Витебск, Беларусь

Широкое распространение наноматериалов на основе оксида титана ( $\text{TiO}_2$ ) и их использование в бытовой и медицинской сферах [1] определило необходимость оценки эффектов его воздействия на клетки и ткани организма человека.

Цель данной работы – исследовать воздействия частиц  $\text{TiO}_2$  разного размера на активность ферментов антиоксидантной (АО) защиты в эритроцитах человека.

Определение размера используемых в работе частиц  $\text{TiO}_2$  в водном растворе проводили с помощью прибора Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Великобритания). Обнаружено, что нано-, микрочастицы и частицы пищевого  $\text{TiO}_2$  отличаются как по размеру, так и по заряду. Размер наночастиц  $\text{TiO}_2$  превышает указанный производителем ( $<25$  нм, Sigma) и составляет  $271,8 \pm 94,5$  нм. Анализ дзета-потенциала показал, что эти частицы электрически нейтральны, что позволяет предположить формирование их агрегатов в экспериментальных условиях. Размер микрочастиц составил  $298,2 \pm 21,2$  нм, а их дзета-потенциал –  $-22,7 \pm 1,2$  мВ. Частицы пищевого  $\text{TiO}_2$  в водном растворе по размеру были самыми крупными ( $375,5 \pm 32,2$  нм), а их дзета-потенциал составил  $-5,5 \pm 0,9$  мВ.

Эритроциты отделяли от плазмы путем центрифугирования крови при  $2000 \text{ g}$ , 5 мин в PBS-буфере pH 7,4. Затем 2-% гематокрит нагружали разными частицами  $\text{TiO}_2$  в конечной концентрации  $0,01$  мг/мл и инкубировали 3 ч при  $37^\circ\text{C}$  и постоянном перемешивании. Анализ элементного состава выполнен методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой на приборе ICPE-9000 (Shimadzu, Япония). Оценку активности каталазы и глутатионпероксидазы проводили по стандартным методикам [2, 3]. Статистический анализ проводился с помощью теста Уилкоксона ( $n = 7, p < 0,05$ ).

После 3-х часовой инкубации с исследуемыми частицами не наблюдалось достоверного изменения содержания титана в клетках. Максимальные значения содержания титана в эритроцитах составили 1,57; 2,36 и 0,49 мкг/л после нагрузки наночастицами, микрочастицами и частицами пищевого  $\text{TiO}_2$ , соответственно, что было сопоставимо со средним содержанием титана в контрольном образце ( $1,01$  мкг/л).

Исследование активности ферментов АО защиты позволило обнаружить, что после 3-х часовой нагрузки клеток частицами  $\text{TiO}_2$  вне зависимости от их размера наблюдается снижение активности каталазы и глутатионпероксидазы в среднем на 20%.

Таким образом, нами было установлено, что 3-х часовая нагрузка эритроцитов человека различными видами частиц  $\text{TiO}_2$  (нано-, микрочастицы и частицы пищевого  $\text{TiO}_2$ ) вызывает снижение активности ферментов АО защиты без накопления их в клетках.

### Библиографические ссылки

1. Аляхнович, Н.С. Красители в лекарствах и пищевых продуктах – потенциальные иммуномодуляторы / Н.С. Аляхнович, Д.К. Новиков // Медицинская Иммунология. - 2019. – №2. – Том 21. – С. 312-322.
2. Королук М.А., Иванова Л.Н., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
3. Моин, В.И. Простой и чувствительный метод определения глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. Дело, 1986. – № 12 – С. 724–727.

## УЧАСТИЕ НЕЙТРОФИЛОВ В ВОСПАЛЕНИИ ПРИ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Семенкова Г.Н.<sup>1</sup>, Адзерихо И.Э.<sup>2</sup>, Шулганова А.В.<sup>1</sup>, Амаэбери Н.В.<sup>1</sup>, Новицкий И.А.<sup>1</sup>,  
Серебро А.М.<sup>2</sup>, Мотолько С.С.<sup>2</sup>, Тихинская Д.В.<sup>1</sup>, Владимирская Т.Э.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Беларусь

Легочная гипертензия (ЛГ) – редкое заболевание с неблагоприятным прогнозом. ЛГ связана с дисфункцией или повреждением эндотелия, что приводит к ремоделированию сосудов, повышению сосудистого сопротивления и артериального давления в легочной артерии. Важным фактором, способствующим развитию этой патологии, является воспаление. Ранее, при изучении патогенеза легочной артериальной гипертензии у крыс в экспериментальной модели *in vivo*, мы показали, что формирование воспаления в динамике этого заболевания сопряжено с праймингом нейтрофилов [1, 2]. Это проявляется в модификации систем генерации активных форм кислорода и хлора (АФКХ), увеличении концентрации несвязанных ионов кальция в цитозоле на начальных стадиях патологии и усилении секреторной дегрануляции, что сопровождается повышением уровня миелопероксидазы (МПО) во внеклеточной среде. Это приводит к гиперпродукции сильного окислителя – хлорноватистой кислоты, которая является индуктором оксидативного стресса. Роль нейтрофилов в развитии ЛГ у пациентов в настоящее время не установлена. Цель работы: проанализировать особенности функционирования нейтрофилов периферической крови у пациентов с ЛГ.

Обследовано 18 пациентов, находящихся на лечении в отделении кардиологии Минской областной больницы, и 12 здоровых людей. Нейтрофилы выделяли из гепаринизированной крови в градиенте плотности гистопак-1077 по стандартной методике. Генерацию нейтрофилами АФКХ исследовали методом люминол-зависимой хемилюминесценции. Секреторную дегрануляцию оценивали спектрофотометрическим методом по скорости лизиса клеточных стенок бактерий *Micrococcus lysodeikticus* после добавления клеточного супернатанта. Peroксидазную активность МПО в плазме крови определяли по скорости окисления 3,3',5,5'-тетраметилбензидина пероксидом водорода на спектрофлуориметре SM 2203 «Солар».

Установлено, что у пациентов с ЛГ изменяется способность стимулированных к фагоцитозу нейтрофилов генерировать АФКХ. Выход активных метаболитов зависит от степени тяжести патологии. У пациентов с высокой степенью тяжести ЛГ генерация АФКХ значительно усилена по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует о повышенной функциональной активности нейтрофилов. Выявлено, что секреция лизоцима из клеток, а также пероксидазная активность МПО в плазме крови пациентов значительно выше, чем у здоровых людей.

Таким образом, у пациентов с ЛГ нейтрофилы преактивированы уже в циркулирующей крови. Увеличение секреторной дегрануляции клеток и пероксидазной активности МПО в плазме пациентов позволяет заключить, что этот фермент является важным биомаркером воспаления при ЛГ. С другой стороны, МПО можно рассматривать в качестве одной из терапевтических мишеней при лечении пациентов с этой патологией.

### Библиографические ссылки

1. Padrez Y., Golubewa L., Kulahava T. et. al. Quantitative and qualitative analysis of pulmonary arterial hypertension fibrosis using wide field second harmonic generation microscopy // Sci. Rep. 2022. Vol. 12 (1). 7330.
2. Adzerikho, I., Yatsevich, O., Vladimirskaia, T. et. al. The inflammation influence on pathological remodeling of pulmonary arteries in monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats // Eur. Heart J. 2021. Vol. 42, P. 1962.

## ОЦЕНКА ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЧЕЛОВЕКА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ШУМА И ПРИ НАЛИЧИИ ОПРЕДЕЛЕННЫХ ПАТТЕРНОВ ЭЭГ

Сидоренко А.В., Солодуха Н.А.

*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

Развитие информационных технологий приводит к появлению электромагнитного шума в среде, окружающей человека, что особенно проявляется при работе с оборудованием различного назначения. Целью предлагаемой работы является анализ изменения эмоционального состояния оператора под воздействием генератора электромагнитного шума. Для сравнения предложен анализ вариаций эмоционального состояния человека при наличии определенных паттернов электроэнцефалограмм (ЭЭГ). Анализировались электроэнцефалограммы, полученные согласно международной системе «10-20», в следующих отведениях: Fp1, Fp2, F3, F4, C3, C4, P3, P4, O1, O2, F7, F8, T3, T4, T5, T6. В качестве фона использовались электроэнцефалограммы здорового человека.

**Воздействие электромагнитного шума.** В эксперименте у оператора под действием генератора шума наблюдались изменения паттерна ЭЭГ, что привело к вариациям параметра фрактальной размерности электроэнцефалограмм: возрастание фрактальной размерности в 10 отведениях (Fp1, Fp2, F3, C3, P3, O1, F7, T3, T4, T5) из 16 анализируемых; в остальных отведениях наблюдалось его падение. Т.е. отведений, где фрактальная размерность возрастает, гораздо больше, чем тех, где она уменьшается. Возрастание фрактальной размерности достигло 8,2% от фона, что может говорить о том, что человеку весело, т.к. при веселье, как отмечается в работе [1], наблюдается наибольшее возрастание фрактальной размерности (3,8% от нейтрального состояния) по сравнению со страхом (1,2% от нейтрального состояния) и отвращением (3,2% от нейтрального состояния). Значение параметра эмоциональной валентности электроэнцефалограмм при воздействии электромагнитного шумового излучения увеличилось относительно фона, что свидетельствует о положительной испытываемой эмоции и подтверждает вышеуказанные выводы.

**Исследование изменений фрактальной размерности при различных паттернах ЭЭГ.** В эксперименте исследовались состояния человека, характеризующиеся следующими паттернами ЭЭГ: паттерн 1 – лёгкие диффузные изменения ЭЭГ в виде дезорганизации коркового ритма; паттерн 2 – умеренно выраженные диффузные изменения в виде дезорганизации коркового ритма на сниженном амплитудном уровне; паттерн 3 – умеренно выраженные диффузные изменения в виде десинхронизации. Если сравнить изменения фрактальной размерности ЭЭГ при указанных паттернах и при просмотре веселого и страшного видео [1], то можно сказать, что человек, вероятно, испытывает чувство страха, т.к. при данных паттернах ЭЭГ число отведений, в которых фрактальная размерность электроэнцефалограммы падает, невелико: при паттерне 1 – четыре отведения (F3, C3, C4, T4); при паттерне 2 – четыре отведения (F3, P4, O2, F8); при паттерне 3 – одно отведение (Fp1). В электроэнцефалограммах остальных отведений отмечается возрастание фрактальной размерности. Т.е. в электроэнцефалограммах большинства отведений наблюдался рост фрактальной размерности, причем это возрастание составило не более 1,1% от фона, что говорит о том, что человек испытывает страх, а не какую-либо другую эмоцию, ведь именно при страхе возрастание фрактальной размерности невелико и составляет не более 1,2% от фона [1]. При паттернах ЭЭГ 1, 2 и 3 также следует отметить снижение параметра эмоциональной валентности, что может говорить о негативной испытываемой эмоции и эти результаты подтверждают вышеуказанные заключения о том, что человек с паттернами ЭЭГ 1, 2 и 3 испытывает страх.

### Библиографические ссылки

1. E. Ruiz Padial and A.J. Ibáñez-Molina // Biol Psychol. 2018. Vol. 137. P. 42-48.

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИНИЦИИ ФЕРРОПТОТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ КОМПЛЕКСОВ ЦИТОХРОМА С С ФОСФАТИДНОЙ КИСЛОТОЙ

Сучков М.Ю., Степанов Г.О., Осипов А.Н.

*Российский национальный исследовательский медицинский университет  
им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия*

Биофизические механизмы апоптоза, которые характеризуются увеличением пероксидазной активности цитохрома *c* после его взаимодействия с митохондриальными фосфолипидами сегодня достаточно хорошо изучены. Сегодня внимание ученых во всем мире привлечено к исследованию молекулярных и клеточных механизмов ферроптоза связанных с действием свободного железа. Так очень затруднительным является вопрос об источнике свободного железа, который является катализатором перекисного окисления биологических мембран, которое происходит при ферроптозе [2].

Целью данной работы было исследование способности цитохрома *c* терять ион железа при возрастающих концентрациях пероксида водорода, а также изменения его пероксидазной активности на протяжении данного процесса. Полученные зависимости сравнивались как для образцов, содержащих только цитохром *c*, так и для цитохрома *c*, образующего комплексы с различными анионными фосфолипидами (фосфатидилхолином, кардиолипином и фосфатидной кислотой).

Оценка содержания ионов железа в цитохроме *c* выполнялась при помощи спектрофотометрии (по интенсивности полосы *Soret*), эти спектры сравнивались кинетической кривой люминол-зависимой хемилюминесценции, отражающей пероксидазную активность цитохрома *c*.

Хорошо известно, что при взаимодействии высокой концентрации перекиси водорода с цитохромом *c* происходит падение интенсивности полосы *Soret* при 410 нм, что и объясняет выход гемового железа, который может влиять на развитие ферроптотических процессов. Было показано, падение интенсивности полосы *Soret* цитохрома *c* в присутствии фосфатидной кислоты начинается много быстрее (при концентрациях пероксида водорода 300 мкМ), чем в контрольных образцах, где изменение поглощения начиналось с 500 мкМ концентраций. При этом также было видно, что образцы, содержащие фосфатидную кислоту сначала (до начала падения интенсивности полосы *Soret*), уже проявляют пероксидазную активность, которая была примерно в 10 раз выше, чем у комплексов цитохрома *c* с фосфатидилхолином.

В результате проведенных экспериментов было показано, что снижение интенсивности полосы *Soret* сопровождается увеличением интенсивности хемилюминесценции, что в свою очередь говорит о повышении пероксидазной активности цитохрома *c*.

Таким образом, показано, что цитохром *c* при взаимодействии с перекисью водорода может способствовать повышению концентрации железа, что в свою очередь индуцирует процесс ферроптоза.

### Библиографические ссылки

1. Kagan V. E. et al. Redox phospholipidomics of enzymatically generated oxygenated phospholipids as specific signals of programmed cell death //Free Radical Biology and Medicine. – 2020. – Т. 147. – С. 231-241
2. Ursini F., Maiorino M. Lipid peroxidation and ferroptosis: The role of GSH and GPx4 //Free Radical Biology and Medicine. – 2020. – Т. 152. – С. 175-185

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ НА ОСНОВЕ ИНДОТРИКАРБОЦИАНИНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ С БЕЛКАМИ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Тарасов Д.С., Красноперов Н.Н., Самцов М.П.

*Институт прикладных физических проблем им. А.Н. Севченко БГУ, Минск, Беларусь*

Фотодинамическая терапия (ФДТ) один из самых малоинвазивных методов лечения злокачественных новообразований различной локализации. Дальнейшее развитие метода продолжается путем совершенствования параметров используемых фотосенсибилизаторов (ФС). В последние годы отмечается рост исследовательского интереса к полиметиновым красителям (ПК), как к перспективным фотосенсибилизаторам для фотодинамической терапии злокачественных новообразований. По результатам комплексных исследований фотофизических свойств ряда индоотрикарбоцианиновых красителей в модельных средах и опухолях экспериментальных животных *in vivo* выбран краситель в значительной степени удовлетворяющий представлениям об идеальном ФС. В его основе индоотрикарбоцианиновый краситель с хлорзамещенным ортофениленовым мостиком в полиметиновой цепи [1].

В данной работе приведены результаты исследования спектральных свойств данного фотосенсибилизатора и двух других близких по структуре индоотрикарбоцианиновых красителей при взаимодействии с белками сыворотки крови человека (ЧСК). Разработана методика экстракции индоотрикарбоцианиновых красителей из растворов ЧСК с помощью бутанола. Определены фотофизические характеристики красителей в ФСБ, бутаноле и растворе ЧСК, которые впоследствии использовались при анализе состояния молекул красителей при экстракции.

Измерения показали, что в таких условиях красители с хлорзамещенным ортофениленовым мостиком в цепи сопряжения экстрагируются только на 50-60%. Повторной экстракцией из водного осадка не удается извлечь оставшийся краситель. Это указывает на то, что их молекулы в растворе распределены по нескольким типам комплексов с компонентами сыворотки крови, которые отличаются прочностью связи. В работе [2] показано, что данные красители способны образовывать ковалентные комплексы с альбумином и липопротеинами высокой плотности. С помощью экстракции возможно определение доли данных комплексов в растворе.

С другой стороны, степень экстракции для красителя, у которого отсутствует ортофениленовый мостик в цепи сопряжения, из раствора ЧСК близка к значению для раствора красителя в ФСБ. Следовательно, при взаимодействии с компонентами сыворотки крови он не образует с ними прочных комплексов, что согласуется с результатами исследования на гель-электрофорезе.

Бутанол показал свою высокую эффективность в качестве экстрагента индоотрикарбоцианиновых красителей из модельных сред на основе сыворотки крови.

### Библиографические ссылки

1. Novel indotricarbocyanine dyes covalently bonded to polyethylene glycol for theranostics / A.A. Lugovski, M.P. Samtsov, K.N. Kaplevsky, D.S. Tarasau, E.S. Voropay, P.T. Petrov, Y.P. Istomin // Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry. – 2016. – Vol. 316. – P. 31-36.
2. Анализ свойств комплексов полиметиновых красителей с белками сыворотки крови методом гель-электрофореза / М.П. Самцов, Д.С. Тарасов, Е.В. Малюшкова, И.И. Хлудеев, А.П. Луговский, И.В. Семак // Актуальные вопросы биологической физики и химии. – 2021. – Т. 6, № 3. – С. 499-504.



## КОНФОРМАЦИОННАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ФЕНИЛАЛАНИНГИДРОКСИЛАЗЫ – ВАЖНОЕ ЗВЕНО В ПАТОГЕНЕЗЕ ВИТИЛИГО

Телегина Т.А.<sup>1,2</sup>, Вечтомова Ю.Л.<sup>1</sup>, Борзова В.А.<sup>1</sup>, Буглак А.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия*

<sup>2</sup> *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

С целью установления механизмов нарушения меланогенеза при витилиго и проверки гипотезы, согласно которой избыток птеринов при витилиго может приводить к нарушению функционирования фенилаланингидроксилазы – фермента начальной стадии меланогенеза, было исследовано влияние процессов автоокисления и фотоокисления кофермента тетрагидробиоптерина (Н<sub>4</sub>Бип) [1, 2] на активность и конформацию фенилаланингидроксилазы (ФАГ).

ФАГ катализирует превращение субстрата L-фенилаланина в L-тирозин с участием кофермента Н<sub>4</sub>Бип и молекулярного кислорода и является очень лабильным ферментом со сложной системой аллостерической регуляции активности как субстратом, так и коферментом. Исследование методом УФ флуоресцентной триптофановой спектроскопии позволило нам предположить, что происходит изменение конформации вторичной структуры белковой молекулы ФАГ за счёт взаимодействия с избытком Н<sub>4</sub>Бип. Дальнейшие исследования ФАГ методом кругового дихроизма подтвердили переход  $\alpha$ -спиральной структуры белка в  $\beta$ -складчатую структуру. Анализ методом ИК-спектроскопии в формате FTIR-ATR позволил заключить, что фермент имеет, в основном,  $\beta$ -складчатую структуру с антипараллельными  $\beta$ -слоями с характеристическим пиком 1627 см<sup>-1</sup>. Присутствие антипараллельных  $\beta$ -слоев указывало на возникновение белок-белковых взаимодействий, приводящих к агрегации белка. Методом DLS изучали агрегацию ФАГ в присутствии субстрата или в присутствии субстрата и кофермента. Показано присутствие агрегатов с гидродинамическим радиусом 5146 нм, что свидетельствует о нестабильности конформации фермента.

В целом, рассматривая данные по флуоресцентной спектроскопии, КД спектроскопии, ИК-спектроскопии и DLS-анализу, можно заключить, что фермент фенилаланингидроксилаза является конформационно нестабильным белком и нестабильность конформации ФАГ является, очевидно, важным компонентом патогенеза витилиго. Среди факторов, изменяющих конформацию ФАГ, значительная роль, по-видимому, может принадлежать избытку тетрагидробиоптерина, присутствующему при витилиго в 3-5-кратном избытке.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-73-10029.

### Библиографические ссылки

1. Telegina T.A., Lyudnikova T.A., Buglak A.A. et. al. Transformation of 6-tetrahydrobiopterin in aqueous solutions under UV-irradiation. // J. Photochem. Photobiol. A: Chem. 2018. Vol. 354. P. 155-162.
2. Телегина Т.А., Вечтомова Ю.Л., Крицкий М.С. и др. Фотоокисление тетрагидробиоптерина как основа фототерапии витилиго. // Опт. и спектр. 2022. Т. 130. Вып. 5. С. 761–767.

## МЕХАНИЗМ АНТИОКСИДАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ ВОДНОГО ИЗВЛЕЧЕНИЯ ИЗ ЙЕРБА МАТЕ (*Ilex paraguariensis*) НА ПРОЦЕСС ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ФОСФОЛИПИДОВ ЛИПОСОМ

Теселкин Ю.О., Бабенкова И.В., Осипов А.Н.

Российский национальный исследовательский медицинский университет  
им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

Показано, что водные извлечения из падуба парагвайского (*Ilex paraguariensis*), или йерба мате, обладают антирадикальными свойствами [1]. Это открывает перспективы создания на их основе лекарственных препаратов для лечения заболеваний, сопровождающихся развитием оксидативного стресса. Между тем, влияние водных извлечений из мате на процесс пероксидного окисления липидов (ПОЛ), индуцированный ионами  $Fe^{2+}$ , которые рассматривают в качестве одного из инициаторов оксидативного стресса *in vivo*, мало изучено.

Цель работы – изучить механизм ингибирующего действия водного извлечения из мате на процесс  $Fe^{2+}$ -индуцированного ПОЛ липосом.

В качестве объекта исследования использовали мате торговой марки Amanda категории Desplada (La Cachuera S.A., Аргентина). Водное извлечение из мате получали, как описано в работе [1]. Однослойные липосомы готовили из яичных фосфолипидов (Fluka, Швейцария) в 50 мМ трис-НСl-буфере, содержащем 100 мМ КСl, рН 7,4.

Процесс ПОЛ липосом (0,4 мг фосфолипидов/мл) индуцировали добавлением сульфата железа в конечной концентрации 15 мкМ. За процессом ПОЛ липосом наблюдали, регистрируя кинетику хемилюминесценции (ХЛ), активированной кумарином С-525 (1,25 мкМ).

С повышением концентрации водного извлечения из мате в суспензии липосом происходило дозозависимое увеличение времени достижения максимума «медленной» вспышки ХЛ и понижение ее интенсивности. Это свидетельствует соответственно об уменьшении скорости окисления ионов  $Fe^{2+}$  и снижении скорости образования липидных радикалов. Аналогичный результат был получен при добавлении к липосомам классических радикальных ингибиторов – бутилгидрокситолуола и тролокса. Однако, в отличие от радикальных ингибиторов, при дальнейшем увеличении концентрации водного извлечения в суспензии липосом (более 2,5 мкг растительного сырья/мл) имело место постепенное уменьшение времени достижения максимума «медленной» вспышки ХЛ, что характерно для действия железохелатирующих веществ (ЭДТА и дефероксамина) и обусловлено сокращением времени окисления ионов  $Fe^{2+}$  до критической концентрации. Можно предположить, что биологически активные вещества, входящие в состав водного извлечения из мате, проявляют как радикалперехватывающую, так и железосвязывающую активность. Было изучено влияние на  $Fe^{2+}$ -индуцированное свечение липосом некоторых соединений полифенольной природы из состава водных экстрактов мате – кверцетина, рутина, хлорогеновой и кофеиновой кислот. Установлено, что в данной модельной системе кверцетин действовал как радикальный ингибитор. Смешанный тип действия – радикалперехватывающий и железохелатирующий – наблюдался у рутина, кофеиновой и хлорогеновой кислот.

Таким образом, показано ингибирующее действие водного извлечения из мате на процесс  $Fe^{2+}$ -индуцированного ПОЛ липосомальных мембран, которое определяется радикалперехватывающими и железохелатирующими свойствами входящих в его состав полифенольных соединений.

### Библиографические ссылки

1. Teselkin Yu.O., Babenkova I.V., Pavlova L.A. et al. The antioxidant capacity of aqueous extracts from yerba mate (*Ilex paraguariensis*) // Biophysics. 2021. Vol. 66. P. 125–132.

## МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ NO

Титов В.Ю.<sup>1,2,3</sup>, Осипов А.Н.<sup>1</sup>, Кочиш И.И.<sup>2</sup>, Долгорукова А.М.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *Российский национальный исследовательский медицинский университет  
им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия*

<sup>2</sup> *Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии-МВА  
им. К. И. Скрябина, Москва, Россия.*

<sup>3</sup> *ФНЦ Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт  
птицеводства РАН, Сергиев Посад, Московская область, Россия.*

Проблема механизма специфичности воздействия оксида азота и возможности регуляции опосредуемых им физиологических процессов представляет большой теоретический и практический интерес. По мнению ряда исследователей, основу пула нитрозосоединений в клетке составляют динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) [1]. Наши данные, полученные при помощи высокочувствительного ферментного сенсора, это подтверждают [2]. Показано также, что ДНКЖ спонтанно практически не претерпевают каких-либо трансформаций, связанных с высвобождением NO(NO<sup>+</sup>). Об этом судили по тому, что в норме концентрация нитрита в большинстве тканей не превышает 50 нМ, в то время как концентрация соединений-доноров NO достигает десятков микромоляр. А переход NO с ДНКЖ на мишень возможен при деструкции комплекса, приводящей, предположительно, к временному ослаблению связи Fe-NO. Это ослабление может произойти при воздействии на комплекс хелаторов, имеющих большее сродство к железу, чем те, что входят в состав комплекса. Эти хелаторы могут быть частями апофермента тех энзимов, на которые воздействует NO. Так может быть достигнута специфичность воздействия. Показано, в частности, что ДНКЖ, имеющие в составе комплекса цистеин, являются менее эффективными донорами NO, чем те, в которых цистеин заменен на глутатион – менее эффективный хелатор железа [2]. Но оба комплекса спонтанно не распадаются с высвобождением NO. Наши данные позволяют предположить, что эндогенные ДНКЖ содержат в составе лиганды не более эффективные, чем глутатион. Нитрозотиолы (RSNO) трансформируются в ДНКЖ в присутствии железа. На примере куриного эмбриона – замкнутой системы, показано, что нитрозоглутатион – более эффективный донор NO, чем нитрозоцистеин. Такие соединения как нитроглицерин также могут трансформироваться в ДНКЖ в присутствии глутатиона и железа [2]. Таким образом, предполагаемая основная функция ДНКЖ – непосредственная передача NO на физиологическую мишень. Иные соединения-доноры: нитрозотиолы, некоторые высокомолекулярные нитраты способны трансформироваться в ДНКЖ. Но передача NO на мишень происходит только в том случае, если в тканях есть мишени, имеющие химическое сродство к NO. Последнее обуславливается генетически, а также, возможно, рядом физиологических факторов, модифицирующих мишень [3].

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-016-00204-а.

### Библиографические ссылки

1. Vanin A.F. Dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands as a “working form” of endogenous nitric oxide. // Nitric Oxide Biol. Chem. 2016, Vol. 54, p.15–29.
2. Titov V. Dolgorukova A., Osipov A., Kochish I. Putative Role of Ligands of DNIC in the Physiological Action of the Complex. // Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2021, Vol.171, N5, p. 606-610.
3. Titov V.Yu., Dolgorukova A.M., Fisinin V.I., Borkhunova Ye.N., Kondratov G.V., Slesarenko N.A., Kochish I.I. The role of nitric oxide (NO) in the body growth rate of birds.// World Poultry Science Journal, 2018, v.74, No 4, p. 675-686.

## ФЕРМЕНТНЫЙ КАЛОРИМЕТРИЧЕСКИЙ СЕНСОР ДАЕТ НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ В ИЗУЧЕНИИ ПАТОГЕНЕЗА И В ДИАГНОСТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ, СВЯЗАННЫХ С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМ ПРОЦЕССОМ

Титов В.Ю., Осипов А.Н., Шалина Р.И., Иванова Е.А., Ананкина А.А.

*Российский национальный исследовательский медицинский университет  
им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия*

Разработанный нами ферментный сенсор, основанный на обратимом ингибировании каталазы всеми нитрозосоединениями в присутствии галоид-ионов и на утрате ими ингибирующих свойств под воздействием определенных веществ, различных для каждой группы нитрозосоединений, способен определять концентрацию нитрозотиолов (RSNO), динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ), высокомолекулярных нитросоединений, способных продуцировать ДНКЖ (RNO<sub>2</sub>), а также нитрита и нетиолатных нитрозосоединений (NO<sub>2</sub><sup>-</sup> + RNO) с точностью до 50 нМ [1]. Регистрация активности каталазы по кинетике теплопродукции, сопровождающей разложение H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, не чувствительна к мутности и окрашенности объекта и позволяет производить определение без предварительной подготовки образца. При помощи сенсора установлено, что в норме в большинстве тканей концентрация (NO<sub>2</sub><sup>-</sup> + RNO) не превышает 50 нМ. Данные о более высоких концентрациях этих соединений – следствие низкой избирательности классических методик их определения [1]. Но эти соединения появляются в тканях вследствие взаимодействия супероксида (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) с соединениями-донорами NO: RSNO, ДНКЖ. Нами показано, что у этих соединений в живых тканях нет конкурентов за супероксид. Всякое воспаление – активация лейкоцитов. Всякая активация лейкоцитов – продукция O<sub>2</sub><sup>-</sup> и увеличение концентрации (NO<sub>2</sub><sup>-</sup> + RNO). Последние, таким образом, – индикаторы продукции супероксида. Повышение концентрации (NO<sub>2</sub><sup>-</sup> + RNO) проявляется раньше клинических и прочих биохимических показателей воспаления [1]. Показана его эффективность при контроле состояния стационарных больных, в частности, неврологических. Инсульт всегда связан с активацией фагоцитов, о чем свидетельствует накопление (NO<sub>2</sub><sup>-</sup> + RNO) в спинномозговой жидкости. Накопление этих соединений в крови при этом происходит не всегда и, по-видимому, прямо не связано с процессами в ЦНС [2]. Есть проблема диагностики внутриутробной инфекции. Такие показатели как С-реактивный белок, СОЭ, число лейкоцитов неинформативны на ранних стадиях. Неинформативно и УЗИ. Но, во всех исследованных нами случаях, внутриутробная инфекция приводила к увеличению концентрации (NO<sub>2</sub><sup>-</sup> + RNO) в крови матери до 1,6 мкМ и выше. Также в 100% случаев преждевременного разрыва плодных оболочек наблюдается повышение концентрации (NO<sub>2</sub><sup>-</sup> + RNO) до 1,5 мкМ и выше. Применение антибиотиков способствовало нормализации показателя. Это говорит о том, что повышение концентрации (NO<sub>2</sub><sup>-</sup> + RNO) обусловлено воспалением, имеющем в патогенезе бактериальную компоненту [1].

Таким образом, ферментный сенсор позволяет однозначно дать ответ на вопрос: есть или нет активация фагоцитов, вне зависимости от индивидуальных особенностей пациента.

### Библиографические ссылки

1. Титов В.Ю., Осипов А.Н., Крейнина М.В., Ванин А.Ф. Особенности метаболизма оксида азота в норме и при воспалении. // Биофизика, 2013, т. 58, №5, с. 857-870.
2. Титов В.Ю., Иванова А.В., Петров В.А., Осипов А.Н., Чаусова С.В., Камчатнов П.Р. Возможность диагностики воспалительной реакции при ишемическом инсульте // Журнал Неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова, 2018, т. 118, Вып.2, №9, с. 41-45.

## ОЦЕНКА КОНФОРМАЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ И ПЕРОКСИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ЦИТОХРОМА С ПРИ ТЕМПЕРАТУРАХ, ХАРАКТЕРНЫХ ДЛЯ ГИПЕРТЕРМИИ

Харитонов Д.В., Алексеева А.О., Ерёмкина Я.В., Бадалов А.А., Волков В.В.,  
Степанов Г.О., Осипов А.Н.

*Российский национальный исследовательский медицинский университет  
им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия*

Гипертермия – одна из форм лечения онкологических заболеваний, включающая избирательное нагревание опухолевых тканей до температур в диапазоне от 39 до 45 °С. Последние разработки, основанные на терморациобиологическом обосновании гипертермии, указывают на то, что она является мощным радио- и хемосенсибилизатором [1].

Цель настоящего исследования: изучение структурных и функциональных изменений цитохрома *c* (CytC) при помощи методов спектрофотометрии, спектрофлуориметрии и хемилюминесценции комплексов цитохрома *c* с кардиолипином (CL), фосфатидной кислотой (PA) и фосфатидилхолином (PC) в зависимости от температуры.

Было обнаружено, что комплексы CytC с PC не показали четкой температурной зависимости, в отличие от комплексов с PA, для которых увеличение интенсивности флуоресценции триптофана было в 1,7 раза. Обнаружено также, что значительное изменение интенсивности полосы 695 нм цитохрома *c* наблюдается только в присутствии CL-содержащих липосом (на ~13,7% при 25 °С, ~19,4% при 37 °С и ~21,4% при 45 °С), но отсутствует как в присутствии PC, так и PA. Интенсивность хемилюминесценции при повышении температуры с 25 до 37 °С в присутствии DOPA увеличивается на 26%. При переходе с 37 на 45 °С увеличения интенсивности хемилюминесценции CytC в присутствии фосфолипидов обнаружено не было. Особенно интересно, что и методами спектрофлуориметрии и при оценке цитохром *c* индуцированного ПОЛ (хемилюминесценция с кумарином) было показано явление гистерезиса при нагревании комплексов CytC с CL. Данное явление проявлялось в том, что структурные и функциональные свойства цитохрома *c* при его нагревании до 45 °С с последующим охлаждением до 25 °С значительно отличались (примерно до 26%) от аналогичных образцов, которые не подвергались предварительному нагреванию. Данный эффект был выявлен только для образцов содержащих CL.

Таким образом, показано, что: 1. Увеличение температуры изменяет конформацию и пероксидазную активность CytC, 2. Пероксидазная активность в присутствии CL в 1,3 раза больше, чем с PA. 3. Температурная инкубация CytC с PA и CL привела к необратимым конформационным изменениям, в отличие от PC, что может служить объяснением молекулярных механизмов эффекта гипертермии.

### Библиографические ссылки

1. Datta NR, et al. Local hyperthermia combined with radiotherapy and/or chemotherapy: recent advances and promises for the future. *Cancer Treat Rev.* 2015.

## МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОВЕРХНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ТЯЖЕЛЫМ ТЕЧЕНИЕМ COVID-19

Шафорост А.С., Воропаев Е.В., Липская Е.А.

*Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь*

**Цель исследования.** Целью настоящей работы является изучение изменений механических свойств мембраны эритроцитов крови в зависимости от тяжести течения COVID-19.

**Материал и методы.** Были исследованы мазки крови пациентов из отделений реанимации учреждений здравоохранения Гомельской области, которые были зафиксированы с помощью 1% раствора глутарового альдегида (20 мин,  $1 \times \text{PBS}$ ,  $\text{pH} = 7,4$ ). Исследование морфологии и механических свойств клеток выполняли на атомно-силовом микроскопе NT-206 (ОДО «Микротестмашинь», г. Гомель) в контактном режиме на воздухе с использованием зонда CSC-38 (зонд В, MicroMash, Эстония). Анализ АСМ-изображений выполняли с помощью программы SurfaceXplorer 1.3.1.1. Обработку результатов проводили с помощью MS Excel 2010. Результаты представлены в виде  $X_{\text{cp}} \pm \text{ДИ}$ .

**Результаты и обсуждение.** Исследование морфологии эритроцитов в анализируемых образцах не выявило наличия аномальных форм. Анализ АСМ-изображений в режиме «топография» показывает, что значение шероховатости ( $R_q$ ) мембраны эритроцитов пациентов с тяжелым течением COVID-19 в среднем составляет  $264,3 \pm 30,7$  нм. При сравнении величины  $R_q$  для различных областей мембраны показано, что центральные области имеют менее шероховатую поверхность.

Анализ АСМ-изображений в режиме «карта латеральных сил» позволяет получить данные о механических свойствах мембраны, в частности о структуре подмембранного кортикального слоя цитоскелета клетки. В изучаемых образцах величина силы трения ( $F_t$ ) колеблется в пределах  $3122,24 \pm 461,77$  усл. ед., что существенно выше, чем у здоровых людей, и сравнима с таковой у пациентов с инфекциями дыхательных путей [1]. Показатель шероховатости поверхности ( $R_q$ ) для исследованных эритроцитов равен  $2409,24 \pm 393,87$  усл. ед., что несколько выше, чем у здоровых пациентов ( $2376,16$  усл. ед.).

Помимо этого, были определены концентрации С-реактивного белка, интерлейкина-6 и прокальцитонина в сыворотке крови пациентов с тяжелым течением COVID-19. Среди обследованных пациентов наблюдалось разнообразие значений вышеперечисленных показателей, которое соответствовало тяжести течения заболевания. При сравнении полученных значений с данными обработки АСМ-изображений была выявлена сильная положительная связь между показателем силы трения ( $F_t$ ) и концентрацией интерлейкина-6 ( $R = 0,76$ ), прокальцитонина ( $R = 0,77$ ) и связь средней силы с содержанием С-реактивного белка ( $R = 0,54$ ).

**Выводы.** В ходе анализа данных пилотного исследования свойств мембраны эритроцитов пациентов с COVID-19 установлено, что при утяжелении течения заболевания наблюдаются значимые изменения в архитектонике клеточной мембраны, которые проявляются в формировании более развитой поверхности клеток, что позволяет рассматривать подобные трансформации, как перспективный маркер тяжести течения COVID-19.

### Библиографические ссылки

1. Стародубцева М.Н., Воропаев Е.В., Петренев Д.Р. и др. АСМ-диагностика патологии эритроцитов на основе физико-механического образа клеточной поверхности // Проблемы здоровья и экологии. 2015. № 2 (44). С. 99-104.

## ИЗМЕНЕНИЯ ИЗОТОПНОГО СОСТАВА ВОДЫ И ТЕРМОГЕНЕЗ

Яглова Н.В.<sup>1</sup>, Обернихин С.С.<sup>1</sup>, Диатроптов М.Е.<sup>2</sup>, Тимохина Е.П.<sup>1</sup>, Яглов В.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ морфологии человека ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», Москва, Россия

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН», Москва, Россия

Вода является основным соединением в живых организмах и играет ключевую роль в поддержании гомеостаза. Поддержание постоянной температуры тела является основой постоянства внутренней среды. Природная вода представляет собой смесь оксидов протия  $H_2O$  и дейтерия  $D_2O$ . Роль дейтерия в организме мало изучена. Известно, что сдвиги в его содержании в организме влияют на функциональную активность эндокринной системы [1]. В связи с этим нами было проведено исследование о возможном влиянии различного содержания дейтерия в питьевой воде на процессы термогенеза. Было проведено 7-суточное биомониторирование самцов мышей C57Bl/6 с внутрибрюшинно имплантированными датчиками. Животные опытной группы получали воду с содержанием дейтерия 10 ppm. Контрольная группа получала воду со стандартным содержанием дейтерия 146 ppm.

Общеизвестно, что терморегуляция поддерживается двумя основными механизмами: сократительным – продукцией тепла за счет сокращения мышц, и несократительным – путем усиления реакций катаболизма. Исследование показало, что суммарная двигательная активность, отражающая сократительный механизм термогенеза, не отличалась от контрольных значений. Аналогичное отсутствие отличий было выявлено и по параметру потребления кислорода на единицу массы тела, свидетельствующее о нормальной скорости катаболических процессов. Мониторирование температуры тела в течение 7 сут не выявило никаких различий между мышами, потреблявшими обычную воду и воду с пониженным содержанием дейтерия. Однако динамика ежеминутных колебаний температуры в этих группах отличалась. Было выявлено значительное снижение средней величины ежеминутного изменения температуры тела. Методом быстрого преобразования Фурье нами были оценены спектры динамики ежеминутных изменений температуры тела у мышей. Потребление воды с пониженным содержанием дейтерия вызывало снижение средней спектральной плотности колебаний температуры тела в диапазоне 2-20 мин с максимумом снижения в диапазоне 2-6 мин. По сравнению с контролем, у мышей, потреблявших воду с низким содержанием дейтерия, отношение спектральной мощности колебаний температур тела в диапазоне 10-20 мин к 2-6 мин ритмов резко увеличивалось. Следовательно, высокочастотный диапазон ежеминутных изменений температуры тела является более чувствительным к изменению содержания дейтерия в организме. Учитывая, что колебания температуры тела в диапазоне 2-20 мин отражают баланс активности симпатического и парасимпатического звеньев вегетативной нервной системы [2], то их изменения можно трактовать и как перестройку регуляторных механизмов в нервной системе, ответственных за поддержание гомеостаза.

Таким образом, уменьшение поступления в организм дейтерия влияет на процессы терморегуляции, повышая стабильность термогенеза.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-015-00236 А.

### Библиографические ссылки

1. Яглова Н.В., Обернихин С.С., Тимохина Е.П., и др. Реакция гипофизарно-тиреоидной оси на кратковременное изменение содержания дейтерия в организме // Бюлл. экспер. биол. 2021. Т. 171, №2, С. 232-234.
2. Braulke L.J., Heldmaier G. Torpor and ultradian rhythms require an intact signaling of the sympathetic nervous system // Cryobiology. 2010. Vol. 60, N.2, P. 198-203.

**НАНОБИОТЕХНОЛОГИИ И  
ИММУНОЛОГИЯ**



Harutyunyan A.A., Aghajanyan A.A., Gabrielyan L.S. BACTERICIDAL EFFECT OF GREEN SILVER NANOPARTICLES AGAINST ENTEROCOCCUS HIRAE

## **BACTERICIDAL EFFECT OF GREEN SILVER NANOPARTICLES AGAINST *ENTEROCOCCUS HIRAE***

**Harutyunyan A.A., Aghajanyan A.A., Gabrielyan L.S.**

*Yerevan State University, Yerevan, Armenia*

The growing resistance to antibiotics among opportunistic and pathogenic microorganisms requires the development of new approaches to overcome the antibiotic resistance. The application of silver nanoparticles (Ag NPs) could be a solution of this problem [1]. Ag NPs obtained by the “green synthesis” method are of interest. Cyanobacteria *Spirulina platensis*, which is known for its wide application in biomedicine and biotechnology [2], can be a valuable platform for NPs green synthesis.

In this work, the effect of *S. platensis*-mediated Ag NPs on the growth and survival of *Enterococcus hirae* ATCC 9790 was investigated. Biogenic Ag NPs have an average size of ~30 nm. *E. hirae* is a gram-positive bacterium. Among representatives of the genus *Enterococcus*, there are pathogenic forms that cause various human diseases, such as infections of the gastrointestinal tract, genitourinary and central nervous systems.

The Ag NPs demonstrate a concentration-dependent inhibitory effect on *E. hirae*, which is expressed by the decrease of the bacterial specific growth rate and the number of viable colonies. The addition of 10-20 µg/mL Ag NPs led to a ~4-4.5-fold decrease in bacterial growth rate. Moreover, the number of viable colonies of *E. hirae* was reduced by 90-95%, indicating the bactericidal effect of biogenic Ag NPs. Biogenic NPs demonstrate a bactericidal effect against *E. hirae*, which can be coupled with small size of NPs and their penetration into the bacterial cell.

Thus, *S. platensis*-mediated NPs are the promising antimicrobial agents, which can be used in biomedicine for the treatment of various infections.

### **Bibliographic references**

1. N. Manosalva, G. Tortella et al. Green synthesis of silver nanoparticles: effect of synthesis reaction parameters on antimicrobial activity // World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2019. Vol. 35. P. 88; <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2664-3>
2. E. G. Bautista and C. Laroche. Arthrospira platensis as a Feasible Feedstock for Bioethanol Production // Applied Sciences. 2021. Vol. 11(15). P. 6756; <https://doi.org/10.3390/app11156756>

Timotina M., Aghajanyan A.A., Trchounian K., Gabrielyan L.S. COMPARATIVE STUDY OF EFFECTS OF CHEMICALLY AND GREEN SYNTHESIZED SILVER NANOPARTICLES ON STAPHYLOCOCCUS AUREUS

## COMPARATIVE STUDY OF EFFECTS OF CHEMICALLY AND GREEN SYNTHESIZED SILVER NANOPARTICLES ON *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

**Timotina M.<sup>1</sup>, Aghajanyan A.A.<sup>2,3</sup>, Trchounian K.<sup>2,3</sup>, Gabrielyan L.S.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Russian-Armenian University, Yerevan, Armenia*

<sup>2</sup>*Yerevan State University, Yerevan, Armenia*

<sup>3</sup>*Scientific-Research Institute of Biology, Yerevan State University, Yerevan, Armenia*

*Staphylococcus aureus* is a well-known gram-positive bacterium, which is widely spread in the environment. It can lead to various serious diseases, including skin and respiratory ones, as well as to cause mortality. *S. aureus* takes second place worldwide as a death-associated pathogen. Previously, antibiotics were used as a first-line therapy against *S. aureus*. However, it becomes more difficult to apply them due to antibiotic resistance, which is an urgent problem of biomedicine and needs finding of new approaches [1]. Silver nanoparticles (Ag NPs) are considered a promising alternative to antibiotics since they have a great potential to overcome antibiotic resistance and be applied as antimicrobial agents [2-4]. In this work, the effects of colloidal silver nanoparticles (“Tonus-Less”, Armenia) and silver nanoparticles, synthesized using soil *Stevia rebaudiana* extract, on *S. aureus* MDC5233 (Microbial Depository Center, NAS, Yerevan, Armenia) were investigated. Both types of nanoparticles demonstrate significant antibacterial effects. In the presence of 50 µg/mL Ag-NPs, synthesized using *S. rebaudiana* extract, growth rates of *S. aureus* decreased ~70%, in comparison with control culture. Chemically synthesized Ag NPs demonstrated more noticeable antibacterial effect: bacterial growth rate decreased ~80%. Moreover, the inhibition the colonies forming units (CFU) of *S. aureus* ~70 and 60% was detected in the presence of chemically and green synthesized Ag NPs, respectively. Therefore, chemically and green synthesized Ag NPs demonstrate bactericidal effect against *S. aureus* and can be used as promising antimicrobial agents. However, NPs green synthesis is a cost-effective and environmentally friendly method in comparison with chemical synthesis.

### Bibliographic references

1. Cheung GYC, Bae JS, Otto M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*. 2021, 12(1):547-569.
2. Gabrielyan L., Trchounian A. Antibacterial activities of transient metals nanoparticles and membranous mechanisms of action / *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2019, 35, 162.
3. Akbar A., Sadiq M., Ali I., Muhammad N. et al. Synthesis and antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles against foodborne pathogens *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* / *Biocatalysis Agr. Biotechnol.* 2019. 17, 36-42.
4. Lee SH., Jun B-H. Silver nanoparticles: synthesis and application for nanomedicine. / *Int. J. Mol. Sci.* 2019. 20, 865.

## LIFETIME ANALYSIS OF TIME EVOLUTION OF INTERACTION OF SMALL-MOLECULE INHIBITORS OF PD-1 –PD-L1 AXIS WITH PD-L1 DIMER.

Urban V.A., Veresov V.G.

*Institute of Biophysics and Cell Engineering of NAS of Belarus, Minsk, Belarus*

The programmed cell death protein 1 (PD-1) and its ligand, PD-L1, constitute an important co-inhibitory immune checkpoint leading to downregulation of immune system. Tumor cells developed a strategy to trigger PD-1/PD-L1 pathway reducing the T cell anticancer activity. A number of antibodies targeting the PD-1/PD-L1 immune checkpoint pathway have been approved after successful clinical trials. Anti-PD-L1 small drugs, generally with improved pharmacokinetic and technological profiles than monoclonal antibodies, became an attractive research topic. At present, more than twenty small-molecular inhibitors (SMIs) of the PD-1/PD-L1 interactions whose scaffold is based on substituted biphenyl group connected to a further aromatic ring through a benzyl ether bond have been identified which act by inducing dimerization of PD-L1. Recently, based on the pharmacophore model, we have carried out the computational design of ten new small-molecular inhibitors (SMIs) of the PD-1/PD-L1 interactions, possessing a high-affinity binding towards the PD-L1 dimer. However, the full physical understanding of high-affinity binding of these compounds to the PD-L1 dimer is absent. Here, we use all-atom molecular dynamics simulations of four inhibitors of PD-1/PD-L1 interactions, BMS-1016, BMS-2007, BMS-4121, BMS-40210 together with PyContact software [2] to analyze time evolution of noncovalent interactions of key PD-L1-dimer residues with SMIs. Molecular dynamics simulations were performed using the GROMACS software with the CHARMM36 all-atom force field. The analysis has shown common for all four ligands the maintenance of key interactions with Tyr56A/B, Met115A/B, Ala 121B, Tyr123A/B during full simulation runs. In several cases stable hydrogen bonds with Gln66B, Ala121B and Asp122B took place. The results obtained suggest that hydrophobic protein-ligand interactions are the main cause of high binding affinity between considered BMS-ligands and the PD-L1 dimer resulting in high inhibiting activity of these ligands against PD-1/PD-L1 interaction.

### Bibliographic references

1. Guzik K., Tomala M., Muszak D., et al. Development of the Inhibitors that Target the PD-1/PD-L1 Interaction-A Brief Look at Progress on Small Molecules, Peptides and Macrocycles. //Molecules. 2019. Vol. 24. P. 2071.
2. Scheurer M., Rodenkirch P., Siggel M., et al PyContact: Rapid, Customizable, and Visual Analysis of Noncovalent Interactions in MD Simulations. //Biophys J. 2018. Vol.114(3). P. 577-583.

## ENERGY TRANSFER AND SINGLET OXYGEN GENERATION IN “SEMICONDUCTOR QUANTUM DOT – PORPHYRIN” NANOASSEMBLIES

Zenkevich E.I.<sup>1</sup>, Blaudeck T.<sup>2</sup>, Scheinin V.B.<sup>3</sup>, Selyshchev O.N.<sup>4</sup>, Kulikova O.M.<sup>3</sup>, Stroyuk O.L.<sup>5</sup>, Raievska O.E.<sup>4</sup>, Dzhagan V.N.<sup>6</sup>, Koifman O.I.<sup>3</sup>, von Borczyskowski C.<sup>4</sup>, Zahn D.R.T.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Belarussian National Technical University, Minsk, Belarus

<sup>2</sup>Fraunhofer Institute for Electronic Nano Systems, Chemnitz, Germany

<sup>3</sup>G.A. Krestov Institute of Solution Chemistry, RAS, Ivanovo, Russia

<sup>4</sup>Semiconductor Physics, Chemnitz University of Technology, Chemnitz, Germany

<sup>5</sup>Helmholtz Institute Erlangen-Nürnberg for Renewable Energy, Erlangen, Germany

<sup>6</sup>V.E. Lashkaryov Institute of Semiconductors Physics, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

A “bottom-up” strategy was used for the directed formation of two types of self-organized nanoassemblies based on colloidal semiconductor quantum dots (QDs) and porphyrins: i) TOPO-capped CdSe/ZnS QDs attached via coordination interactions with tetra-pyridylporphyrins, H<sub>2</sub>P(3'-Py)<sub>4</sub>, in toluene, and ii) AgInS/ZnS QDs stabilized by glutathione (GSH) electrostatically coupled with positively charged porphyrin molecules H<sub>2</sub>P(4'-MePy<sup>+</sup>)<sub>4</sub> via Coulomb attraction in water. Based on experimental and theoretical analysis it was argued that the QD photoluminescence (PL) quenching in QD-porphyrin nanoassemblies is caused by two main competing non-radiative PL processes: i) non-radiative energy transfer QD → porphyrin of Förster type (FRET); ii) non-FRET processes including electron tunneling beyond the QD core under conditions of quantum confinement. Depending on QD type, FRET efficiency is  $\Phi = 10\text{-}15\%$  (CdSe/ZnS) and achieves  $\Phi = 70\%$  (AgInS/ZnS).

For “CdSe/ZnS QD-Porphyrin” nanoassemblies, using direct measurements of near-IR photoluminescence measurements of singlet oxygen <sup>1</sup>Δ<sub>g</sub> emission ( $\lambda_{\text{max}} = 1.27 \mu\text{m}$ ) it was shown that efficiencies of <sup>1</sup>Δ<sub>g</sub> generation by QD-porphyrin nanoassemblies are in a good coincidence with FRET efficiencies  $\Phi_{\text{FRET}}$  obtained from the direct sensitization data for porphyrin fluorescence. In the case of “AgInS/ZnS/GSH QD-porphyrin” nanoassemblies, the generation of <sup>1</sup>Δ<sub>g</sub> was detected indirectly using an alternative method for the oxidation of specific substrates (pyridoxine molecules) that readily react with singlet oxygen. For nanoassemblies of both types it was shown, that upon excitation of QD singlet oxygen <sup>1</sup>Δ<sub>g</sub> generation is realized by triplet excited porphyrin molecules formed after FRET QD → porphyrin presumably. These results together with a specific dependence of spectral-kinetic parameters of AgInS/ZnS/GSH QDs on pH and local polarity, studied by us recently, make these nanoobjects perspective in various biomedical applications (drug delivery carriers, the distant testing the local pH, the photodynamic therapy of cancer cells, etc.).

This work was funded by Volkswagen Foundation (Project “New Functionalities of Semiconductor Nanocrystals by Controllable Coupling to Molecules”), BSPSR program “Photonics and Electronics for Innovations (2021-2025)”, RFBR grant № 18-53-00035 (Russia-Belarus), Russian Science Foundation (Project № 18-73-00234), as well as by the European Union under Grant Agreement 732482 (Bio4Comp - Parallel Network-Based Biocomputation: Technological Baseline, Scale-up and Innovation Ecosystem) in the framework of a Training Period (E.Z.), and Visiting Scholar Program of TU Chemnitz, Germany (E.Z., 2020-2021).

## DEACTIVATION OF EXCITED STATES IN NANOSTRUCTURES CONTAINING Cu-PORPHYRIN MACROCYCLES

Zenkevich E.I.

*Belarussian National Technical University, Minsk, Belarus*

At present, supramolecular chemistry presents itself a highly interdisciplinary field of nanotechnology covering the chemical, physical, and biological features of chemical species held together and organized by means of intermolecular binding interactions of various nature. The most important source of inspiration for self-assembly strategies is natural photosynthesis in which the generation of complex, multicomponent three-dimensional structures involve intramolecular, as well as intermolecular and interfacial interactions. It is clear that for any given multicomponent nanostructure the main problem is the understanding presumably of how the multiple components by various nature and composition may interact and function as a whole in order to predict its possible applications. It should be noted that the photochemistry of hybrid nanoassemblies having tetrapyrroles with central paramagnetic metal ions, for instance Cu(II), is rather complex because of presence of unpaired d-electron in central metal.

Thus, keeping in mind the above peculiarity, in this report we discuss some relatively rare relaxation processes in multicomponent nanostructures including Cu containing tetrapyrrolic macrocycles namely which make these nanoassemblies more special. This discussion is based on steady-state, picosecond time-resolved measurements and single objects detection at 77-293 K. The important question is: what happens with excited states of nanoassembly subunits of various nature and morphology being coupled with adjacent Cu-porphyrins. Correspondingly, the systems under discussion are: porphyrin chemical dimers, self-organized porphyrin pentads and larger complexes, polymeric ordered aggregates of chlorophyll and protochlorophyll as well as nanoassemblies “Semiconductor CdSe/ZnS quantum dots (QD) + tetra-*meso*-pyridyl substituted Cu-porphyrins”.

It has been evaluated that the excitation energy relaxation in Cu-porphyrin containing hybrid chemical dimers are caused by few reasons: i) the increase of the non-radiative deactivation of excited states for the dimer half not containing central Cu ion (due to exchange d- $\pi$  effects); ii) the energy transfer from  $^2T_1$  and  $^4T_1$  states of Cu-porphyrin to the excited  $T_1$  state of porphyrin free base; iii) the formation of short-lived radical ion pair via the photoinduced electron transfer; iv) exchange resonance T-T energy transfer. In porphyrin pentads, long-distant exchange d- $\pi$  effects manifest themselves in an additional fluorescence quenching of two chemical dimers (ZnOEP) $_2$ Ph. In the case of ordered protochlorophyll aggregates containing Cu-pheophytin (at small molar ratios PChl:Cu-Pheo = 1000:100), we showed that a fluorescence strong quenching is definitely connected with exchange d- $\pi$  effects influence on the neighboring PChl *a* molecules in the close vicinity of Cu-Pheo subunit in mixed aggregates. Finally, using the combination of ensemble and single QD experiments together with low-temperature experiments and PL decay analysis for “QD+Cu-porphyrin” nanoassemblies, we showed for the first time that already one attached Cu-porphyrin molecule on QD surface causes not only QD PL quenching but also manifests itself in a low-temperature reconstruction of TOPO capping layer (“phase transition”) accompanied by significant changes of the QD electronic surface states in the energy scale.

## ПРИМЕНЕНИЕ АЦИЛГИДРАЗОНА РОДАМИНА Б В КАЧЕСТВЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО БИОСЕНСОРА ИОНОВ МЕДИ (II) И ЖЕЛЕЗА (III)

Белько Н.В.<sup>1</sup>, Мальтанова А.М.<sup>2</sup>, Тимошенко А.Г.<sup>3</sup>, Лабода Н.В.<sup>3</sup>, Луговский А.П.<sup>1</sup>,  
Луговский А.А.<sup>1</sup>, Позняк С.К.<sup>2</sup>, Самцов М.П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт прикладных физических проблем им. А.Н. Севченко БГУ, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>НИИ физико-химических проблем БГУ, Минск, Беларусь

<sup>3</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Ионы железа и меди играют важную роль в функционировании живых организмов [1, 2]. Разработка сенсоров, позволяющих детектировать эти ионы металлов и определять их концентрацию, остается актуальной задачей. Флуоресцентные сенсоры обладают рядом преимуществ, среди которых можно выделить высокую чувствительность и простоту в применении. Для биомедицинских применений целесообразно выбирать сенсоры с полосами в спектрах флуоресценции в окне прозрачности биологических тканей (в спектральном диапазоне 750-900 нм).

Для создания сенсоров ионов металлов могут применяться различные производные гидразида родамина Б [3]. В чистом виде такие соединения не окрашены и не флуоресцируют. В присутствии некоторых ионов металлов такие красители приобретают окраску и проявляют интенсивную флуоресценцию.

В данной работе исследуется потенциал ацилгидразона родамина Б в качестве биосенсора ионов меди (II) и железа (III).

Растворы исследованного красителя в исходном состоянии не обладают поглощением и флуоресценцией в видимой области. В присутствии ионов меди (II) в спектрах проявляется полоса поглощения при 709 нм и полоса флуоресценции при 788 нм. В дополнение к этому возникают полосы поглощения и флуоресценции с максимумами при 556 и 580 нм соответственно. В присутствии ионов железа (III) ацилгидразон родамина Б проявляет интенсивную полосу поглощения при 560 нм и флуоресценции при 585 нм. Спустя 5 сут в спектрах поглощения и флуоресценции также проявляются полосы с максимумами при 709 и 788 нм соответственно. Полосы поглощения и флуоресценции ацилгидразона родамина Б, наблюдаемые в присутствии ионов железа (III) или меди (II), аналогичны, однако характеризуются различными вкладами в спектры.

Исследованный краситель может использоваться в качестве биосенсора, флуоресценция которого в ближней ИК области включается в присутствии ионов меди (II) или железа (III). Дополнительная полоса флуоресценции наблюдается в видимой области. Различить отклик ацилгидразона родамина Б на ионы меди и железа можно по соотношению интенсивности двух полос флуоресценции.

### Библиографические ссылки

1. Aisen P., Wessling-Resnick M., Leibold E.A. Iron metabolism // Curr. Opin. Chem. Biol. 1999. Vol. 3. P. 200–206.
2. Gaetke L.M., Chow C.K. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients // Toxicology. 2003. Vol. 189. P. 147–163.
3. Kim H.M., Lee M.H., Kim H.J. et al. A new trend in rhodamine-based chemosensors: application of spiro lactam ring-opening to sensing ions // Chem. Soc. Rev. 2008. Vol. 37. P. 1465–1472.

## ПОГЛОТИТЕЛЬНАЯ СПОСОБНОСТЬ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТКИ В ОТНОШЕНИИ ПРОТОТИПА ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ COVID-19

Бобрукевич Д.В.<sup>1</sup>, Гончаров А.Е.<sup>1</sup>, Антоневиц Н.Г.<sup>1</sup>, Семижон П.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Минск, Беларусь

**Введение.** Разработка вакцины включает несколько этапов, один из них – исследования *in vitro*. В их рамках исследуют ответ клеток иммунной системы на воздействие прототипов вакцины. Цель работы – оценка поглотительной способности дендритных клеток в отношении прототипа отечественной вакцины против COVID-19.

**Материалы и методы исследования.** Незрелые дендритные клетки (ДК) получали стандартно, культивируя моноциты периферической крови в питательной среде AIM-V с добавлением «коктейля» цитокинов 100 нг/мл ГМ-КСФ и 50 нг/мл ИЛ-4 на протяжении 5-6 сут. Прототип отечественной вакцины против COVID-19 состоял из 20 мкг/мл инактивированного  $\beta$ -пропиолактоном вируса SARS-CoV-2, 400 мкг алюминия гидроксида («Alhydrogel», Invivogen (АН)). Для оценки поглотительной способности ДК инкубировали с прототипом вакцины на протяжении 1 ч при 37 °С. Добавляли моноклональное антитело CD209 (FITC) для идентификации ДК. Затем фиксировали клетки 4% раствором параформа и пермеабелизовали 0,3% раствором сапонаина. Добавляли моноклональное антитело к RBD-домену S-белка SARS-CoV-2 (Alexa Fluor 647), инкубировали 15 мин, отмывали клетки и учитывали на визуализирующем проточном цитометре Luminex/Amnis Image Stream Mk II. Для идентификации в клетках частиц АН с адсорбированным вирусом в программном обеспечении IDEAS была создана пользовательская маска, позволяющая точно выделять необходимые для анализа фрагменты изображений – Function: AdaptiveErode, Coefficient: 50. Статистическую обработку проводили с использованием программы Statistica версии 12 (StatSoft, США).

**Результаты.** Количество клеток, поглотивших частицы АН с сорбированным вирусом, составил 31,6(25,7-37,5)% всей популяции. Для оценки интенсивности поглощения прототипа вакцины были проанализированы пять параметров: Area<sup>ДК</sup> (площадь клетки), Area<sup>АН</sup> (площадь частиц АН в клетках), Bright Detail Intensity (интенсивность ярких деталей частиц АН), Intensity (интенсивность свечения частиц АН), Median Pixel (среднее значение пикселей частиц АН в маске).

Установлено, что количество частиц АН с адсорбированным вирусом SARS-CoV-2 в ДК сильно варьировалось. Соотношение площади клетки к площади частиц АН составило 3,04(0,60-15,48)%, минимальное значение – 0,05, максимальное – 86,59. Была установлена сильная положительная корреляционная связь между показателями Area<sup>АН</sup> /Intensity (R = 0,985, p = 0,0001), Bright Detail Intensity /Intensity (R = 0,962, p = 0,0001), Area<sup>АН</sup>/Bright Detail Intensity (R = 0,940, p = 0,0001).

Также наблюдалась умеренная положительная корреляционная связь Bright Detail Intensity/Median Pixel (R = 0,680, p = 0,0001), Intensity/Median Pixel (R = 0,675, p = 0,0001) и Area<sup>АН</sup>/Median Pixel (R = 0,570, p = 0,0001). Наличие корреляционных взаимосвязей между приведенными параметрами указывает на возможность использования любого из показателей для характеристик поглотительной способности клеток методом визуализирующей проточной цитометрии.

**Заключение.** Моноцитарные дендритные клетки характеризуются способностью поглощать прототип отечественной вакцины против COVID-19, состоящий из частиц гидроксида алюминия с сорбированным инактивированным вирусом SARS-CoV-2.

## **SERS-АКТИВНЫЕ ПОДЛОЖКИ НА ОСНОВЕ ЧЕРНОГО КРЕМНИЯ ДЛЯ ХАРАКТЕРИЗАЦИИ НАНОМАТЕРИАЛОВ И ОБНАРУЖЕНИЯ СЛЕДОВЫХ КОЛИЧЕСТВ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ**

**Голубева Е.Н., Демиденко М.И., Кулагова Т.А.**

*НИУ «Институт ядерных проблем» БГУ, Минск, Беларусь*

Поверхностно усиленная спектроскопия комбинационного рассеяния света (SERS, surface-enhanced Raman spectroscopy) – чувствительный метод, позволяющий обнаруживать вещества в сверхнизких концентрациях, а также выявлять структурные модификации аналитов. В связи с этим SERS находит широкое применение для характеристики и выявления структурных изменений наноматериалов при взаимодействии с органическими молекулами. Например, SERS эффективен при исследовании формирования комплексов с лекарственными соединениями или биodeградируемости наноматериалов, когда чувствительности традиционных методов недостаточно для выявления изменений, вызванных действием эндогенных окислителей. Точное количественное обнаружение следовых концентраций химических соединений чрезвычайно важно в медицине, мониторинге окружающей среды, фармакологии, криминалистике и т.д. Однако применение SERS для количественного анализа аналитов ограничено из-за выраженной зависимости сигнала SERS от плотности «горячих точек», флуктуаций сигнала SERS, гетерогенности и недостаточной воспроизводимости SERS-субстрата.

Черный кремний – особый вид кремния, который характеризуется высоко развитой поверхностью из суб-микроразмерных структур конической формы. Такие структуры создают регулярную основу для формирования «горячих точек», которые образуются на этих суб-микроразмерных структурах из золота при его напылении. В настоящем исследовании отработаны схемы синтеза и произведена характеристика такой поверхности из черного кремния, покрытого слоем золота толщиной в несколько десятков нанометров. Также проведено моделирование плазмонных свойств созданных структур методом конечных элементов, исследована однородность поверхности, стабильность, и возможность повторного использования различных подложек на основе черного кремния для SERS.

Было показано, что нанесение тонкого слоя золота на поверхность кремниевых конических структур привело к образованию наноразмерных золотых полусфер, формирование которых обеспечило коэффициент усиления SERS порядка  $10^8$ .

Применение разработанных поверхностей было продемонстрировано для (i) для оценки концентрации химиотерапевтического препарата доксорубуцина в диапазоне от 10 нМ до 0,1 мМ, (ii) анализа поверхностных групп нанодiamondов, полученных методом лазерного синтеза и (iii) выявления модификации структуры графеновых квантовых точек (ГКТ). SERS-подложки позволили выявить в суспензии ГКТ наличие поверхностно-активного вещества, предположительно полиэтиленгликоля-1500 (ПЭГ), добавленного для стабилизации суспензии при изготовлении фирмой Sigma. Установлено, что обработка ГКТ кислородной плазмой, позволяет удалить ПЭГ. Применение разработанных поверхностей позволило показать модификацию ГКТ под действием окислителей (пероксида водорода и хлорноватистой кислоты) в биологических жидкостях.

Разработанные поверхности обеспечили получение стабильного усиления SERS без выраженных флуктуаций и были пригодны для повторного использования. Распределение «горячих точек» является равномерным, коэффициент усиления  $\sim 10^8$ , в связи с чем разработанные поверхности из черного кремния, покрытого слоем золота, являются перспективным сенсором для количественного анализа лекарственных соединений и качественного анализа поверхностных групп наноматериалов с высокой точностью.



## ИНТЕРЛЕЙКИН-6 И ЕГО РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ COVID-19

Дембский В.В., Волченкова У.В., Григорович В.В.

*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь*

Интерлейкин-6 (IL-6) – это мультифункциональный цитокин, обладающий множественным действием на организм человека, включая участие в воспалительных процессах, иммунной защите и гемопоэзе [1]. В продукции IL-6 участвует ряд клеточных типов: моноциты, лимфоциты, фибробласты и др. [2]. Наиболее интересна его функция в качестве инициатора цитокинового шторма, поскольку существует определенная корреляция между концентрацией IL-6 и тяжестью течения коронавирусной инфекции [3]. Следует отметить, что избыточная продукция IL-6, в свою очередь, приводит к нарушению функции органов и систем организма.

Целями данной работы являются изучение роли IL-6 в развитии цитокинового шторма, исследование структурных особенностей комплекса IL-6-IL-6R.

Были изучены и визуализированы взаимодействия IL-6 с иными белковыми факторами иммунитета. Для этого была использована биоинформатическая платформа Cytoscape. В результате было показано, что рецептор к IL-6 представлен двумя макромолекулярными комплексами: специфическим для IL-6 IL-6R и общим для IL-семейства модулем gp130. Трансдукция сигнала внутрь клетки и запуск клеточного ответа осуществляется JAK-STAT3 сигнальной системой. Активация данной системы приводит к началу синтеза факторов острой фазы воспаления, среди которых и сам IL-6, в результате чего устанавливается петля положительной обратной связи. Дополнительно интенсифицируется дифференцировка T-17 хелперов, В-клеток, а также Т-киллеров.

Был проведен молекулярный докинг IL-6 с его рецептором IL-6R (Docking score: -290.41). Показано, что со стороны интерлейкина во взаимодействии с длиной связи  $<3 \text{ \AA}$  участвуют следующие аминокислоты: Arg-30, Lys-54, Gln-124, Gln-175, Arg-179, причем контакт молекул осуществляется в нескольких участках.

Результаты проведенной работы позволяют сделать следующие выводы. Картина межмолекулярного взаимодействия IL-6 и факторов иммунитета указывает на ключевую роль IL-6 как медиатора развития иммунной защитной реакции. В связи с этим разработка новых и использование уже существующих препаратов-блокаторов IL-6, JAK-STAT3-сигнальной системы и воспалительных реакций представляются перспективными. Потенциальный препарат-нефункциональный агонист IL-6 должен обладать рядом положительно заряженных групп, разнесенных на разные концы молекулы, а также группами, которые способны образовывать водородные взаимодействия.

### Библиографические ссылки

1. Mihara M., Hashizume M., Yoshida H., et. al. IL-6/IL-6 receptor system and its role in physiological and pathological conditions // *Clinical Science*. 2012. Vol. 4. P. 143–159.
2. Tanaka T., Narazaki M., Kishimoto T., et. al. Interleukin (IL-6) Immunotherapy // *Cold Spring Harbor Perspectives of Biology*. 2018. Vol. 8. P. 18–33.
3. Herold T., Jurinovic V., Arnreich C., Lipworth B., Hellmuth J., et. al. Elevated levels of IL-6 and CRP predict the need for mechanical ventilation in COVID-19 // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2020. Vol. 7. P. 128–136.

## НАКОПЛЕНИЕ ГРАФЕНОВЫХ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК КЛЕТКАМИ НЕРВНОЙ ТКАНИ КРЫСЫ *IN VIVO* И *IN VITRO*

Денисов А.А.<sup>1,3</sup>, Богданова А.В.<sup>2</sup>, Кулагова Т.А.<sup>2</sup>, Кузнецова Т.Е.<sup>3</sup>, Токальчик Д.П.<sup>3</sup>,  
Пашкевич С.Г.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>НИУ «Институт ядерных проблем» БГУ, Минск, Беларусь

<sup>3</sup>Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

В последнее десятилетие интенсифицировались исследования биомедицинских применений графена и других углеродных наноразмерных материалов. При уменьшении размера частиц графена менее 5 нм начинают проявляться их флуоресцентные свойства в результате квантовых эффектов. Такие частицы графена, называемые графеновыми квантовыми точками (ГКТ), обладают рядом перспективных применений в области визуализации биоструктур и таргетной терапии благодаря отработанным методам модификации поверхности и конъюгации с биоактивными молекулами. ГКТ обладают лучшей биосовместимостью по сравнению с некоторыми другими типами квантовых точек, содержащих ионы тяжелых металлов, и, вероятно, способны проникать через гематоэнцефалический барьер.

В данной работе мы исследовали накопление ГКТ структурами и клетками нервной ткани крысы *in vitro* и *in vivo*.

Для экспериментов использовали водную суспензию флуоресцентных ГКТ с максимумом испускания 530 нм. Опыты по введению ГКТ *in vivo* проводили с крысами линии Вистар. ГКТ вводили интраназально в концентрации 1 мг/мл в объеме 100 мкл или внутривентрикулярно в концентрации 100 мкг/мл в объеме 1000 мкл. Через 20 дней с применением криомикротомы готовили поперечные срезы мозга крыс (толщиной 8 мкм) и мазки ткани большого сальника висцеральной брюшины. Инкубацию срезов гиппокампа крыс (толщиной 500 мкм) *in vitro* с ГКТ проводили путем перфузии срезов раствором искусственной спинномозговой жидкости с содержанием ГКТ в концентрации 10 мкг/мл в течение 10 мин. Эксперименты по инкубации ГКТ с нейронами *in vitro* проводили с первичной культурой коры головного мозга крысы. Клетки культивировали в течение 15 дней, затем в среду культивирования добавляли ГКТ в концентрации 50 мкг/мл и инкубировали в течение 8 ч. Наблюдения производили при помощи флуоресцентного микроскопа Nikon Eclipse Ti2.

Получено, что после интраназального введения ГКТ происходит их гетерогенное распределение как в областях обонятельных луковиц, так и в более дистально расположенных отделах мозга. При внутривентрикулярном введении ГКТ не аккумулируются в жировой ткани. После инкубирования срезов гиппокампа раствором, содержащим ГКТ, наблюдалась более интенсивная флуоресценция в области *str. radiatum* (дендриты и аксоны) относительно слоя *str. pyramidale* (сомы пирамидальных нейронов). После инкубирования культивируемых клеток коры головного мозга крысы в среде, содержащей ГКТ, наблюдалась флуоресценция относительно контроля как тел нервных клеток, так и нейритных отростков.

Полученные данные свидетельствуют о накоплении исследуемых ГКТ клетками нервной ткани и их миграции в мозг при интраназальном введении. Эффект накопления ГКТ при инкубации срезов гиппокампа может применяться для флуоресцентной визуализации структур нервной ткани при экспериментальной работе и при разработке новых методов таргетной доставки препаратов. Дальнейшие исследования особенностей миграции и накопления графеновых квантовых точек в структурах нервной ткани актуально в связи с их возможным нейромодулирующим действием и использованием в качестве тераностического агента.

## НАПРАВЛЕННЫЙ ПЕРЕНОС ЭНЕРГИИ В КОНЦЕНТРИРОВАННЫХ РАСТВОРАХ И ХИМИЧЕСКИХ ДИМЕРАХ ТЕТРАПИРРОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Зенькевич Э.И.

*Белорусский национальный технический университет, Минск, Беларусь*

Выяснение природы концентрационных явлений в растворах тетрапиррольных соединений (в том числе и фотосинтетических пигментов) и в настоящее время не теряет своей актуальности. При межцентровых расстояниях  $R < 2$  нм (т.е. при концентрациях  $C \geq 2 \cdot 10^{-2}$  М или в химических димерах порфиринов) существенными становятся эффекты межхроморофных взаимодействий, которые могут привести к реализации качественно новых каналов дезактивации возбуждения. В докладе представлены результаты исследования такого рода эффектов, полученные для тетрапиррольных соединений на основании комплексного анализа экспериментальных данных и теоретических расчетов.

На основании спектрально-кинетических экспериментов, выполненных для хлорофилла *a* и феофитина *a* в касторовом масле и пленках поливинилбутираля при 293 К было обосновано, что в условиях неоднородного уширения электронных уровней усиление диполь-дипольных взаимодействий между мономерами с ростом  $C \geq 5 \cdot 10^{-3}$  М приводит к направленному переносу энергии по мономерам, отличающимся различной энергией взаимодействия с молекулами растворителя в объеме окружающего сольвата, т.е. от сольватов с высокими значениями частоты электронного перехода к сольватам с ее низким значением. В результате, за счет миграции энергии возбуждения с «синих» на «красные» сольваты полоса флуоресценции мономеров сдвигается в длинноволновую область на 5 нм без деформации самого контура интегрального спектра, а также наблюдается батохромное смещение «мгновенных» спектров испускания в течение  $\sim 15$  нс после возбуждающего импульса и обнаруживается монотонное возрастание длительности флуоресценции с увеличением длины волны регистрации.

В симметричных димерах этан-биспорфиринов методами селективного лазерного возбуждения (СЛВ) и выжигания спектральных провалов (ВСП) при 4,2 К исследованы эффекты межхроморофных взаимодействий, также обусловленные неоднородным уширением уровней: 1) при широкополосном возбуждении полуширина  $Q(0,0)$ -полосы в спектрах флуоресценции в 1,5 раза меньше по сравнению с таковой для  $Q(0,0)$ -полосы в спектрах возбуждения флуоресценции; 2) спектры флуоресценции димера с набором бесфононных линий наблюдаются только при СЛВ на длинноволновом краю  $Q(0,0)$ -полосы поглощения; 3) при ВСП на длинноволновом краю  $Q(0,0)$ -полосы поглощения регистрируются узкие провалы с полушириной  $\delta_{пр} = 2,4$  ГГц. Наблюдаемые эффекты обусловлены тем, что в димере из-за различного взаимодействия двух одинаковых порфиринов с локальным сольватным окружением и при отсутствии корреляции между 0-0 переходами в D-A паре происходит необратимый перенос энергии с одного макроцикла («синего» сольвата) на другой («красный» сольват). Вероятность направленного переноса между идентичными макроциклами в этан-биспорфиринах при 4,2 К составляет  $k_{экспер} = 1/\tau_S^D = 10^{11} \text{ с}^{-1}$  и существенно превышает значения  $k^{теор}$ , рассчитанные по интегралам перекрытия бесструктурных спектров.

## ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТЕЙ УМЕНЬШЕНИЯ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО СВЯЗЫВАНИЯ КОМПОНЕНТОВ ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ТЕСТ СИСТЕМ НА ПОВЕРХНОСТИ ТВЕРДОЙ ФАЗЫ, СФОРМИРОВАННОЙ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫМИ ПЛЕНКАМИ СЕРЕБРА

Коктыш И.В.<sup>1</sup>, Мельникова Я.И.<sup>1</sup>, Кулакович О.С.<sup>2</sup>, Маскевич С.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Международный государственный экологический институт им. А.Д. Сахарова БГУ, Минск, Беларусь*

<sup>2</sup> *Институт физики им. Степанова НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Применение спектрального инструментального оборудования позволяет осуществлять эффективную детекцию биоаналитов, в этом случае в качестве метки используются вещества, обладающие люминесцентными, флуоресцентными или иными спектральными свойствами. В качестве оптических преобразователей разнообразных биоспецифических взаимодействий широко используются наночастицы металлов, таких как золото и серебро, что позволяет сочетать в одной экспериментальной системе явление плазмонного резонанса и флуоресценции. Создание иммунохимических биоаналитических тест систем с использованием флуоресцентного метода детекции является современным биотехнологическим подходом, позволяющим повысить уровень чувствительности определения биологических веществ.

**Целью данной работы** являлось изучение возможностей уменьшения неспецифического связывания компонентов иммунофлуоресцентных тест систем на поверхности твердой фазы, сформированной наноструктурированными пленками серебра.

**Материалы и методы исследования:** нитрат серебра; цитрат натрия; полидиаллилдиметиламмоний хлорид (ПДАДМАХ), иммуноглобулин, меченый флуоресцеином (IgG-FITC). Золь серебра был синтезирован по методу цитратного восстановления нитрата серебра. Серебряные наночастицы осаждали в лунки полистирольного планшета методом электростатического осаждения с разным временем экспозиции от 1 до 24 ч. На полученные нанопленки серебра наносился раствор ПДАДМАХ в разных концентрациях. Иммуобилизация иммуноглобулина, меченого флуоресцеином изотианатом (IgG-FITC), проводилась в течение 4 ч при +37 °С. Затем в лунках планшета инкубировали растворы БСА в концентрации 1%, 5% и 10% в течение 4 ч при +37 °С. Затем в планшет вновь вносили IgG-FITC инкубировали в течение 4 ч при +37 °С. Для регистрации спектров флуоресценции применялся планшетный ридер CLARIOstarPlus (BMG Labtech, Германия). Статистическая обработка результатов измерений проводилась с помощью пакета программы Statistica.

**Результаты.** Формирование поверхностной структуры и плотности заполнения поверхности наноструктурированных пленок серебра зависит от условий, в которых проводится электростатическое осаждение наночастиц серебра из золя. В экспериментах использовались нанопленки AgNP1, AgNP2, AgNP3, среди которых нанопленка AgNP1 отличалась наименьшим коэффициентом заполнения.

В случае, если нанопленки серебра были покрыты поликатионным полиэлектролитом ПДАДМАХ в стандартной концентрации, использование 1% БСА и 10% для снижения неспецифического связывания было эффективно только для нанопленки AgNP2. Применение 5% БСА предотвращало неспецифическое связывание практически полностью на всех изучаемых нанопленках. Увеличение поверхностной концентрации ПДАДМАХ на нанопленках в два раза, изменяет условия неспецифической сорбции белка таким образом, что 1% БСА эффективно предотвращает неспецифическую иммобилизацию белка на всех изучаемых видах нанопленок, 5% БСА эффективен только при использовании AgNP1 и AgNP2, а 10 % БСА – только для нанопленки AgNP2.

**Выводы.** Поверхностная концентрация поликатионного полиэлектролита ПДАДМАХ на поверхности наноструктурированных пленок серебра оказывает влияние на условия неспецифической сорбции белковых молекул и возможности использования БСА для снижения неспецифического связывания белков в иммунохимических тест системах. Наиболее эффективными концентрациями БСА для изучаемых условий являются 1% и 5 % БСА.

## ПРОГРАММНОЕ ОКРАШИВАНИЕ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ СРЕЗОВ ТКАНЕЙ ПО СПЕКТРАМ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК CdSe/ZnS

Копыцкий А.В.<sup>1</sup>, Хильманович В.Н.<sup>1</sup>, Стречко В.Д.<sup>2</sup>, Мотевич И.Г.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

<sup>2</sup>Гродненский государственный университет им. Я. Купалы, Гродно, Беларусь

В настоящее время активно исследуются возможности применения квантовых точек (КТ) для исследования биологических объектов, в частности, в гистологии и морфологии. КТ могут являться не только красителями гистологических срезов тканей, но и способны также менять свои свойства в зависимости от окружения. Это позволяет получать дополнительную информацию о свойствах окружения, и КТ в таком случае выступают нанозондами. В этом аспекте КТ CdSe/ZnS являются перспективными для окрашивания и исследования прозрачных биологических объектов, так как их спектры люминесценции зависят от локальных параметров (например, температуры, pH). Таким образом, изучая распределение спектров люминесценции КТ по образцу, мы можем делать заключения о распределении локального параметра по нему.

Цель настоящего исследования – разработка программного метода построения распределения локального параметра (pH) по спектрам люминесценции КТ CdSe/ZnS в гистологическом срезе ткани.

Для достижения поставленной цели был решён ряд задач. При помощи конфокального микроскопа «Nano Finder 30» были записаны спектры люминесценции в 4000 точках образца (гистологического среза ткани), окрашенного квантовыми точками (КТ) CdSe/ZnS, на 1024 длинах волн (диапазон 450-760 нм). Далее был разработан алгоритм обработки полученного массива данных, содержащего 200×200×1024 значений интенсивности люминесценции на различных длинах волн в точках образца. Согласно данному алгоритму, сначала в каждой точке находится Штарковский спектр, как разность между спектром в данной точке и спектром КТ CdSe/ZnS в pH-нейтральном водном растворе. Далее в каждой точке определяются 2 расстояния Канберры: между спектром Штарка и первой производной спектра КТ в водной нейтральной среде, между спектром Штарка и второй производной спектра КТ в водной нейтральной среде. Показано, что спектр Штарка для КТ может меняться при различных значениях pH [1]: при низких pH он ближе ко второй производной спектра КТ, при нейтральном и высоком значениях – к первой. По вычисленным расстояниям делается заключение о том, какая дистанция Канберры является наименьшей, и в зависимости от этого данная точка относится к одному из 2 типов: с нейтральным или высоким pH, либо – с низким pH. После этого цветом кодируется тип точки: розовым – с низким pH, фиолетовым – с нейтральным или высоким. Степень близости к одному из двух типов pH конвертируется в яркость точки: тем меньше расстояние Канберры – тем выше яркость.

Таким образом, описанный алгоритм позволяет построить распределение локального параметра (pH) по спектрам люминесценции КТ CdSe/ZnS.

### Библиографические ссылки

1. Мотевич, И.Г. Эффект Штарка и наночастицы на основе CdSe/ZnS для субклеточного зондирования локального pH / И.Г. Мотевич, В.Д. Стречко, С.А. Маскевич // Сахаровские чтения 2019 года: экологические проблемы XXI века : материалы 19-й международной научной конференции, 23–24 мая 2019 г., г. Минск, Республика Беларусь : в 3 ч. / МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ; редкол. : А. Н. Батян [и др.] ; под ред. С. А. Маскевича, С. С. Позняка. – Минск : ИВЦ Минфина, 2019. – Ч. 3. – С. 208-212.

## ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ГРАФЕНОВЫХ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК

Кулагова Т.А.<sup>1</sup>, Бичан О.Д.<sup>2</sup>, Голубева Е.Н.<sup>1</sup>, Кохан А.Ю.<sup>3</sup>, Шамова Е.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>НИИ «Институт ядерных проблем» БГУ, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

<sup>3</sup>Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Флуоресцентные графеновые квантовые точки (ГКТ) являются перспективными для разработки лекарственных форм препаратов и новых подходов противоопухолевой терапии. Кинетика и эффективность средств диагностики и терапии с использованием ГКТ будут зависеть от микроокружения опухоли. Взаимодействие наноматериалов с белками и клетками крови может влиять на процессы тромбообразования, что существенно осложнит биомедицинское применение таких препаратов. Цель работы – исследовать взаимодействие ГКТ с тромбоцитами крови человека.

Методом флуоресцентной микроскопии установлено, что ГКТ накапливаются на поверхности тромбоцитов. Выявлено, что ГКТ не вызывают агрегацию тромбоцитов в обогащенной тромбоцитами плазме, однако усиливают АДФ-зависимое образование агрегатов. Совместное добавление ГКТ и АДФ усиливает агрегацию тромбоцитов, что свидетельствует об аддитивном эффекте данных веществ на активацию одного или нескольких рецепторов клеток. В солевом буферном растворе ГКТ (1-100 мкг/мл) концентрационнонезависимым образом индуцируют агрегацию клеток в отсутствие дополнительных агонистов. При этом формируется большое количество сфероидных агрегатов, на поверхности которых расположены прокоагулянтные тромбоциты.  $\gamma$ 12 и фосфатидилиназитол-3-киназы в механизмах ГКТ-индуцированной агрегации тромбоцитов.

Методом локальной фиксации потенциала (пэтч-кламп) измерена проводимость одиночных ионных каналов и изменение трансмембранного потенциала тромбоцитов. В условиях, исключающих межклеточные контакты (без перемешивания), не было выявлено значимых различий регистрируемых параметров в присутствии и отсутствии ГКТ (50 мкг/мл), что свидетельствует об отсутствии процессов активации тромбоцитов. Полученные данные позволяют предположить, что в присутствии ГКТ в условиях перемешивания сначала происходит установление межклеточных контактов (адгезия), а потом активация тромбоцитов.

На основании проведенного ингибиторного анализа предложен следующий механизм агрегации тромбоцитов при действии ГКТ: при добавлении к суспензии тромбоцитов наноматериала и реализации межклеточных взаимодействий происходит активация тромбоцитов с участием  $\text{P2Y}_{12}$ -зависимой сигнализации: ингибирование аденилатциклазы и снижение внутриклеточной концентрации цАМФ, а также активация фосфатидилинозитол-3-киназы. Образование прокоагулянтных тромбоцитов на поверхности агрегатов обуславливает формирование их сфероидных форм.

Таким образом, ГКТ накапливаются в тромбоцитах, приводят к агрегации и активации, а также образованию прокоагулянтной субпопуляции клеток. Наличие в среде белков плазмы крови предотвращает агрегацию тромбоцитов.

## ОЦЕНКА ПАРАМЕТРОВ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО СВЯЗЫВАНИЯ БЕЛКОВЫХ МОЛЕКУЛ НА ПОВЕРХНОСТИ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫХ ПЛЕНОК СЕРЕБРА, ПОКРЫТЫХ ПОЛИЛИЗИНОМ

Мельникова Я.И.<sup>1</sup>, Коктыш И.В.<sup>1</sup>, Кулакович О.С.<sup>2</sup>, Маскевич С.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Международный государственный экологический институт им. А.Д. Сахарова БГУ, Минск, Беларусь,*

<sup>2</sup> *Институт физики им. Степанова НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

В настоящее время наночастицы металлов, в частности золота и серебра и их композиты широко используются как эффективные оптические преобразователи разнообразных биоспецифических взаимодействий. Это обеспечивается сочетанными явлениями плазмонного резонанса, присущего наночастицам, и флуоресценции, свойственной кластерным соединениям. Количественная оценка меченых комплексов позволяет вычислять точную концентрацию анализируемого соединения в пробе с использованием калибровочных кривых. В этих условиях вопрос неспецифической сорбции компонентов иммунохимической тест системы на нанопленках серебра приобретает особое значение, так как наличие этого фактора будет приводить к искажению результатов конструируемой аналитической модели.

**Целью данной работы** было изучение неспецифической сорбции компонентов иммунохимической тест системы на поверхности нанопленок серебра различной структуры, покрытых поликатионным полиэлектролитом полилизинном.

**Материалы и методы исследования:** нитрат серебра; цитрат натрия; поли-L-лизин гидробромид (поли-L-лизин); хлорид натрия; иммуноглобулин, меченый флуоресцеином (IgG-FITC), бычий сывороточный альбумин (BSA). Эксперименты проводились в прозрачных 96-луночных полистирольных планшетах для иммуноанализа (Greiner, Австрия). Наночастицы серебра фиксировались на модифицированную поверхность лунок полистирольных планшетов методом электростатического осаждения с разным временем экспозиции от 1 до 24 ч. На полученные нанопленки серебра наносился раствор поли-L-лизина в разных концентрациях. Иммунизация иммуноглобулина, меченого флуоресцеином (IgG-FITC), проводилась в течение 4 ч при +37 °С. Затем в лунках планшета инкубировали растворы БСА в концентрации 1%, 5% и 10% в течение 4 ч при +37 °С. Затем в планшет вновь вносили IgG-FITC инкубировали в течение 4 ч при +37 °С. Для регистрации спектров флуоресценции применялся планшетный ридер CLARIOstarPlus (BMG Labtech, Германия). Статистическая обработка результатов измерений проводилась с помощью пакета программы Statistica.

**Результаты.** В экспериментах использовали нанопленки серебра различной структуры и плотности покрытия наночастицами AgNP1, AgNP2, AgNP3, которые отличались по физико-химическим свойствам. При покрытии нанопленок серебра поли-L-лизинном в стандартной концентрации было установлено, что использование 1% БСА для уменьшения неспецифического связывания IgG-FITC неэффективно для нанопленок AgNP1 и AgNP2, но может быть использовано для нанопленки AgNP3. 5% БСА предотвращает неспецифическое связывание на всех использованных нанопленках. 10% БСА не снижает неспецифического связывания IgG-FITC на нанопленке AgNP1, но может быть использован на нанопленках AgNP2 и AgNP3. При использовании для покрытия нанопленок поли-L-лизина в концентрации в два раза превышающей стандартную, было выявлено полностью неэффективное использование 1% БСА для снижения неспецифического связывания, но в экспериментах с применением 5% и 10% БСА неспецифическое связывание IgG-FITC было практически сведено к нулевым значениям.

**Выводы.** Использование бычьего сывороточного альбумина для поверхностной иммобилизации, снижающей возможность неспецифического связывания белков на структурированных нанопленках серебра, покрытых поликатионным полиэлектролитом поли-L-лизинном, зависит от вида полиэлектролита и его поверхностной концентрации. Наиболее эффективными концентрациями БСА в изученных экспериментальных условиях являются 5% и 10%.

## ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДАМИ КОМПЬЮТЕРНОЙ СТРУКТУРНОЙ БИОЛОГИИ ПОСТТРАНСЛЯЦИОННОЙ РЕГУЛЯЦИИ БЕЛКА PD-L1 БЕЛКАМИ СМТМ6 И СМТМ4

Назаренко П.С.<sup>1</sup>, Перепечко С.А.<sup>1</sup>, Урбан В.А.<sup>2</sup>, Вересов В.Г.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Белорусский Государственный Университет, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Ингибирующий рецептор PD-1 (белок программируемой клеточной гибели), индуцируемый в активированных Т-клетках, и его лиганд PD-L1 на антигенпрезентирующих клетках (АПК) представляют собой иммунные контрольные точки, которые негативно регулируют активность Т-клеток и, таким образом, участвуют в поддержании иммунного баланса млекопитающих [1]. Белок PD-L1 часто экспрессируется на поверхности раковых клеток, что позволяет последним уходить от иммунного ответа посредством связывания этого белка с белком PD-1. Клинически значимым для пациентов с различными типами метастазирующего рака стала блокада с использованием антител пути взаимодействия между белком (PD-1) и его лигандом (PD-L1), экспрессируемым на поверхности раковых клеток, что позволило существенно продлить жизнь больных раком [2]. Белки СМТМ6 и СМТМ4 способствуют прогрессированию опухоли и модулируют опухолевый иммунитет, регулируя стабильность PD-L1, связываясь с ним и препятствуя его убиквитинированию; однако механизмы этих процессов недостаточно ясны [2]. В настоящей работе, с целью установления этих механизмов, были применены методы компьютерной молекулярной структурной биологии, молекулярный докинг и метод молекулярной динамики для моделирования структур комплексов белков СМТМ6 и СМТМ4 с белком PD-L1. Было установлено, что при связывании с этими белками происходит структурное блокирование сайта связывания убиквитина белка PD-L1, что способствует его защите от протеосомальной деградации.

### Библиографические ссылки

1. Patsoukis N., Wang Q., Strauss L., Boussiotis V. A.. Revisiting the PD-1 pathway. //Sci Adv. 2020. Vol. 6(38). P. eabd2712
2. Sun C., Mezzadra R., Schumacher T. N. Regulation and Function of the PD-L1 Checkpoint. Immunity. //2018. Vol. 48(3). P. 434-452



## ФОРМИРОВАНИЕ И СВОЙСТВА НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСА САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ И Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-КИСЛОРОДСОДЕРЖАЮЩЕГО ГРАФЕНА С ПЕРЕКЛЮЧАЕМОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ ФУНКЦИЕЙ

Радюк Д.В.,<sup>1</sup> Михновец Л.А.,<sup>1</sup> Абашкин В.М.,<sup>2</sup> Хамицевич А.А.,<sup>3</sup> Щербин Д.Г.,<sup>2</sup>  
Бурко А.А.,<sup>1</sup> Кречотень Н.А.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники,  
Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>3</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

<sup>4</sup>Научно-технический центр “Белмикросистемы”, Минск, Беларусь

Нестероидные противовоспалительные вещества широко применяются во всём мире на протяжении многих десятков лет в качестве эффективных жаропонижающих и болеутоляющих средств. Однако неполное понимание влияния структуры на физико-химические свойства таких лекарств затрудняет выбор эффективной уменьшенной дозы, а также элиминации возможных побочных эффектов. Известно, что металлокомплексы с данными веществами проявляют улучшенные противоопухолевые, антиоксидантные и противомикробные действия. Но свойства самих лекарственных металлокомплексов трудно контролировать в биологической среде из-за неустойчивой структуры при контакте с биомолекулами.

Целью данной работы является разработка одношагового ультразвукового метода (20 кГц) для комплексообразования салициловой кислоты с Fe-O при формировании фазы магнетита с кислородсодержащим графеном. В результате ультразвукового процесса были получены гетерогенные наночастицы (~10 нм) с определенной электронно-молекулярной структурой, в которой лиганды салициловой кислоты образуют специфический Fe(III)/Fe(II) комплекс. Исходя из анализа оптической микроскопии и флуоресцентной спектроскопии, можно сделать вывод о подавлении пролиферации раковых клеток трех линий (HeLa, HepG2, HT29) под действием синтезированных наночастиц в сравнении с салициловой кислотой *per se*. Эффективность ингибирования наночастиц можно контролировать при контакте с лигандами аскорбиновой кислоты.

Разработанный метод можно применить к другим лекарственным веществам с целью улучшенного понимания внутриклеточных взаимодействий пар “лекарство-фермент” и “лекарство-металл”.

## ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИЯ ПЛАЗМОННОЙ ПОВЕРХНОСТИ ДЛЯ ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНОГО АНАЛИЗА БИОМОЛЕКУЛ МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ ГИГАНТСКОГО КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ

Ранишенка В.В.<sup>1</sup>, Панарин А.Ю.<sup>2</sup>, Терехов С.Н.<sup>3</sup>, Челнокова И.А.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Институт физико-органической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>ГНПО «Оптика, оптоэлектроника и лазерная техника», Минск, Беларусь

<sup>3</sup>Институт физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>4</sup>Институт радиобиологии НАН Беларуси, Гомель, Беларусь

Спектроскопия гигантского комбинационного рассеяния (ГКР) – высокочувствительный оптический метод неdestructивного анализа вещества. Приоритетными с практической точки зрения объектами исследования являются биологические аналиты. Для усиления сигнала ГКР используют наноструктурированные материалы с плазмонными свойствами - ГКР-активные субстраты. Поскольку эффект ГКР является короткодействующим, для его реализации требуется обеспечение практически непосредственного контакта молекул аналита с металлом. Как правило, плазмонные структуры обладают избыточным поверхностным зарядом. Следовательно, заряд аналита играет ключевую роль в процессе его сорбции. В этой связи, разработка методов функционализации плазмонных структур с целью увеличения их сродства с заряженными молекулами аналита является важной задачей для расширения круга аналитических приложений спектроскопии ГКР.

В данной работе нами были синтезированы наночастицы (НЧ) серебра и методом адсорбционной иммобилизации на стеклянных подложках приготовлены образцы ГКР активных субстратов. В качестве соединений-аналитов использовались катионный Cu(II)-5,10,15,20-тетраakis(4-N-метилпиридиний) порфирина (CuTMpурP4) и анионный олигонуклеотид с красителем ВНQ1: 5'ССТGCGATCTCTCTATCCAG[ВНQ1]3' (oligo-ВНQ). Олигонуклеотиды являются наиболее подходящими биомолекулами для изучения электростатического взаимодействия из-за их сильного отрицательного заряда, что было недавно показано для биоконъюгации НЧ [1].

Исходные НЧ серебра имели отрицательный заряд. С целью изменить заряд плазмонной поверхности была осуществлена модификация наночастиц различными реагентами (хлорид лития, полиэтиленимин (ПЭИ), меркаптопропионовая кислота (МРА), полигексаметиленгуанидин (ПГМГ) и многозарядные ионы металлов). Анализ данных ГКР катионного CuTMpурP4, осажденного на поверхность ГКР-активного субстрата показал, что обработка плазмонной поверхности ПЭИ, ПГМГ и хлоридом лития приводит к значительному 3-4х кратному увеличению сигнала. Для образца, приготовленного путём обработки МРА, происходило уменьшение интенсивности ГКР CuTMpурP4 примерно в 2 раза по сравнению с субстратом без модификации поверхности. Из ряда различных модификаций только добавление ионов меди в раствор позволило значительно увеличить сигнал ГКР oligo-ВНQ. Учитывая сильное взаимодействие ионов меди с молекулами олигонуклеотидов, мы полагаем, что ключевую роль в этом случае сыграла инверсия заряда аналита, а не изменение заряда плазмонной поверхности. Изменение заряда аналитов может быть многообещающим способом получения интенсивных спектров ГКР отрицательно заряженных молекул на наноструктурных серебряных субстратах.

Работа выполнена при финансовой поддержке ГПНИ «Фотоника и электроника для инноваций 1.8».

### Библиографические ссылки

1. Ranishenka, V., Ulashchik, E., Radchanka, A., Shmanai, V., Artemyev, M. // ChemNanoMat. 2020. Vol. 6. P. 292–297.

## БИОАНАЛИТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОЦЕНКИ ЛИГАНД-СВЯЗЫВАЮЩЕЙ И ИММУНОХИМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЕЙ РЕКОМБИНАТНОГО РЕЦЕПТОРА БЕТА-ЛАКТАМНЫХ АНТИБИОТИКОВ BlaR-CTD

Серченя Т.С.<sup>1</sup>, Горбачева И.В.<sup>1</sup>, Семижон П.А.<sup>2</sup>, Счесленок Е.П.<sup>2</sup>, Вашкевич И.И.<sup>1</sup>, Свиридов О.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Минск, Беларусь

Аналитические системы на основе лиганд-рецепторного взаимодействия являются перспективным и новым биотехнологическим направлением создания тест-систем для выявления антибиотиков в продуктах питания. В таких системах применяют бактериальные белки, которые *in vivo* выполняют функции рецепторов антибиотиков в клеточных системах лекарственной устойчивости. Трансмембранный рецепторный белок BlaR связывает бета-лактамы антибиотики, главным образом пенициллины и цефалоспорины, и играет роль сенсора-трансдуктора синтеза бета-лактамаз. BlaR-CTD представляет собой внеклеточный С-концевой домен мультимодульного белка и содержит рецепторный сайт. Процесс получения такого белка в активной форме характеризуется рядом сложных стадий продуцирования и очистки.

Мы разработали рецепторно-ферментную аналитическую систему для установления активности рекомбинатного BlaR-CTD, необходимую при контроле выходов активного белка на стадиях продуцирования и очистки, установлении факторов, влияющих на его структурно-функциональные свойства, и при оценке стабильности этого рецептора в различных условиях технологической обработки и хранения. Особенностью этой тест-системы является оценка двух независимых биоспецифических реакций BlaR-CTD, включающих его взаимодействия за счет рецепторного сайта и при участии иммунореактивных эпитопов. В ходе анализа рецепторный белок сначала связывается посредством своего активного центра с бета-лактамым антибиотиком в составе конъюгата с инертным белком, иммобилизованным на внутренней поверхности лунки полистирольного микропланшета. Затем экспонированный в раствор иммунореактивный фрагмент структуры связанного рецептора в роли антигена взаимодействует с очищенными поликлональными антителами к BlaR-CTD, конъюгированными с пероксидазой из корней хрена. Концентрация активного рецептора в исследуемых пробах определяется по градуировочной кривой, построенной по калибровочным пробам с возрастающим содержанием интактного BlaR-CTD в диапазоне 5-200 нг/мл. Анализ занимает не более 1,5 ч. Аналитическая чувствительность полностью соответствует назначению системы и составляет 2 нг/мл, коэффициент вариации результатов определений находится в пределах 5-7%.

Применение тест-системы позволило провести специальное исследование и найти количественные показатели содержания BlaR-CTD во фракциях его гетерологической экспрессии и хроматографической очистки последовательно на металлохелатной колонке и гидроксапатите. Измерено содержание активного белка на каждой из стадий выделения и установлено, что общий выход очищенного BlaR-CTD составляет до 21%. Для биоаналитического применения полученного рецептора как базового реагента тест-систем контроля содержания остаточных количеств бета-лактамы антибиотиков в пищевой продукции изучена его стабильность при хранении в течение 1 и 6 месяцев при температурах  $-70^{\circ}\text{C}$ ,  $-20^{\circ}\text{C}$  или  $+4^{\circ}\text{C}$ , в различных буферных средах, в том числе со стабилизирующими наполнителями. Показано, что наиболее полно рецепторные свойства BlaR-CTD сохраняются при его сублимационной сушке и выдерживании в виде лиофилизованного препарата. Активность BlaR-CTD оставалась прежней или лишь незначительно падала при его хранении в буферных растворах, содержащих белковые наполнители и глицерин, в температурном диапазоне от  $-70^{\circ}\text{C}$  до  $+4^{\circ}\text{C}$ . В случае выдерживания этого белка в буферном растворе без наполнителей оптимальным является замораживание при  $-70^{\circ}\text{C}$ , при этом допускается двукратное размораживание/замораживание. В таких условиях активность BlaR-CTD составляла 95-100%. Исследована структурно-функциональная стабильность BlaR-CTD при действии ряда хаотропных агентов, таких как мочевины и гуанидингидрохлорид. Найден оптимальный диапазон pH среды (5-8) для лиганд-рецепторного взаимодействия. Таким образом, в результате работы получен рекомбинатный микробный рецептор бета-лактамы антибиотиков BlaR-CTD и разработана новая эффективная система для установления его активности и стабильности в процессах экспрессии, очистки и биоаналитического применения.

## **ЗМЭНЫ Ў БЯЛКОВАЙ СТРУКТУРЫ АЛЬБУМІНА І ТРАМБІНА ПАД УПЛЫВАМ АМФІФІЛЬНЫХ ФОСФАТНА-СОЛЕВЫХ БУФЭРАў**

**Церахава М.М.<sup>1</sup>, Магіера Я.<sup>2</sup>, Іонаў М.<sup>2</sup>, Ціў Дж.<sup>3</sup>, Мажараль Ж.-П.<sup>3</sup>, Брышэўска М.<sup>2</sup>, Шчарбін Д.Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Інстытут біяфізікі і клетачнай інжынерыі НАН Беларусі, Мінск, Беларусь*

<sup>2</sup>*Лодзінскі Універсітэт, Лодзь, Польшча*

<sup>3</sup>*Нацыянальны цэнтр навуковых даследаванняў, Тулуза, Францыя*

Амфіфільныя дэндроны з'яўляюцца звышразгалінаванымі монадысперснымі сінтэтычнымі наначасткамі, якія па сваёй структуры нагадваюць асобныя галіны дэндрымераў. Узаемадзеянні ў водным раствору паміж такімі галінамі забяспечваюцца наяўнасцю гідрафобных факальных груп у пункце пачатку разгалінавання дэндронаў, што дазваляе ім утвараць у водным асяроддзі міцэлападобныя структуры. На супрацьлеглым баку асобных малекул дэндроны нясуць тэрмінальныя групы – як правіла, гідрафільныя, якія забяспечваюць узаемадзеянні гэтых наначастак з навакольным асяроддзем, у тым ліку, з клеткамі. Хімічная мадыфікацыя факальных і тэрмінальных груп, а таксама будовы саміх галін дазваляе варыяваць іх біяхімічныя ўласцівасці, што і даследуецца ў дадзенай працы на прыкладзе даследавання ўплыву розных па хімічнай структуры амфіфільных дэндронаў на другасную структуру і канфармацыю чалавечых альбуміну і трамбіну.

Даследаванні амфіфільных дэндроны адрозніваліся па генерацыі (першая і другая) і будове тэрмінальных і факальных груп. Уплыў амфіфільных дэндронаў на альбумін і трамбін быў даследаваны з дапамогай метадаў тушэння трыптафанавай флуарэсцэнцыі і кругавога дыхраізму. Для даследаванняў выкарыстоўваліся бялкі сывараткі крыві: чалавечы сываратачны альбумін і чалавечы трамбін. Растворы бялкоў для даследавання трыптафанавай флуарэсцэнцыі рыхтаваліся ў фасфатна-селевым буферы, рН 7,4, для кругавога дыхраізму – у фасфатным буферы, рН 7,4. Канцэнтрацыі амфіфільных дэндронаў складалі ад 0 да 10 мкМ.

Даследаванне тушэння трыптафанавай флуарэсцэнцыі дазволіла ацаніць ступень уплыву амфіфільных дэндронаў на канфармацыю амльбуміну і трамбіну, бо змены ў бялковай глобуле прыводзяць да змен у выхадзе флуарэсцэнцыі, што звязана са змяненнем гідрафобнасці мікраасяроддзя трыптафанілаў у яе складзе. У выніку даследавання было выяўлена, што ўплыў амфіфільных дэндронаў на канфармацыю белковых малекул у першую чаргу залежыць ад будовы тэрмінальных груп. Так пад уплывам дэндронаў з піперыдзінавымі тэрмінальнымі групамі графік тушэння флуарэсцэнцыі выходзіў на плато ўжо пры канцэнтрацыі дэндронаў ~4 мкМ, прычым інтэнсіўнасць складала ~40% адносна кантролю, тады як у выпадку з піралідзінавымі выхад на плато адбываўся пры канцэнтрацыі не менш за 5 мкМ, і яго інтэнсіўнасць складала не больш за 20% адносна кантролю. Таксама дэндроны з піперыдзінавымі тэрмінальнымі групамі прыводзілі да зрушэння палажэння максімуму флуарэсцэнцыі ў кароткахвалёвую вобласць.

Метад кругавога дыхраізму выкарыстоўваецца для даследавання аптычна актыўных малекул, што дазваляе ўскосна ацаніць змены ў другаснай структуры бялковых малекул. У выніку даследавання высветлілася, што ўплыў амфіфільных дэндронаў на другасную структуру бялкоў у найбольшай ступені вызначае іх генерацыя. Так дэндроны другой генерацыі мацней змянялі другасную структуру бялкоў, чым дэндроны першай генерацыі, а таксама агулам уплыў дэндронаў на малекулы трамбіну быў меншым, чым на малекулы альбуміну.

Дадзенае даследаванне падтрыманае Беларускай рэспубліканскай фундаментаальных даследаванняў і Дзяржакамітэтам РБ па навуцы і тэхналогіях, грант Б20СЛКГ-002.

**КЛЕТОЧНАЯ ИНЖЕНЕРИЯ И  
КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ**

## **АНАЛИЗ ИЗОБРАЖЕНИЙ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ФОРМИРОВАНИЯ НЕЙРОННОЙ СЕТИ НА СУБСТРАТЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ**

**Денисов А.А.<sup>1,2</sup>, Никифоров А.В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

<sup>2</sup>*Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Развитие современных биоинженерных методов исследования функционирования нервной ткани и разработка соответствующих биомедицинских приложений сопровождается разработкой новых материалов для тканеинженерных конструкций. При этом бывает необходимо исследование свойств биосовместимости материала с нервными клетками или его влияние на дифференцировку стволовых клеток в нейрональном направлении. Необходимость анализа развития сложной системы нейритов делает работу по исследованию морфологии культивируемых нейронов более сложной по сравнению с другими типами клеток. Многие методы анализа рассчитаны на работу с изображениями, полученными методами флуоресцентной микроскопии, но окрашивание культуры нейронов на нестандартном субстрате может быть трудоемким этапом.

Целью работы являлась разработка программного конвейера обработки фазоконтрастных изображений культивируемых нейронов для оценки их взаимодействия с субстратом культивирования. Для анализа использовали изображения нейронов коры головного мозга крысы, культивируемых на подложке из пиролитического углерода, применяли программный пакет ImageJ и библиотеки обработки изображений на языке Python.

Первым этапом в разработанном конвейере обработки данных является нормализация яркости и контрастности, поскольку изображения клеток на покрытиях разной толщины имеют разную яркость в проходящем свете. Далее для выделения основных объектов (тел нейронов и нейритов) использовали методы бинаризации, детектирующие нужные объекты на основе порога яркости. Затем к изображению применяли операцию заполнения, которая позволяет дозаполнить тела нейронов, потерявших фрагменты после бинаризации. Далее следует операция эрозии, целью которой является устранение мелких объектов, не представляющих интереса, которые характерны для фазоконтрастных изображений первичной культуры нейронов. В итоге на данном этапе генерируется бинарная маска, которая повторяет контуры тел нейронов и может быть использована для дальнейшего количественного анализа. Для анализа нейритов применяется бинаризация с соответствующими настройками выделения нейритов и детектированием границ. Далее применяется операция скелетонизации, в результате которой полученное бинарное изображение представляется в виде набора линий, характеристики и взаимное расположение которых позволяют составить описание развития нейронной сети.

В ходе исследования также протестированы несколько нейросетевых моделей (архитектуры YoloV3, YoloV5, Faster R-CNN), которые использовали как при решении задачи сегментации (классификации фрагментов изображения), так и детектирования. В целом, анализ фазоконтрастных изображений культивируемых нейронов с применением классических алгоритмов обработки изображений является сложной задачей, требующей от оператора ручной настройки многих параметров обработки на различных этапах программного конвейера. Для нейросетевых же подходов характерна более высокая гибкость и адаптивность, способность подстройки к изменяющимся характеристикам изображения. Вместе с тем, они требуют особого предварительного этапа подготовки – обучения на размеченных наборах данных, представляющих из себя выборку изображений, на которых выделены и классифицированы требуемые объекты.

## **БИМЕДИЦИНСКИЕ КЛЕТОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ НА ОСНОВЕ ФИБРОБЛАСТОВ И КЕРАТИНОЦИТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ КОЖИ**

**Квачева З.Б., Василевич И.Б., Пинчук С.В., Полешко А.Г., Бутенко А.В.,  
Волоотовский И.Д.**

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Биомедицинские клеточные продукты (БМКП) используются для лечения пациентов с приобретенными дефектами кожи (трофические язвы, ожоги, свищи, рубцовые и возрастные атрофии и др.). В мире производится ряд коммерческих клеточных продуктов хорошо себя зарекомендовавших при восстановлении целостности и функций кожного покрова. В Республике Беларусь проблема лечения ожогов и послеожоговых рубцовых и атрофических изменений кожи является актуальной, поскольку распространенность ожогового травматизма не снижается и остается на уровне других стран.

Этапы наших исследований, предшествующие созданию БМКП, включали в себя оптимизацию условий выделения из кожи и экспрессного наращивания *in vitro* фибробластов и кератиноцитов с целью получения их биомассы. Исследовали морфологию, фенотип, структуру фибробластов и кератиноцитов в различных условиях культивирования и под воздействием факторов роста, гормонов. Показано, что популяция как фибробластов, так и кератиноцитов гетерогенна; в условиях культуры возможно поддержание и наращивание стволовых и прогениторных клеток, способных к длительному сохранению жизнеспособности, пролиферативной активности и стабильности фенотипа в пассажах. Эти данные подтверждены наличием поверхностных маркеров CD, 90, 105, 73, виментина, фибронектина для фибробластов и наличием маркеров K19, нестина, CD49f для кератиноцитов. Разработаны «Способ получения и фибробластов человека для трансплантации в условиях культуры» (патент РБ №18841), «Способ получения культуры эпидермальных кератиноцитов человека и способ получения биополимерной композиции для восстановления кожного покрова человека» (патент РБ №18533). Полученные результаты явились основой для производства БМКП: «Культура фибробластов дермы человека ТУ ВУ100217351.008-2019», «Эквивалент тканевой кожи человека ТУ ВУ100217351.011-2020», который представляет собой культивированные фибробласты и кератиноциты [1]. Данные препараты разрешены к применению в учреждениях здравоохранения Республики Беларусь и используются для лечения трофических язв, ожогов 2-3 степени, возрастных изменений кожи, а также в контрольно-испытательных и научных исследованиях в биологии и медицине. Произведено 1 150 млн аутологичных фибробластов и кератиноцитов для приготовления БМКП, которые показали высокую эффективность в лечении более 70 пациентов с заболеваниями кожи. В настоящее время в направлении усовершенствования и оптимизации методов лечения ожоговых травм в Институте проводятся исследования по приготовлению, заготовке и криохранению диплоидных линий аллогенных клеток кожи доноров, а также по разработке новых отечественных биodeградируемых раневых покрытий в качестве матриц для клеток, что позволит в более короткие сроки начать лечение пациентов.

### **Библиографические ссылки**

1. Бутенко А.В., Квачева З.Б., Василевич И.Б., Часнойть А.Ч., Волоотовский И.Д. Тканевой эквивалент кожи – клеточный продукт на основе кератиноцитов и фибробластов кожи человека: свойства компонентов эквивалента и перспективы использования продукта на практике // Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия биологических наук. 2021. Т. 66, Вып. 4. С.391-401.

## КЛЕТОЧНЫЕ ЛИНИИ ЭНДОМЕТРИЯ КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ

Корнилова А.И.<sup>1</sup>, Домнина А.П.<sup>2</sup>, Горячая Т.С.<sup>2</sup>, Петросян М.А.<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup>НМИЦ им. В.А. Алмазова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup>СПб НИИФ Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Эндометрий человека является перспективным источником стволовых клеток для регенеративной медицины, а эндометриальные клеточные линии (ЭКЛ) рассматриваются как удобная клеточная модель для изучения гинекологических заболеваний и их персонализированной терапии [1]. Эндометриоз – это гинекологическое заболевание, высоко ассоциированное с бесплодием, возможной причиной которого может стать нарушение процессов секреторной трансформации эндометрия (децидуализации), что и препятствует успешному наступлению беременности. Известно, что ЭКЛ в условиях *in vitro* под воздействием гормональных индукторов способны к децидуализации, однако при различных гинекологических заболеваниях данный процесс может нарушаться [2].

Цель – охарактеризовать ЭКЛ, полученные от здоровых доноров и пациентов с эндометриозом, и оценить возможность их использования в качестве клеточной модели для изучения гинекологических заболеваний.

Исследования были проведены на ЭКЛ, выделенных из биоптатов эндометрия от 3 здоровых доноров и 3 пациентов с эндометриозом, находящихся на лечении в отделении оперативной гинекологии НИИ АГиР им. Д.О. Отта. Все ЭКЛ были охарактеризованы: определены морфология клеток и кариотип, проведен иммунофенотипический анализ, верифицированы рецепторы прогестерона и эстрогена. Децидуальная трансформация клеток была проведена в результате воздействия индукторов, которыми выступали комбинации эстрадиола и прогестерона или его высокоактивных аналогов. PRL и IGFBP-1 использовали как основные маркеры децидуализации, их содержание измеряли методом ИФА.

Полученные ЭКЛ проявляли адгезивные свойства к поверхности пластика, имели фибробластоподобную морфологию клеток, сохраняли стабильный кариотип (46, XX), имели положительную экспрессию рецепторов к прогестерону и эстрогену, проявляли высокую экспрессию маркеров мезенхимного ряда. ЭКЛ, полученные от здоровых доноров, успешно подвергались децидуализации, при этом ЭКЛ, полученные от пациентов с эндометриозом, проявляли слабую чувствительность к гормональному воздействию или оказались резистентными к нему.

Результаты исследования показывают, что клеточные линии, выделенные из образцов эндометрия человека, независимо от наличия или отсутствия эндометриоза представляют собой популяцию мезенхимальных стволовых клеток и могут быть использованы для разработки персонализированной терапии различных гинекологических заболеваний, проводимой с помощью клеточных технологий.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-015-00449.

### Библиографические ссылки

1. Дробинцева А.О., Аверкиева А.С., Петросян М.А. и др. 3D-культуры клеток эндометрия: возможности и перспективы применения // Цитология. 2020. Т. 62, Вып. 8. С. 535-541.
2. Петросян М.А., Мележникова Н.О., Домнина А.П. и др. Децидуальная дифференцировка эндометриальных клеточных линий в норме и при патологии // Цитология. 2019. Т. 61, Вып. 11. С. 902-914.



## ОЦЕНКА ДИФФЕРЕНЦИРОВОЧНОГО ПОТЕНЦИАЛА МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА В МИКРОГЛИАЛЬНОМ НАПРАВЛЕНИИ ПО ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРОВ TMEM119 И P2RY12

Мантивода В.Э., Лукша В.И., Антонец Н.Г., Гончаров А.Е., Дубовская Т.Г., Малашевская А.О.

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

**Введение.** Для изучения функциональной активности микроглии при различных заболеваниях ЦНС актуальной задачей является создание клеточной *in vitro* модели индуцированных микроглиеподобных клеток (иМГ-клетки). К наиболее специфичным микроглиальным маркерам относятся пуринергический рецептор P2RY12 и трансмембранный белок TMEM119, которые не экспрессируются моноцитами/макрофагами или иными иммунными клетками миелоидного происхождения, а также астроцитами и олигодендроцитами. Цель данной работы – оценка дифференцировочного потенциала моноцитов человека в микроглиальном направлении по экспрессии маркеров TMEM119 и P2RY12.

**Материалы и методы исследования.** Моноциты получали методом иммуномагнитной сепарации из фракции мононуклеаров, выделенных дифференциальным центрифугированием в градиенте плотности  $\rho = 1077 \text{ г/см}^3$ . CD14<sup>+</sup> моноциты засевали на лунки 12-луночного планшета в концентрации 500 тыс./см<sup>2</sup> в среде RPMI-1640 с IL-34 (100 нг/мл), GM-CSF (10 нг/мл) для дифференцировки в иМГ-клетки или с IL-4 (50 нг/мл), GM-CSF (100 нг/мл) для дифференцировки в дендритные клетки (ДК) (группа сравнения). Оценку экспрессии белка P2RY12 осуществляли методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител. Оценку экспрессии мРНК TMEM119 и P2RY12 проводили согласно [1, 2]. Данные представлены как Me(25-75%).

**Результаты.** Методом проточной цитометрии установлено, что экспрессия белка P2RY12 в культурах иМГ-клеток варьировала и выявлялась у 10,88(8,63-53,96)% клеток всей популяции ( $n = 9$ ), в культурах ДК маркер не был выявлен. Молекулярно-генетическими методами установлена экспрессия мРНК TMEM119 и P2RY12 в культурах иМГ-клеток: детектировано образование фрагментов амплификации размером 116 п. н. для TMEM119 и 108 п. н. для P2RY12, в то же время в культурах ДК мРНК анализируемых маркеров не выявлены. Во всех случаях ПЦР-фрагменты контрольного гена «домашнего хозяйства» GAPDH [1] детектировались на одном уровне.

**Заключение.** Использование цитокинов IL-34 и GM-CSF в качестве индукторов дифференцировки позволяет получать культуры иМГ-клеток из моноцитов крови человека, что подтверждается экспрессией клетками специфичных микроглиальных маркеров TMEM119 и P2RY12.

### Библиографические ссылки

1. Jiang, Zhen-Huan. Upregulation and biological function of transmembrane protein 119 in osteosarcoma / Zhen-Huan Jiang [et al.] // Experimental & Molecular Medicine. –2017. –Vol. 49, №5. – P. 329.
2. Walker, D.G. Patterns of Expression of Purinergic Receptor P2RY12, a Putative Marker for Non-Activated Microglia, in Aged and Alzheimer's Disease Brains / D.G. Walker [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Vol.21, iss.2. – P.678.

## БИОЧЕРНИЛ, НА MORFOFУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТКОК ПРИ 3D-БИОПЕЧАТИ

Матиевский К.А.<sup>1</sup>, Пинчук С.В.<sup>1</sup>, Мусская О.Н.<sup>2</sup>, Крутько В.К.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

3D-биопечать – перспективное направление науки и техники. Она включает в себя последние достижения в области биологических, химических и технических наук. Передовые исследования ведущих научных лабораторий показали возможность 3D-печати аналогов тканей и органов заданных геометрических параметров с использованием стволовых клеток и носителей различной природы. Костная ткань представляет собой сложноорганизованную композитную структуру на основе минерализованного матрикса и коллагеновых волокон. Благодаря схожести состава с минеральной составляющей кости, синтетический гидроксиапатит (ГА) находит широкое практическое применение при создании остеопластических материалов, которые могут использоваться в качестве носителей клеточных культур [1]. Известно, что материалы на основе фосфатов кальция обладают способностью индуцировать дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток (МСК) в остеогенном направлении [2].

Целью данной работы является изучение морфофункционального состояния МСК в составе конструкций, полученных методом 3D-биопечати, с использованием ГА и легкодоступного полимеризуемого компонента – альгината натрия (АН) природного происхождения в качестве биосовместимых носителей [3].

Предварительно были изучены способы приготовления и условия полимеризации гидрогелей с разным процентным содержанием АН (1-4% по массе). В качестве клеточного компонента использовали МСК жировой ткани. Апробация методики получения трёхмерных структур заданных геометрических параметров из гидрогеля МСК/ГА/АН была проведена с использованием 3D-биопринтера INKREDIBLE+ (CELLINK, Sweden), установленного в рабочей зоне ламинарного шкафа, с последующей полимеризацией полученных объектов хлоридом кальция в стерильных условиях.

Полученные методом 3D-биопечати конструкции характеризовались наличием жизнеспособных клеток (до 70% в зависимости от процентного соотношения компонентов биогеля) после культивирования продукта биопринтинга в течение десяти суток в культуральной среде в CO<sub>2</sub>-инкубаторе. В дальнейшем планируется решить проблемы сохранения жизнеспособности клеток в конструкциях, полученных методом 3D-биопечати, путём оптимизации состава носителей и способов их полимеризации. Определение оптимальных условий печати и состава носителей будет способствовать раскрытию пролиферативного потенциала клеток, что в перспективе позволит получить методом биопечати аналог костной ткани заданных геометрических параметров с функциональными характеристиками, приближёнными к природным.

### Библиографические ссылки

1. Мусская, О. Н. Получение биоактивных мезопористых кальцийфосфатных гранул / О. Н. Мусская [и др.] // Неорган. матер. – 2018. – Т. 54, № 2. – С. 130–137.
2. Lu, J. Biological properties of calcium phosphate biomaterials for bone repair: a review / J. Lu, H. Yu, C. Chen // RSC Adv. – 2018. – Vol. 8. – P. 2015–2033.
3. А. И. Правдюк, Ю. А. Петренко, Н. А. Волкова, А. Ю. Петренко. Свойства мезенхимальных стромальных клеток человека при икапсуляции в альгинатные микросферы. Биотехнологія, Т.3, №2, 2010.

## ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ГЕНЕРАЦИИ ТОЛЕРОГЕННЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗНЫХ ИНДУКТОРОВ ПРИ ОДНОВРЕМЕННОМ СОКУЛЬТИВИРОВАНИИ С МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ ОБОНЯТЕЛЬНОЙ ВЫСТИЛКИ

Минич Я.С., Антоневиц Н.Г., Гончаров А.Е.

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

**Введение.** Для разработки протокола генерации толерогенных дендритных клеток (толДК) проведен сравнительный анализ различных индукторов толерогенных свойств. Цель работы – оценить эффективность генерации толДК путем сокультивирования с мезенхимальными стволовыми клетками обонятельной выстилки (МСК) в присутствии витамина Д<sub>3</sub>, дексаметазона и TGF-β.

**Методы.** Культуру ДК получали из моноцитов периферической крови (n = 4), выделенных методом иммуномагнитной сепарации, культивированных 3 сут в среде AIM-V с ГМ-КСФ, интерлейкином-4 и с одним из исследуемых веществ: витамин Д<sub>3</sub>, дексаметазон и TGF-β. Полученные ДК сокультивировали еще 3-4 сут с МСК в присутствии витамина Д<sub>3</sub>, дексаметазона или TGF-β. В качестве контроля использовали незрелые ДК. Оценивали иммунофенотип (HLA-DR, CD80, CD86, CD275, CD85k) полученных ДК методом проточной цитометрии. Использовали непараметрические методы статистического анализа.

**Результаты.** Проведен анализ иммунофенотипа ДК в группах: 1) незрелые ДК, 2) ДК+МСК, 3) ДК+МСК+витамин Д<sub>3</sub>, 4) ДК+МСК+дексаметазон, 5) ДК+МСК+TGF-β.

Установлено, что при сокультивировании ДК с МСК в сравнении с незрелыми ДК достоверно снижалась интенсивность экспрессии молекулы HLA-DR на поверхности ДК. При этом повышалось количество ДК и интенсивность экспрессии костимуляторной молекулы CD80 (незДК – 11,7%; ДК+МСК – 51,8%), а также интенсивность экспрессии коингибиторной молекулы CD275.

Добавление к сокультуре ДК и МСК витамина Д<sub>3</sub> не приводило к увеличению количества CD80<sup>+</sup>-клеток, наблюдалось достоверное снижение интенсивности экспрессии костимуляторных молекул CD80 и CD86. При сокультивировании ДК с МСК в присутствии TGF-β также наблюдается снижение интенсивности экспрессии костимуляторных молекул CD80 и CD86, однако вместе с этим снижается и интенсивность экспрессии коингибиторных молекул CD85k (ДК+МСК – 4,46 усл.ед.; ДК+МСК+TGF-β – 1,35 усл.ед.) и CD275 (ДК+МСК – 1,06 усл.ед.; ДК+МСК+TGF-β – 0,85 усл.ед.) на поверхности ДК. Сокультивирование ДК с МСК в присутствии дексаметазона достоверно повышает интенсивность экспрессии молекулы HLA-DR.

**Заключение.** На основании проведенного сравнительного анализа установлено, что наиболее эффективным способом формирования толерогенного иммунофенотипа является сокультивирование дендритных клеток с культурой мезенхимальных стволовых клеток обонятельной выстилки в присутствии витамина Д<sub>3</sub>. Полученные клетки характеризуются сниженной экспрессией HLA-DR, костимуляторных молекул CD80 и CD86, наличием на мембране коингибиторных молекул CD275 и CD85k.

## ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ОКТЕНИДИНА В РАСТВОРЕ И В СОСТАВЕ ТОНКОПЛЕНОЧНЫХ НОСИТЕЛЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Пинчук С.В.<sup>1</sup>, Василевич И.Б.<sup>1</sup>, Куликовская В.И.<sup>2</sup>, Волотовский И.Д.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Институт химии новых материалов НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Придание антимикробных свойств поверхностям материалов различного функционального назначения, используемых в медицинской практике, позволит увеличить срок службы материалов, снизить риски осложнений, и, тем самым, добиться стойкого терапевтического эффекта. Одним из способов создания антибактериальных покрытий является включение в состав материала активного антимикробного компонента. Однако его присутствие может изменить биосовместимость материалов вплоть до появления у них цитотоксических свойств. Изучение потенциальной цитотоксичности таких объектов является необходимым этапом при разработке тонкопленочных антимикробных композиционных материалов различного функционального назначения. Целью работы явилось исследование влияния октенидина (катионное поверхностно-активное вещество, обладающее антимикробной активностью в отношении широкого спектра микроорганизмов) в растворе и в составе тонкопленочных носителей на основе полисахаридов на функциональное состояние мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (МСК) крыс.

Проведенные исследования показали, что октенидин в ростовой среде в концентрациях 0,1-1,0 мкг/мл не оказывает существенного влияния на функциональное состояние МСК. После культивирования клеток в течение 1-4 сут в присутствии антимикробного агента в указанных выше концентрациях в культуре не регистрируется изменения количества жизнеспособных клеток, их пролиферативной активности. В тоже время октенидин при концентрации 1 мкг/мл оказывает выраженное антимикробное действие [1]. При увеличении концентрации октенидина до 2,0 мкг/мл начинает проявляться цитотоксическое действие соединения: снижается адгезионная способность МСК, падает пролиферативная активность клеток, увеличивается количество клеток в состоянии некротической гибели. При концентрации октенидина 10 мкг/мл через сутки в системе регистрируются только некротические клетки.

Изучение жизнеспособности и пролиферативной активности МСК после их культивирования на поверхности тонкопленочных композиционных материалов, содержащих октенидин в качестве антимикробного агента и имеющих структуру хитозан/декстран-октенидин (1:1) и декстран-октенидин (1:2)/декстран-октенидин (1:1), показало, что данные носители проявляют высокую биосовместимость с МСК. После культивирования МСК на данных носителях в системе регистрируются адгезировавшие к поверхности материалов клетки, характеризующиеся фибробластоподобной формой и высокой функциональной активностью. Тонкопленочный носитель хитозан/пектин-октенидин (1:2) проявляет более низкую биосовместимость с МСК. После культивирования (сутки) на данном носителе регистрируется наличие МСК преимущественно округлой формы, увеличение количества клеток в состоянии некроза.

### Библиографические ссылки

1. Sedlock D. M., Bailey D.M. Microbicidal activity of octenidine hydrochloride, a new alkanediylbis[pyridine germicidal agent // Antimicrob. Agents Chemother. – 1985. – Vol.28, N6. – P. 786-790.

## ПОЛУЧЕНИЕ И ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КУЛЬТУРЫ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА ИЗ ЭНДОМЕТРИЯ

Полешко А.Г., Пинчук С.В., Мисюкевич А.Ю., Тишук О.И.

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Известно, что эндометрий, будучи активно регенерирующей тканью, богат гетерогенной популяцией резидентных клеток со свойствами стволовых, которые в основном локализованы в его базальном слое и обеспечивают восстановление функционального слоя эндометрия, сформированного железистым эпителием и стромой, после физиологической циклической десквамации в конце лютеиновой фазы. Эндометриальные стволовые клетки мезенхимально-стромальной природы в условиях культуры пролиферативно активны, мультипотентны и способны к колониобразованию, обладают паракринной и иммуномодулирующей активностью, что определяет их терапевтический потенциал. В связи с этим актуальным является подобрать оптимальный протокол получения мезенхимальных стромальных клеток из эндометрия (эМСК) *in vitro* и охарактеризовать их в культуре, полученной в пассажах.

Биопсийный материал нормального неизмененного эндометрия ( $n = 3$ ) секреторной фазы, полученный с использованием урогенитального зонда типа Пайпель с информированного согласия донора, в стерильной транспортной среде с добавлением антибиотиков транспортировали в лабораторию в течение не более часа. Далее в условиях ламинарного бокса биоптат обрабатывали коллагеназой 4-го типа и проводили выделение из него эМСК по общепринятому протоколу [1] с модификациями. Полученные клетки помещали в культуральные флаконы из расчета 500 на  $1 \text{ см}^2$  площади флакона и культивировали в стандартных условиях ( $37^\circ \text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , влажность 100%) в ростовой среде (DMEM/F12, 10% фетальной бычьей сыворотки, 2 мМ глутамин, 1% смеси антибиотиков-антимикотиков) с полной ее заменой каждые 3 сут до образования 80% конфлюэнтного монослоя. Клетки пассировали с использованием 0,25% раствора трипсин-ЭДТА. Следует отметить, что полученные в культуре клетки 2-3 пассажа хорошо адгезировали к культуральному пластику, имели правильную веретеновидную форму и имели размер меньший, чем МСК из жировой ткани. Фенотипирование с использованием проточной цитофлуориметрии показало, что в полученной популяции 99% клеток экспрессировали CD29, CD44, CD73, 80% - CD90, 95% - CD105, при этом не более 1% клеток экспрессировало маркеры гемопоэтических клеток: CD34, CD45 и HLADR. Культивированные эМСК (92%) также коэкспрессировали периваскулярный фактор CD146, интегрин  $\alpha\text{V}\beta 3$ . Стоит отметить, что 35% клеток в популяции экспрессировало специфический маркер высококлоногенных стволовых МСК эндометрия – белок SUSD2. Это подтверждает принадлежность полученных в культуре клеток к мезенхимальным мультипотентным стромальным стволовым и демонстрирует гомогенность полученных первичных клеточных культур. Тестирование на микробиологическую чистоту и стерильность выделенных и культивированных клеток показало полное отсутствие в системе культивирования аэробных и анаэробных бактерий и микоплазменной инфекции. Что доказывает пригодность использованных условий забора биопсийного материала и способов его процессинга в лаборатории для получения стерильных культур аутологичных МСК эндометрия с целью приготовления на их основе биомедицинского клеточного продукта.

### Библиографические ссылки

1. Cervello I., Mas A., Gil-Sanchis C. et al. Reconstruction of endometrium from human endometrial side population cell lines // PLoS ONE. 2011. Vol. 6(6). e21221.

## ВЛИЯНИЕ БИОДЕГРАДИРУЕМОГО НОСИТЕЛЯ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ КУЛЬТИВИРОВАННЫХ МСК ЭНДОМЕТРИЯ ЧЕЛОВЕКА

Полешко А.Г., Пинчук С.В., Тишук О.И., Мисюкевич А.Ю.

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Несмотря на то, что стволовые клетки обнаруживаются в большинстве тканей человека, не все из них могут использоваться как источник клеток для клеточной терапии. Показано, что выделенные из ткани эндометрия изолированные обогащенные культуры прогениторных клеток представлены популяциями эпителиальных, эндотелиальных и мезенхимальных стромальных стволовых клеток. При этом мезенхимальные стромальные стволовые клетки (эМСК), обеспечивая восстановление стромы эндометрия *in vivo*, пролиферативно активны, жизнеспособны и демонстрируют мультипотентность *in vitro* [1]. Это, наряду с малой инвазивностью методов получения биоптата эндометрия, делает культивируемые эМСК привлекательными для приготовления на их основе биомедицинских клеточных продуктов (БМКП), в том числе с использованием биodeградируемых матриц. Целью данной работы стало оценить пролиферативный потенциал культивируемых эМСК, а также их жизнеспособность без и после инкубации с гиалуроновой кислотой, которая, как известно, обладает регенеративной, антиоксидантной, противовоспалительной активностью, участвует в передаче сигналов, овуляции, оплодотворении, морфогенезе плаценты [2].

эМСК получали из биоптата патологически неизмененного эндометрия секреторной фазы методом ферментативной обработки и накапливали в пассажах (37 °С, 5% CO<sub>2</sub>, 100% влажность, ростовая среда DMEM/F12 с 10% фетальной бычьей сыворотки, 2 мМ глутамин, 1% смеси антибиотиков-антимикотиков) по стандартному протоколу (полная замена ростовой среды каждые 3 сут, по достижении 80% конфлюэнтного монослоя пассирование с использованием 0,25% раствора трипсин-ЭДТА 5·10<sup>3</sup> кл/см<sup>2</sup>). Пролиферативную активность приготовленных культур МСК (n = 3), как основной показатель функциональной активности клеток, оценивали на 2-3 пассаже по таким параметрам, как число клеточных удвоений, среднее время удвоения популяции, число клеточных делений за единицу времени, а также по состоянию клеточного цикла и экспрессии белка Ki67. Установлено, что культура эМСК достигала конфлюэнтности за 120±5 ч. При этом популяция МСК за период времени достижения конфлюэнтного монослоя удваивалась в среднем 3 раза, т.е. время удвоения популяции составляло 57,5±3 ч. Высокий пролиферативный потенциал эМСК подтверждается их распределением по клеточному циклу: 12,5% клеток в популяции находится в S-фазе, а в G2/M – 15,5%; и экспрессией маркера пролиферации Ki67, наработка которого выявлена в среднем у 40±5% клеток. Полученные данные по пролиферативному потенциалу и активности эМСК *in vitro*, которые достоверно выше, чем у МСК из жировой ткани при одинаковой плотности посева, объясняются необходимостью обеспечивать циклическое обновление эндометрия *in vivo*. Кроме того, при исследовании влияния натриевой соли гиалуроновой кислоты как потенциального биodeградируемого носителя эМСК в составе БМКП на жизнеспособность клеток, показано, что их инкубация (4 ч, 37 °С) в растворе гиалуроната натрия (5 мг/мл) способствует сохранению жизнеспособности культивируемых эМСК.

### Библиографические ссылки

1. Mutlu L., Hufnagel D., Taylor H.S. The Endometrium as a Source of Mesenchymal Stem Cells for Regenerative Medicine // *biology of reproduction*. 2015. Vol. 92, № 6. Art. 138.
2. Соколова А.В., Аполихина И.А. Гиалуроновая кислота: перспективы использования в гинекологии // *Гинекология*. 2021. Т. 20, №8. С. 36–40.

## СОЗДАНИЕ КУЛЬТУР МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ОБОНЯТЕЛЬНОЙ ВЫСТИЛКИ С УЛУЧШЕННЫМИ ИММУНОСУПРЕССИВНЫМИ СВОЙСТВАМИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НЕИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПОЛОСТИ НОСА

Рында Е.Г.<sup>1</sup>, Антонович Н.Г.<sup>1</sup>, Гончаров А.Е.<sup>1</sup>, Еременко Ю.Ю.<sup>2</sup>, Ниделько А.А.<sup>2</sup>,  
Шулепова Э.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>РНПЦ оториноларингологии, Минск, Беларусь

**Введение.** Мезенхимальные стволовые клетки обонятельной выстилки (МСК ОБ), благодаря регенеративному потенциалу и иммуномодулирующей активности, рекомендованы к использованию в терапии заболеваний с избыточным иммунным ответом. Цель работы – оптимизировать состав ростовой среды для получения культур МСК ОБ с улучшенными иммуносупрессивными свойствами для применения в клеточной терапии неинфекционных заболеваний полости носа (аллергический ринит и хронический полипозный риносинусит).

**Методы.** При конфлюэнтности монослоя МСК ОБ 90-100% вносили цитокины IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-2 в концентрациях 25 нг/мл и 50 нг/мл. Через 24-48 ч анализировали иммунофенотип клеток методом проточной цитометрии: оценивали экспрессию молекул CD90, CD105, CD73, CD45, CD31, CD274, CD276, CD80, CD86, HLA-DR, CD54, CD44 на поверхности контрольных культур МСК (без добавления цитокинов) и праймированных цитокинами клеток. Использовали непараметрические методы статистического анализа.

**Результаты.** Внесение в питательную среду IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  и IL-2 не оказывало влияния на экспрессию молекул CD44, CD73, CD90, CD105, CD80, CD86, CD45, CD31 и на жизнеспособность МСК. Добавление TNF- $\alpha$  в концентрации 25 нг/мл усиливает иммуносупрессивный потенциал МСК, что выражается в тенденции к увеличению количества позитивных клеток (%) и относительной интенсивности флуоресценции (RFI) молекулы адгезии CD54 (контр.: 70,65 (62,87-77,44)%, МСК, TNF- $\alpha$  25 нг/мл: 99,91 (99,84-99,93)%,  $p = 0,06$ ; контр.: 1,98 (1,82-2,44) RFI; МСК, TNF- $\alpha$  25 нг/мл: 32,97 (28,22-35,54) RFI,  $p = 0,01$ ), а также в достоверно более высокой экспрессии коингибиторной молекулы CD274 (контр.: 96,31 (83,28-96,43)%, 3,01 (1,82-3,19) RFI, МСК с TNF- $\alpha$  25 нг/мл: 99,54 (99,43-99,86)%, 5,02 (4,11-6,46), RFI,  $p = 0,04$ ). В сравнении с IFN- $\gamma$ , внесение TNF- $\alpha$  не вызывало увеличения экспрессии HLA-DR (контр.: 0,15 (0,14-0,15)%, МСК с TNF- $\alpha$  25 нг/мл: 0,34 (0,10-0,36)%,  $p = 0,07$ , МСК с IF- $\gamma$  25 нг/мл: 22,24 (16,23-27,37)%,  $p = 0,04$ ). IL-2 достоверно не влиял на экспрессию ни одной из проанализированных молекул.

**Выводы.** На основании сравнительного анализа влияния цитокинов IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-2 на иммунофенотип МСК ОБ установлено, что праймирование клеток в течение 24-48 ч TNF- $\alpha$  приводит к усилению экспрессии молекул CD274 и CD54, принимающих участие в реализации иммуносупрессивной активности МСК. Эффективность применения МСК ОБ, праймированных TNF- $\alpha$ , будет определена в рамках клинического испытания методов лечения аллергического ринита и хронического полипозного риносинусита (NCT05167552).

# ДИЗАЙН ЛЕНТИВИРУСНОГО ВЕКТОРА ДЛЯ ТРАНСДУКЦИИ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК

Таланкина А.С., Позняк Т.А., Гончаров А.Е.

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

**Введение.** Меланома представляет собой наиболее агрессивную и смертоносную форму рака кожи. Современные терапевтические подходы включают хирургическую резекцию, химиотерапию, иммунотерапию, биохимиотерапию и таргетную терапию, которые имеют большое количество противопоказаний и побочных эффектов. Одним из решений данной проблемы является использование генетически-модифицированных антигенпредставляющих клеток [1]. Одним из первых шагов на пути к генетической трансформации клеток является визуализация успешности вставки необходимого целевого гена.

**Цель работы:** визуализация генетической вставки в лентивирусный вектор с помощью программы SnapGene для последующей работы с генетически-модифицированными дендритными клетками.

**Материалы и методы.** Выбор вектора был произведен с помощью общедоступного интернет-сайта AddGene.com, по следующим критериям: плазмидный лентивирусный вектор, разновидность – человек, экспрессия – млекопитающие. Для предварительного дизайна генетической конструкции среди предложенных векторов с заданными критериями случайным образом был выбран лентивирусный вектор pHR\_PGK. В качестве целевого гена был выбран опухлеассоциированный меланомный белок MART1/MLANA. С использованием общедоступного интернет-портала.ncbi.com была идентифицирована генетическая последовательность данного белка. Вставка генетической последовательности проводилась между сайтами BamHI и NotI. BamHI является одним из наиболее популярных сайтов рестрикции, описанных в литературе [2].

**Результаты и их обсуждение.** В результате предварительного дизайна генетической конструкции было получено схематичное изображение готового лентивирусного вектора со вставкой гена MART1/MLANA. В составе генетической вставки имеется сайт *BclI*, который блокируется сайтом *dam*. Согласно интернет-ресурсу international.neb.com, чтобы избежать метилирования *dam*, нужно использовать штамм с дефицитом *dam*. Эти результаты показывают, что при использовании данного лентивирусного вектора и данной последовательности, кодирующей целевой ген, можно получить эффективные трансформированные клетки *in vitro*.

## Библиографические ссылки

1. Chonghua Ren et al. Strategies for the Enrichment and Selection of Genetically Modified Cells//Trends in Biotechnology. 2019. Vol. 37. P. 56–71.
2. Tong Z et al. "2'-O-methyl nucleotide modified DNA substrates influence the cleavage efficiencies of BamHI and BglII"//Journal of Biosciences. 2014. Vol. 39 P. 621–630.



## ПОЛУЧЕНИЕ ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ПАРАТИРОЦИТОВ

Ткалич Е.С.<sup>1</sup>, Позняк Т.А.<sup>1</sup>, Ширвель Д.Ю.<sup>1</sup>, Большов А.В.<sup>2</sup>, Третьяк С.И.<sup>2</sup>,  
Гончаров А.Е.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

**Введение.** Лечение послеоперационного гипопаратиреоза является немаловажной проблемой эндокринологии. Гипопаратиреоз представляет собой эндокринное заболевание, которое сопровождается дефицитом паратиреоидного гормона, что приводит к гипокальциемии и, в ряде случаев, к гиперфосфатемии и гиперкальциурии. Существует множество научных публикаций, описывающих результаты экспериментальных и клинических исследований, которые направлены на разработку новых технологий лечения гипопаратиреоза. Наиболее перспективными в настоящее время являются исследования в области применения биомедицинских клеточных продуктов (БМКП) в регенеративной медицине, в том числе на основе паратириоцитов (ПТ) [1, 2].

**Цель работы:** подобрать оптимальные условия транспортировки образцов паращитовидной железы (ПЩЖ), получения и культивирования первичной культуры ПТ.

**Материалы и методы.** Донорами биоптата ПЩЖ являлись пациенты с гиперфункцией ПЩЖ, которым проводили паратиреоидэктомию по медицинским показаниям. От каждого донора получали фрагмент ПЩЖ, размером от 5-12±3 мм<sup>3</sup>. Для получения первичной культуры клеток применяли метод эксплантов или метод гомогенизации с помощью автоматического диссоциатора (MiltenyiBiotec, Германия). Были проведены сравнительные эксперименты по подбору оптимальной питательной среды для культивирования, типа сыворотки (пулированная АВ0-сыворотка крови человека или эмбриональная сыворотка крупного рогатого скота) и ее концентраций (10-30%).

Для метода эксплантов образцы ткани мелко измельчали скальпелем, а при методе гомогенизации – получали суспензию клеток, используя диссоциатор. Далее образец в питательной среде DMEM/F12 (Biowest, Франция) с добавлением различных компонентов помещали в планшеты для адгезивных культур и культивировали в CO<sub>2</sub>-инкубаторе (5% CO<sub>2</sub>) при +37 °С и влажности 95%. Контроль роста популяции клеток осуществляли методом фазово-контрастной микроскопии. Фенотипические особенности клеток определяли методом визуальной проточной цитометрии.

**Результаты и их обсуждение.** Подобраны оптимальные условия и время транспортировки биоптата для получения БМКП: в стерильном фосфатном буферном растворе Дульбекко с добавлением антибиотиков при температуре +4±2 °С в течение не более 6 ч. Установлено, что при использовании метода эксплантов клетки проявляют большую пролиферативную активность, по сравнению с методом гомогенизации. Методом фазово-контрастной микроскопии установлено, что полученная первичная культура состояла из клеток двух типов: крупных фибробластоподобных с маленьким ядром и клеток небольшого размера округлой формы с четкими краями. Методом визуальной проточной цитометрии установлено, что полученная популяция содержит клетки CD326<sup>+</sup>, CD105<sup>-</sup>, CD31<sup>-</sup>, CD90<sup>-</sup>, CD45<sup>-</sup>.

### Библиографические ссылки

1. Clarke B.L. et al. Epidemiology and diagnosis of hypoparathyroidism // The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 2016. Vol. 101. P. 2284–2299.
2. Li M.D., Atkins H., Bubela T. The global landscape of stem cell clinical trials // Regenerative medicine. 2014. Vol. 9. P. 27–39.

# **ОБРАЗОВАНИЕ В ОБЛАСТИ БИОФИЗИКИ**

## ПРОФЕССИОНАЛЬНО-ОРИЕНТИРОВАННОЕ СОДЕРЖАНИЕ БИОФИЗИКИ В ВУЗАХ МЕДИЦИНСКОГО ПРОФИЛЯ

Белая О.Н., Гольцев М.В., Гузелевич И.А.

*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь*

Общеизвестным является факт, что биофизика проникая в различные области медицины, позволяет овладеть фундаментальными понятиями и логическими концептуальными схемами, характерными для науки в целом, что важно для проблемы не только фундаментальности, но и для специализации высшего медицинского образования. Обоснованное и однозначное определение содержания биофизики как учебной дисциплины в высших учебных заведениях медицинского профиля способствует гармонизации образования и формированию различного вида компетенций, необходимых в профессиональной деятельности. Основу формирования данных компетенций составляет профессионально-ориентированное содержание биофизики, которое раскрывается как в физических вопросах профессионально-ориентированного характера, так и в вопросах, изучение которых важно для решения задач профессиональной деятельности врача [1, 2].

Физика в любом высшем учебном заведении конкретизируется как единство и взаимосвязь фундаментальной и профессионально-ориентированной компонент. Профессионально-ориентированная компонента представлена профессионально-ориентированным содержанием биофизики, которое раскрывается в физических вопросах профессионально-ориентированного характера. Возможность реализации принципов практико-ориентированного обучения является использование законов физики для лечения конкретных заболеваний на примере мировых практик, к которым относятся различные методы физиотерапии, лазерная и криохирургия, радионуклидная терапия, рентгенотерапия. Практико-ориентированные физические вопросы должны в первую очередь быть направлены на изучение человеческого организма как физического объекта, специфику проявления физических явлений, процессов в организме человека, профилактику человеческих заболеваний; определение особенностей применения физических явлений, процессов, приборов в диагностике для исследования человеческого организма; выявление специфики применения физических явлений, процессов, приборов в лечебной практике.

Применение профессионально-ориентированных физических задач и заданий дает возможность индивидуализировать процесс обучения, позволяет достаточно эффективно освоить практико-ориентированное содержание физики, что является необходимым условием формирования у будущих врачей надпрофессиональных метакомпетенций, которые могут понадобиться специалистам медицинского профиля в их будущей профессиональной деятельности.

### Библиографические ссылки

1. Белая, О.Н. Медицинская и биологическая физика как фактор развития профессиональной компетентности медицинских физиков / О.Н. Белая, М.В. Гольцев, В.Г. Шепелевич // Медицинское образование XXI века: разработка модели «Университет 3.0»: материалы Международной научно-практической конференции, Витебск, 1 ноября 2019 г. / Витебский гос. мед. ун-т; редкол.: А.Т. Щастный (отв. ред.) [и др.]. – Витебск: ВГМУ, 2019. – С. 227 – 229.

2. Десненко С.И., Кобзарь А.Н. Профессионально ориентированное содержание физики в медицинском вузе // Вопросы обучения и образовательной практики. 2018. Том 13. № 2. С. 71–78.

Курсовая работа по специальности «Интегративная медицина»

## ИНТЕГРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА В ПОДГОТОВКЕ ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ «БИОФИЗИКА»

**Кулемзина Т.В.**

*Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького, Донецк*

Цель – продемонстрировать опыт преподавания интегративной медицины (ИМ) в подготовке магистров по специальности «Биофизика».

Учебный материал по ИМ преподносился в разделе следующих тем [1]:

1. Биологическое действие физических факторов;
2. Физические методы диагностики и лечения в современной медицине;
3. Кинетика и термодинамика биологических процессов;
4. Биофизика транспортных процессов;
5. Биофизика сенсорных систем.

Основным вектором при изложении материала являлось указание на преимущественный принцип интегративной медицины (ИМ) – единство психологической и соматической составляющих, в основу которого заложены конституциональные характеристики человека. Объяснялось, что ИМ базируется на целостном подходе, где любая болезнь является результатом нарушения гармонии духа и тела.

В контексте ИМ комплексное восприятие всех физических и психических признаков человека позволяет сформулировать его «конституциональный тип», что, соответственно, дает возможность комплексно корректировать нарушенные функции с учетом индивидуальных особенностей (внешних признаков, телосложения, скорости протекания физиологических, обменных, патологических процессов, склонности к определенным заболеваниям, а также и особенностей психических и поведенческих проявлений, темперамента, реакций на различные экстремальные и стрессовые ситуации).

Особое место в учебном материале отведено пояснению процессов саногенеза (комплекса защитно-приспособительных механизмов, направленного на восстановление нарушенной саморегуляции организма), с поэтапностью активации механизмов защиты, компенсации, приспособления и возмещения повреждённых функций организма.

Отдельный блок учебного материала был посвящен механизмам действия методов, составляющих ИМ (в том числе исторически сложившихся и современных, неинвазивных и аппаратных): рефлексотерапии, гомео- и фитотерапии, кинезио- и гирудотерапии, некоторых видов психокоррекции, показаниям и противопоказаниям к их применению, возможностям их сочетания между собой. Показана особая значимость последнего в контексте актуальности развивающегося в настоящее время персонифицированного подхода современной медицины.

Обратная связь с магистрами после окончания ними обучения позволила сделать вывод о полезности знаний, умений и навыков, предоставленных им по ИМ, поскольку специалисты получили возможность работы в медицинском университете и университетской клинике, а также дало возможность откорректировать учебный материал, добавив определенные практические аспекты, которые могут быть использованы специалистами в их деятельности (особенно в плане выполнения научно-исследовательских работ).

### **Библиографические ссылки**

1. Ремизов А.Н. Медицинская и биологическая физика: учеб. для вузов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 648 с

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ СМЕШАННОГО ОБУЧЕНИЯ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ КАЧЕСТВА ВЫСШЕГО МЕДИЦИНСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ**

**Кухаренко Л.В., Гольцев М.В., Гузелевич И.А.**

*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь*

С развитием цифровых технологий происходит изменение самой парадигмы образования, предполагается появление новых методик работы со студентами, а также пересмотр критериев оценки и формата контроля обучающихся.

В данной работе рассматривается применение технологии смешанного обучения студентов на базовой теоретической кафедре медицинской и биологической физики БГМУ. В ротационной модели смешанного обучения предполагается чередование электронного обучения и обучения в аудитории. Традиционная образовательная компонента смешанного обучения включает в себя аудиторские практические и лабораторные занятия, а электронная компонента состоит из электронных учебных материалов и средств коммуникации посредством глобальной информационной сети. На кафедре медицинской и биологической физики БГМУ используется такой вид ротационной модели смешанного обучения как перевернутый класс, при котором лекции проходят в электронной обучающей среде (лекционные занятия онлайн). А затем на учебном аудиторном занятии со студентами преподаватель занимается закреплением теоретических навыков, полученных при работе с лекционным материалом, и организацией практической деятельности студентов (семинар или лабораторное занятие). При прослушивании лекции используется асинхронное электронное обучение со свободным графиком его проведения. Несомненным достоинством такого способа изложения теоретического материала является возможность прослушать лекцию в любое удобное для студента время, а также повторно обратиться к наиболее трудным местам. Электронное обучение предполагает увеличение объема самостоятельной работы студентов, что в свою очередь приводит к необходимости постоянной оперативной поддержке учебного процесса преподавателем. Хочется отметить, что использование электронного обучения требует большей подготовки и профессионализма от преподавателя, чем все другие виды образования.

Для оценки результатов обучения, по всем разделам преподаваемых на кафедре дисциплин, студенты так же могут в онлайн-среде проходить тренировочные тесты, что позволяет им лучше подготовиться к итоговым тестам по темам. После прохождения тренировочных тестов уже в аудитории под руководством преподавателя они обсуждают решение тестовых задач. Более того, в отличие от традиционных образовательных технологий, при смешанном обучении студент всегда имеет доступ к методическим материалам: лекциям, практическим заданиям, рекомендуемой литературе, тестам. Необходимо подчеркнуть, что использование смешанного обучения требует осуществления постоянных изменений в структуре и обновления содержания преподаваемых учебных дисциплин, организации и поддержки индивидуализированной учебной деятельности студентов.

Таким образом, использование электронного обучения в учебном процессе на кафедре медицинской и биологической физики наряду с традиционными образовательными технологиями, успешно позволяет создать условия для активной познавательной и учебной деятельности студента. Причем, как показывает анализ процесса обучения, именно правильное сочетание традиционных образовательных технологий и электронной системы обучения с использованием интерактивных технологий и онлайн-открытых программ позволяет повысить качество обучения.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МАТЕМАТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ ПРИ ИЗУЧЕНИИ МЕДИЦИНСКОЙ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ В БГМУ

Лещенко В.Г., Инсарова Н.И., Иванов А.А., Шеламова М.А., Лубневская Г.Г.

*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь*

Моделирование – важный метод исследования сложных процессов и объектов, который хотя и не описывает всю сложность изучаемого объекта, но позволяет проанализировать его наиболее существенные свойства.

В данной работе представлен опыт использования математических моделей некоторых биофизических процессов при изучении дисциплины «Медицинская и биологическая физика» в Белорусском государственном медицинском университете.

Использование математических моделей при изучении этой дисциплины дает возможность проведения виртуального эксперимента со сложной биосистемой. Знания по биофизике, биологии, физиологии дают студенту необходимое представление об объекте изучения и, кроме того, требуются некоторые навыки в построении вычислительной структуры математической модели [1,2].

Создание и дальнейшая работа с такой моделью способствует развитию у студентов логики мышления, навыков анализа, формирует в определённой степени личную мотивацию принятия решения, столь важную в будущей профессии врача.

На кафедре медицинской и биологической физики БГМУ студентам предлагается рассматривать математические модели роста и гибели популяций бактерий, поведения отдельных элементов сосудистого русла, а также сердечно-сосудистой системы в целом, фармакокинетические и другие модели.

В качестве примера рассмотрим клинически-ориентированную модель сердечно-сосудистой системы. Такая модель отражает основные свойства большого и малого круга кровообращения. Она включает левый желудочек сердца, артериальный резервуар, равный сумме объёмов крови артерий большого круга кровообращения, венозный резервуар, равный суммарному объёму крови системных вен, правое сердце, легочную артерию и легочные вены, микроциркуляторные русла большого и малого круга кровообращения.

Цель данной работы – связать гемодинамические показатели с физическими характеристиками, определяющими работу сердца; рассчитать и провести анализ работы сердца конкретных пациентов, используя числовые значения гемодинамических показателей, полученных в ходе клинических исследований и затем проанализировать результаты.

В работе используются опубликованные начальные (в момент поступления) и конечные (перед выпиской) клинические данные пациентов, находившихся в отделении интенсивной терапии одной из больниц. Расчет и оценка основных характеристик гемодинамики выполнены с использованием процессора Excel.

### Библиографические ссылки

1. Станкевич Т.Г., Ворсина Е.В. Моделирование как способ формирования компетенций у студентов медицинского вуза // Медицинская физика. 2018. №1. С. 103-107.
2. Инсарова Н.И., Лещенко В.Г., Шеламова М.А., Королик Е.В. «Медицинская физика в современной подготовке врача» Материалы международной научно-практической конференции «Физико-математическое образование: цели, достижения и перспективы», Минск, БГПУ, 2019г. с. 129-131.

## **ПРАКТИКО-ОРИЕНТИРОВАННЫЙ ПОДХОД К РАЗРАБОТКЕ ЛАБОРАТОРНОГО ПРАКТИКУМА ПО МЕДИЦИНСКОЙ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИКЕ ДЛЯ СТУДЕНТОВ МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА**

**Стародубцева М.Н., Кузнецов Б.К.**

*Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь*

В качестве примера практико-ориентированного подхода при изучении студентами-медиками дисциплины «Медицинская и биологическая физика» в работе обсуждаются методологические основы к разработке двух лабораторных работ: «Измерение артериального давления аускультативным и осциллометрическим методом» и «Изучение физических принципов пульсоксиметрии».

В работе по определению давления крови вначале со студентами разбираются физические основы оценки давления крови методом Короткова с применением основных понятий и уравнений гидродинамики, затем, знакомятся с основами осциллометрического метода определения давления крови. В практической части студенты определяют артериальное давление крови с помощью механического и осциллометрических автоматических тонометров и осциллометрического запястного измерителя давления. Студентам поясняют физические и физиологические причины различия величин измеренного давления крови разными методами. Студенты сами экспериментальным путём определяют зависимость измеряемых величин давления от ряда факторов (положения конечностей и всего тела, уровня физической активности). С помощью доступных в литературе формул студенты переводят значения давления крови, измеренных запястным измерителем давления, в значения давления крови на предплечье. В завершение экспериментального исследования студенты проводят сравнение результатов, полученных с помощью разных методов и подходов, и делают выводы. В работе по изучению пульсоксиметрии со студентами вначале разбираются физические основы оценки сатурации с помощью анализа спектров поглощения разных форм гемоглобина, решается теоретическая задача на определение концентрации двух форм гемоглобина при известных значениях оптической плотности на двух длинах волн и коэффициентов экстинкции. В теоретической части разбирается принципиальное устройство пульсоксиметра, измеряемый параметр и принцип определения сатурации. В практической части студенты определяют с использованием фотометра концентрацию кислой и основной форм бромфенолового синего и соотношение этих форм. Далее студенты определяют сатурацию ткани пульсоксиметром, оценивают влияние различных факторов (присутствие красителя, изменение тока крови, уровня физической активности) для определения пределов применимости метода и делают выводы. Таким образом, сочетание анализа физических основ методов современной медицины и экспериментального изучения пределов применимости этих методов позволит будущим врачам с большим пониманием относиться к полученным в процессе их работы результатам.

Хильманович В.Н.

*Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь*

Внедрение цифровых технологий в системе образования является глобальной тенденцией сегодня. Цифровые технологии активно проникают на все уровни системы образования и способствуют более эффективному вовлечению обучающихся в образовательный процесс, а также персонализации обучения посредством предоставления участникам образовательного процесса материалов, соответствующих их уровню знаний и интересам [1, 2].

Биофизическое образование в медицинском вузе не стало исключением. Хотелось бы отметить, что биофизическое образование в медицинском вузе сегодня не может ограничиваться только изучением дисциплины «Медицинская и биологическая физика». В связи с потребностями общества в высококвалифицированных медицинских кадрах, появилась необходимость объединить в понятие «биофизическое образование» биомедицинскую статистику и информационные технологии в здравоохранении [3].

Целью работы стало создание трехмерной дидактической модели, посредством которой возможна цифровая трансформация процессов получения непрерывного биофизического образования в медицинском вузе. Модель представляет собой фигуру, оси которой формируются по уровням образования, компонентам образовательного процесса и компонентам, образующим само биофизическое образование. Компоненты составляются непосредственно по дисциплинам «Медицинская и биологическая физика», «Биомедицинская статистика» и «Информатика в медицине». Содержание биофизического образования выбираются в зависимости от уровня образования и от компонента образовательного процесса. Компоненты образовательного процесса (теория, практика и контроль) формируются в зависимости от уровня образования (1 степень, 2 степень (магистратура), повышение квалификации). Все компоненты зависят друг от друга и тесно связаны между собой. Таким образом, реализуется непрерывный образовательный процесс.

Одной из особенностей модели является использование самообучающихся искусственных нейронных сетей для формирования самообновляющейся информационной базы. Нейросеть собирает необходимую информацию при помощи поисковых систем, программ и интеллектуальных алгоритмов интернет-пространства. Еще одна особенность модели заключается в использовании программных решений на языке программирования «R» для всех ступеней образовательного процесса, как связующего звена между компонентами модели. Обучаемые смогут выстраивать индивидуальные образовательные траектории, выбирая дисциплины, уровень и компоненты биофизического образования. Применение модели способно реализовать непрерывность образовательного процесса по конкретной специальности.

### **Библиографические ссылки**

1. Концепция цифровой трансформации процессов в системе образования Республики Беларусь, утвержд. Министром образования М.В. Карпенко 15.03.2019.
2. Плетяго Т.Ю., Остапенко А.С., Антонова Г.Н., Педагогические модели смешанного обучения в вузе: обобщение опыта российской и зарубежной практики // Образование и наука. – 2019. – Т21, №5 – с.113-130.
3. Хильманович В.Н., О цифровизации биофизического образования в рамках концепции «Университет 4.0.» //Сборник материалов Республиканской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 85-летию со дня рождения профессора Борисюка М.В. [Электронный ресурс], ГрГМУ, Гродно, 2022. – с. 253-255.



## РАЗВИТИЕ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ СТУДЕНТОВ

Шеламова М.А., Лещенко В.Г., Инсарова Н.И.

*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь*

Одной из важных задач всестороннего развития личности является формирование познавательных интересов студентов к учебной деятельности, к получению знаний, к науке. Тогда студенты, осознавая значимость фундаментальной подготовки в своем профессиональном развитии, станут более продуктивно изучать дисциплины, если они будут заинтересованы процессом и результатами познания в этой области. Задача преподавателя – показать на примерах, что Медицинская и биологическая физика и Информатика в медицине в числе тех дисциплин, что последовательно прививают будущим врачам необходимые знания.

Используя теоретические сведения, полученные в курсе Медицинской и биологической физики и реальный клинический материал, соответствующий различным разделам этой дисциплины, студенты учатся его систематизировать, анализировать, выделять наиболее значимые характеристики, сопоставлять их.

Ввод и обработка медико-биологических данных осуществляется с использованием компьютера, т.к. удобства, которые компьютер предоставляет в обращении с текстовой и цифровой информацией, делают его незаменимым помощником в работе ученого-исследователя. Преимущества компьютерной обработки количественных данных перед ручной неоспоримы даже при небольшом объеме вычислений. Также чрезвычайно облегчается процедура построения всевозможных графиков.

Для успешной компьютерной обработки данных научных исследований необходимо чтобы студент-исследователь имел четкое представление структуры данных и тех потребностей анализа, которые вытекают из задач исследования. Постановка задачи и интерпретация результатов не могут быть переданы компьютеру. Инструменты для компьютерной обработки и анализа данных способны только помочь преобразовать первичные данные в вид, удобный для интерпретации.

Студент совместно с преподавателем намечает план действий, ставит вопрос проблемного характера, выполняет на компьютере необходимые вычисления и анализ результатов и самостоятельно описывает полученную информацию в виде отчета или небольшой статьи. Задача преподавателя правильно организовать учебно-воспитательный процесс, создать благоприятные условия для активной самостоятельной исследовательской деятельности студентов, критического анализа собранных фактов, и на этой основе получения новых знаний и навыков.

В качестве примера приведем следующую работу. В условиях клиники были получены следующие гемодинамические параметры: среднее давление крови в аорте; частота сердечных сокращений; сердечный индекс, один из основных клинических параметров, оценивающих работу сердца. Используя числовые значения гемодинамических показателей при двух видах шока (кардиогенного и гиповолемического), студент должен проанализировать результаты, полученные в ходе клинических исследований; рассчитать основные характеристики гемодинамики, выполнить статистический анализ параметров, определяющих состояние пациента при двух видах шока рассчитать и провести анализ работы сердца сердца пациентов.

### Библиографические ссылки

1. Инсарова Н.И., Шеламова М.А. «Анализ и оценка влияния различных типов шока на работу сердца» Сборник тезисов докладов участников Международной научной конференции «Физико-химическая биология как основа современной медицины», Минск, БГМУ, 2021 г. с.356-357.

## АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Абашкин В.М. 140, 169  
Авдеева Е.В. 35  
Аверина Н.Г. 48, 49  
Агейко С.А. 50, 75  
Адзерихо И.Э. 141  
Ажинова Г.А. 124  
Акуневич А.А. 77  
Алексеев А.А. 45  
Алексеева А.О. 149  
Аль Меселмани М.А. 109  
Аляхнович Н.С. 140  
Амаэгбери Н.В. 81, 94, 141  
Ананич Т.С. 37, 38, 39  
Ананкина А.А. 148  
Антоневич Н.Г. 159, 177, 179, 183  
Арабей С.М. 51  
Артюхов В.Г. 91, 93, 135  
Бабенкова И.В. 110, 146  
Бадалов А.А. 149  
Бажин А.С. 21  
Байдамшина Д.Р. 135  
Байрамуков В.Ю. 102  
Барановская А.В. 100  
Баркун М.Ю. 31  
Басырева Л.Ю. 134  
Белая О.Н. 187  
Белько Н.В. 63, 111, 158  
Бендикис А.С. 129  
Березин Д.Б. 119  
Бичан О.Д. 166  
Благова А.В. 55  
Бобрукевич Д.В. 159  
Богданова А.В. 81, 117, 162  
Богданович Д.М. 37  
Большов А.В. 185  
Боме Н.А. 22  
Борзова В.А. 145  
Братенкова В.А. 22  
Братковская Л.Б. 45  
Буглак А.А. 52, 145  
Будаговская О.Н. 82, 83  
Будаговский А.В. 82, 83  
Будевич А.И. 37  
Бурко А.А. 169  
Бусько И.И. 97  
Бутенко А.В. 175  
Валько Н.Г. 50  
Василевич И.Б. 175, 180  
Василевская Е.Д. 54  
Вашкевич И.И. 70, 71, 171  
Венская Е.И. 84, 140  
Вересов В.Г. 168  
Вершиловская И.В. 23, 24  
Вечтомова Ю.Л. 25, 145  
Викс Т.Н. 26  
Владимирская Т.Э. 141  
Владыко А.С. 71  
Войнаровский В.В. 112, 131  
Волков В.В. 113, 149  
Волотовский И.Д. 97, 99, 175, 180  
Волченкова У.В. 161  
Воропаев Е.В. 150  
Воропай Е.С. 64, 65, 69  
Галкина Н.В. 123  
Гвоздев М.Ю. 76  
Геворгиз Р.Г. 25  
Герловский Д.О. 114, 115  
Гилевич С.Н. 62  
Гладков Л.Л. 23, 24  
Глебович Т.С. 64  
Глинская Л.И. 100  
Глинская Н.А. 109  
Голубева Е.Н. 116, 160, 166  
Гольцев М.В. 130, 187, 189  
Гончаров А.Е. 159, 177, 179, 183, 184, 185  
Гончаров С.Е. 129  
Горбачева И.В. 171  
Горбунов Н.П. 123, 134  
Горудко И.В. 55, 134  
Горячая Т.С. 176  
Григоренко Е.А. 120  
Григорович В.В. 161  
Григорьева Д.В. 55, 134  
Грошева Е.В. 83  
Гузелевич И.А. 187, 189  
Гулиева Р.Т. 116  
Гурский А.Л. 63  
Гусаков Г.А. 63  
Гусев С.А. 123, 134

Гусейнов Т.М. 85, 87  
Гюльханданян А.Г. 68  
Гюльханданян Г.В. 68  
Дадашов М.З. 85  
Дембский В.В. 161  
Демиденко М.И. 117, 160  
Денисов А.А. 162, 174  
Джагаров Б.М. 62, 68  
Джафар Н.А. 85, 86, 87, 116  
Джафар Н.Ш. 85, 87  
Джафарова С.А. 86, 87  
Диатроптов М.Е. 151  
Дмитриев Е.В. 136  
Долгорукова А.М. 147  
Домнина А.П. 176  
Дремук И.А. 48  
Дубовская Т.Г. 177  
Дудинова О.Н. 37, 38, 39  
Егоренков Н.И. 98  
Егорова О.Н. 126  
Едимечева И.П. 78  
Екимчик В.В. 117  
Емельянова А.В. 48, 49  
Еременко Ю.Ю. 183  
Ерёмина Я.В. 149  
Ермилова Т.И. 119  
Ерохина Я.Р. 124  
Ефременко Е.Н. 124  
Жиленкова А.Е. 88  
Журавлев С.Г. 126  
Журавлева Э.Р. 118  
Завалинич В.А. 76  
Закоян А.А. 67  
Зенькевич Э.И. 163  
Зорин В.П. 56, 119  
Зорина Т.Е. 119  
Зубрицкая Г.П. 120, 121  
Ибрагимова У.Ф. 27  
Иванов А.А. 67, 122, 190  
Иванов В.А. 123, 134  
Иванова Е.А. 148  
Ивашин Н.В. 28, 29  
Игнатович Л.В. 78  
Игнатович Я.С. 35  
Ильючик И.А. 30, 57  
Инсарова Н.И. 67, 190, 193  
Йоник Е.А. 124, 125, 132  
Кабачевская Е.М. 31, 97, 99  
Кабашникова Л.Ф. 26, 32, 96  
Калаева Е.А. 91  
Калинин Д.Д. 124, 125, 132  
Калинин Т.П. 110  
Карпушенкова В.С. 58  
Каюмов А.Р. 135  
Квачева З.Б. 81, 175  
Кленицкий Д.В. 23, 24  
Коблов И.В. 56, 119  
Коваленко Е.И. 117  
Ковальчук В.А. 33  
Козел Н.В. 33, 34, 40  
Козлов А.С. 126, 129  
Козлякова О.В. 122  
Коктыш И.В. 164, 167  
Колоколова Н.Н. 22  
Конюхова С.П. 127  
Копыцкий А.В. 165  
Корепанова Е.А. 88  
Корнилова А.И. 176  
Королик А.К. 122  
Король Ю.Д. 128  
Костевич В.А. 123, 134  
Костюченко Н.С. 59  
Кохан А.Ю. 89, 128, 166  
Кочиш И.И. 147  
Кравченко И.Е. 56, 119  
Красновский А.А. 126, 129  
Красноперов Н.Н. 144  
Крекотень Н.А. 169  
Крицкий М.С. 25, 36  
Крук Н.Н. 23, 24  
Крутько В.К. 175  
Крученок Ю.В. 37  
Кубасов С.Ф. 90  
Кузмицкая П.В. 60, 61  
Кузнецов Б.К. 191  
Кузнецова Е.В. 124  
Кузнецова И.М. 65  
Кузнецова Т.Е. 162  
Кулагова Т.А. 117, 160, 162, 166  
Кулакович О.С. 164, 167  
Кулемзина Т.В. 188  
Куликовская В.И. 180  
Куприенко О.С. 70  
Курьянчик Т.Г. 34

Кустов А.В. 119  
Кухаренко Л.В. 189  
Лабода Н.В. 158  
Лазнев К.В. 35  
Лепешкевич С.В. 62, 68  
Леусенко И.А. 37, 38, 39  
Лещенко В.Г. 190, 193  
Липская Е.А. 150  
Литвинко Н.М. 54, 114, 115  
Литвинов Н.В. 91  
Лобанова Н.Р. 124  
Логинова Н.В. 76  
Лубневская Г.Г. 190  
Луговский А.А. 63, 64, 65, 69,  
111, 158  
Луговский А.П. 111, 158  
Лукша В.И. 177  
Лукьяненко Л.М. 84  
Маес В. 23, 24  
Малашевская А.О. 177  
Малеева Ю.В. 36  
Мальтанова А.М. 111, 158  
Мальчевский В.А. 21, 41  
Мамедзаде Ч.С. 85, 86, 87, 116  
Мансуров В.А. 130  
Мантивола В.Э. 177  
Мartiнович Г.Г. 112, 131  
Мartiнович И.В. 131  
Мартынов А.А. 22  
Марченков Р.Е. 124, 125, 132  
Маскевич А.А. 64, 65, 69  
Маскевич С.А. 164, 165  
Маслова М.В. 83  
Матвееenkova Т.Д. 104  
Матиевский К.А. 178  
Маторин Д.Н. 45  
Медведева Е.И. 33  
Медведков О.И. 126  
Мельникова Я.И. 164, 167  
Мешков Г.А. 124  
Микулич А.В. 37, 38, 39  
Минич Я.С. 179  
Мисюкевич А.Ю. 181, 182  
Митьковская Н.П. 120  
Михальчик Е.В. 134  
Михновец Л.А. 169  
Мкртчян Л.В. 68  
Мотевич И.Г. 92, 165  
Мотолько С.С. 141  
Мурина М.А. 133, 138  
Мусская О.Н. 178  
Набиева Н.Д. 66  
Нагорный Р.К. 37, 38  
Назаренко П.С. 168  
Найда Е.Н. 120  
Нарушко М.В. 21  
Неверов К.В. 36  
Немченко А.А. 93  
Нехорошев М.В. 25  
Ниделько А.А. 183  
Никандров В.Н. 30, 57  
Никитина И.А. 98  
Никифоров А.В. 174  
Никоненко Н.А. 67  
Новицкий И.А. 94, 141  
Обернихин С.С. 151  
Обухов Ю.Н. 36  
Оруджова А.Я. 85, 86, 116  
Осипов А.Н. 52, 110, 113, 118,  
127, 143, 146, 147, 148, 149  
Островский Е.М. 123  
Павлюченко Н.И. 114  
Панарин А.Ю. 170  
Панасенко О.М. 55, 123, 134  
Панкова С.М. 135  
Пархоц М.В. 62, 68  
Пашкевич Л.В. 95, 96  
Пашкевич С.Г. 162  
Перепечко С.А. 168  
Петросян М.А. 176  
Петухов В.И. 136  
Пинчук П.Ю. 137  
Пинчук С.В. 175, 178, 180, 181, 182  
Плавская Л.Г. 37, 38, 39  
Плавский В.Ю. 37, 38, 39  
Плигин Е.И. 64, 65, 69  
Плюснина Т.Ю. 44  
Побойнев В.В. 77  
Позняк С.К. 111, 158  
Позняк Т.А. 184, 185  
Полешко А.Г. 81, 175, 181, 182  
Попова М.В. 148  
Прищепчик Ю.В. 48  
Прокопова К.И. 124

Путинцева О.В. 91  
 Радюк Д.В. 169  
 Разживайкин Д.А. 110  
 Расич В.А. 115  
 Реут В.Е. 55  
 Ризниченко Г.Ю. 44  
 Ронищенко Б.В. 102, 170  
 Рощупкин Д.И. 133, 138  
 Рубин А.Б. 44  
 Рында Е.Г. 183  
 Савина С.М. 48  
 Савченко Г.Е. 42  
 Садардинов Д.Н. 139  
 Садовничук М.Д. 140  
 Сазанович И.В. 62  
 Самович С.Н. 78  
 Самович Т.В. 33, 40  
 Самцов М.П. 111, 144, 158  
 Сапон Е.Г. 77  
 Свечко А.Д. 40  
 Свиридов О.В. 70, 71, 171  
 Семенкова Г.Н. 81, 94, 141  
 Семенов Д.А. 70, 71  
 Семижон П.А. 159, 171  
 Серебро А.М. 141  
 Серченя Т.С. 171  
 Сеферян Т.Е. 68  
 Сидоренко А.В. 142  
 Сидоров А.В. 103  
 Симонов О.А. 41  
 Симонова Е.О. 21, 41  
 Скоробогатова А.С. 84, 140  
 Скоростецкая Л.А. 54  
 Слобожанина Е.И. 84, 120, 121  
 Слонская С.В. 51  
 Смирнов А.А. 97  
 Смирнов В.Ю. 50, 75  
 Смоляков А.А. 111  
 Собчук А.Н. 37, 38, 39  
 Соколов А.В. 55, 123, 134  
 Соколова Л.О. 91  
 Соловых Н.В. 83  
 Солодухо Н.А. 142  
 Сосновская А.А. 78  
 Старовойтова В.А. 73  
 Стародубцева М.Н. 98, 102, 104, 191  
 Степанов Г.О. 52, 113, 118, 129, 143, 149  
 Степура В.И. 50, 64, 65, 74  
 Степура И.И. 50, 75  
 Стожаров А.Н. 77  
 Стрекаль Н.Д. 92, 165  
 Субботин А.М. 21  
 Сулацкая А.И. 65  
 Суховеева С.В. 31, 99  
 Сучков М.Ю. 143  
 Счесленок Е.П. 171  
 Таланкина А.С. 184  
 Тарасик М.С. 122  
 Тарасов Д.С. 63, 144  
 Телегина Т.А. 25, 145  
 Терехов И.И. 124, 125, 132  
 Терехов С.Н. 28, 170  
 Теселкин Ю.О. 110, 146  
 Тимохина Е.П. 151  
 Тимошенко А.Г. 158  
 Титов В.Ю. 147, 148  
 Тихинская Д.В. 141  
 Тишук О.И. 181, 182  
 Ткалич Е.С. 185  
 Тодоренко Д.А. 45  
 Токальчик Д.П. 162  
 Торопыгина М.И. 124  
 Третьяк С.И. 185  
 Третьякова А.И. 37, 38, 39  
 Трофимов Ю.В. 31  
 Трушель Н.А. 130  
 Туроверов К.К. 65  
 Тюлькова Е.Г. 42  
 Умудлу У.Н. 86, 116  
 Урбан В.А. 168  
 Урбанович О.Ю. 60, 61  
 Фалетров Я.В. 58, 73, 76, 100, 101  
 Филиппова Г.Г. 43  
 Хамицевич А.А. 169  
 Харитонов Д.В. 149  
 Хильманович В.Н. 165, 192  
 Холявка М.Г. 135  
 Хрусталёв В.В. 59, 77  
 Хрусталёва Т.А. 59, 77  
 Хруцкий В.Ю. 78, 94  
 Хрущев С.С. 44  
 Чайковская А.А. 92  
 Челнокова И.А. 98, 102, 170  
 Чепелева Е.В. 40

Чиркин А.А. 137  
 Шаденко В.Н. 103  
 Шадыро О.И. 78, 81, 94  
 Шалина Р.И. 148  
 Шалыго Н.В. 77  
 Шамова Е.В. 89, 128, 166  
 Шафорост А.С. 150  
 Шаховская О.В. 104  
 Шеламова М.А. 190, 193  
 Шиман О.В. 92  
 Ширвель Д.Ю. 185  
 Шклярова А.Н. 98  
 Шкуматов В.М. 58, 73, 76, 100, 101  
 Шман Т.В. 119  
 Шмелева Е.В. 134  
 Шулганова А.В. 141  
 Шулепова Э.А. 183  
 Шульга А.В. 92  
 Щербин Д.Г. 169  
 Юдаева А.Д. 88  
 Яглов В.В. 151  
 Яглова Н.В. 151  
 Якимчук С.В. 37, 38, 39  
 Яковец П.С. 101  
 Яковлева О.В. 45  
 Янцевич А.В. 50, 75  
 Брышэўска М. 172  
 Юнаў М. 172  
 Магіера Я. 172  
 Мажараль Ж.-П. 172  
 Церахава М.М. 172  
 Ціў Дж. 172  
 Шчарбін Д.Г. 172  
 Aghajanyan A.A. 153, 154  
 Amaegberi N.V. 106  
 Azizov I.V. 19  
 Barczewski M. 107  
 Blaudeck T. 156  
 von Borczyskowski C. 156  
 Dzhagan V.N. 156  
 Faletrov Y. 80  
 Gabrielyan L.S. 153, 154  
 Goltsev M.V. 107  
 Grafaskaia E.N. 108  
 Gröger R. 107  
 Gulizade S.F. 20  
 Harutyunyan A.A. 153  
 Israa Akram Hantoosh 92  
 Kablov I. 47  
 Khanishova M.A. 19  
 Koifman O.I. 156  
 Kravchenko I. 47  
 Kukhareno L.V. 107  
 Kulikova O.M. 156  
 Kutsevol N. 47  
 Latsis I.A. 108  
 Lazarev V.N. 108  
 Le Hang Dang 39  
 Lukyanava K.A. 106  
 Melnikova E.A. 106  
 Moroz G.D. 108  
 Ngoc Quyen Tran 39  
 Panasenko O.M. 108  
 Pozniak H. 80  
 Raievska O.E. 156  
 Sadigova K.A. 20  
 Scheinin V.B. 156  
 Schimmel Th. 107  
 Selyshchev O.N. 156  
 Semenkova G.N. 106  
 Shadyro O.I. 106  
 Shkumatov V. 80  
 Shulhanova A.V. 106  
 Stroyuk O.L. 156  
 Tagiyeva K.R. 19  
 Timotina M. 154  
 Trchounian K. 154  
 Urban V.A. 155  
 Vakhrusheva T.V. 108  
 Veresov V.G. 155  
 Walheim S. 107  
 Zahn D.R.T. 156  
 Zenkevich E.I. 156, 157  
 Zhang Y. 106  
 Zorin V. 47  
 Zorina T. 47

## КОНТАКТНЫЕ ДАННЫЕ АВТОРОВ

Авдеева Е.В.	<a href="mailto:shukova.yekaterina@yandex.by">shukova.yekaterina@yandex.by</a>
Аверина Н.Г.	<a href="mailto:averina_ng@tut.by">averina_ng@tut.by</a>
Агейко С.А.	<a href="mailto:swet.labor2010@yandex.by">swet.labor2010@yandex.by</a>
Аль Меселмани М.А.	<a href="mailto:drmouhand78@inbox.ru">drmouhand78@inbox.ru</a>
Амаэгбери Н.В.	<a href="mailto:n.amaegberi@gmail.com">n.amaegberi@gmail.com</a>
Арабей С.М.	<a href="mailto:sarguei.arabei@gmail.com">sarguei.arabei@gmail.com</a>
Бабенкова И.В.	<a href="mailto:babenkova.iv@mail.ru">babenkova.iv@mail.ru</a>
Белая О.Н.	<a href="mailto:medrecovery@rambler.ru">medrecovery@rambler.ru</a>
Белько Н.В.	<a href="mailto:nikita.belko@gmail.com">nikita.belko@gmail.com</a>
Благова А.В.	<a href="mailto:annablagova2000@mail.ru">annablagova2000@mail.ru</a>
Бобрукевич Д.В.	<a href="mailto:bobrukevich.darya@gmail.com">bobrukevich.darya@gmail.com</a>
Богданова А.В.	<a href="mailto:bognastya23@mail.ru">bognastya23@mail.ru</a>
Буглак А.А.	<a href="mailto:andreybuglak@gmail.com">andreybuglak@gmail.com</a>
Будаговская О.Н.	<a href="mailto:budolganik@mail.ru">budolganik@mail.ru</a>
Будаговский А.В.	<a href="mailto:budagovsky@mail.ru">budagovsky@mail.ru</a>
Бутенко А.В.	<a href="mailto:annabutenka@tut.by">annabutenka@tut.by</a>
Василевская Е.Д.	<a href="mailto:lydiask@mail.ru">lydiask@mail.ru</a>
Венская Е.И.	<a href="mailto:e.i.rusina@mail.ru">e.i.rusina@mail.ru</a>
Вересов В.Г.	<a href="mailto:veresov@ibp.org.by">veresov@ibp.org.by</a>
Вершиловская И.В.	<a href="mailto:vi_va@tut.by">vi_va@tut.by</a>
Вечтомова Ю.Л.	<a href="mailto:vechtomova@inbi.ras.ru">vechtomova@inbi.ras.ru</a>
Викс Т.Н.	<a href="mailto:aleksandrbazhin@mail.ru">aleksandrbazhin@mail.ru</a>
Войнаровский В.В.	<a href="mailto:voynarovskiy197@mail.ru">voynarovskiy197@mail.ru</a>
Волков В.В.	<a href="mailto:volkov.vv.work@mail.ru">volkov.vv.work@mail.ru</a>
Герловский Д.О.	<a href="mailto:denis2904-83@mail.ru">denis2904-83@mail.ru</a>
Голубева Е.Н.	<a href="mailto:golubeva.ln.87@gmail.com">golubeva.ln.87@gmail.com</a>
Григорьева Д.В.	<a href="mailto:dargr@tut.by">dargr@tut.by</a>
Гулиева Р.Т.	<a href="mailto:ruhiyya.guliyeva@yahoo.com">ruhiyya.guliyeva@yahoo.com</a>
Дадашов М.З.	<a href="mailto:mursald@mail.ru">mursald@mail.ru</a>
Дембский В.В.	<a href="mailto:vladdembski@yandex.by">vladdembski@yandex.by</a>
Денисов А.А.	<a href="mailto:an.denisov@gmail.com">an.denisov@gmail.com</a>
Джафарова С.А.	<a href="mailto:jafsa68@gmail.com">jafsa68@gmail.com</a>
Екимчик В.В.	<a href="mailto:yekimchikvadim@gmail.com">yekimchikvadim@gmail.com</a>
Жиленкова А.Е.	<a href="mailto:angelinazilenkova@gmail.com">angelinazilenkova@gmail.com</a>

Журавлева Э.Р. [evel99@mail.ru](mailto:evel99@mail.ru)  
Зенькевич Э.И. (Zenkevich E.I.) [zenkev@tut.by](mailto:zenkev@tut.by)  
Зорин В.П. (Zorin V.) [vpzarin@mail.ru](mailto:vpzarin@mail.ru)  
Зорина Т.Е. [zorinate@mail.ru](mailto:zorinate@mail.ru)  
Зубрицкая Г.П. [petro371@mail.ru](mailto:petro371@mail.ru)  
Ибрагимова У.Ф. [filiptsova@bsu.by](mailto:filiptsova@bsu.by)  
Иванов А.А. [ivanovphysics@gmail.com](mailto:ivanovphysics@gmail.com)  
Иванов В.А. [vanov.va@inbox.ru](mailto:vanov.va@inbox.ru)  
Ивашин Н.В. [inv\\_vni@mail.ru](mailto:inv_vni@mail.ru)  
Игнатович Л.В. [lane\\_ignatovich@mail.ru](mailto:lane_ignatovich@mail.ru)  
Ильючик И.А. [irina.iliuchik@mail.ru](mailto:irina.iliuchik@mail.ru)  
Кабачевская Е.М. [kabachevskaya@lab.ibp.org.by](mailto:kabachevskaya@lab.ibp.org.by)  
Кабашникова Л.Ф. [kabashnikova@mail.ru](mailto:kabashnikova@mail.ru)  
Козел Н.В. [kozel.mikalai@gmail.com](mailto:kozel.mikalai@gmail.com)  
Коктыш И.В. [univer.yanina@gmail.com](mailto:univer.yanina@gmail.com)  
Конюхова С.П. [sopfia.k.2000@gmail.com](mailto:sopfia.k.2000@gmail.com)  
Копыцкий А.В. [andrey\\_cop@mail.ru](mailto:andrey_cop@mail.ru)  
Корнилова А.И. [an.kornilova@mail.ru](mailto:an.kornilova@mail.ru)  
Костюченко Н.С. [nkostuchenko888@gmail.com](mailto:nkostuchenko888@gmail.com)  
Кохан А.Ю. [rrchyp@gmail.com](mailto:rrchyp@gmail.com)  
Кубасов С.Ф. [savely.kubasov@gmail.com](mailto:savely.kubasov@gmail.com)  
Кузмицкая П.В. [p.kuzmitskaya@igc.by](mailto:p.kuzmitskaya@igc.by)  
Кулагова Т.А. [tatyana\\_kulagova@tut.by](mailto:tatyana_kulagova@tut.by)  
Кулемзина Т.В. [u.ibrahimova@yahoo.com](mailto:u.ibrahimova@yahoo.com)  
Курьянчик Т.Г. [t.kuryanchyk@gmail.com](mailto:t.kuryanchyk@gmail.com)  
Кухаренко Л.В. (Kukharenko L.V.) [lvk@europe.com](mailto:lvk@europe.com)  
Лепешкевич С.В. [s.lepeshkevich@ifanbel.bas-net.by](mailto:s.lepeshkevich@ifanbel.bas-net.by)  
Лещенко В.Г. [s\\_leshenko@mail.ru](mailto:s_leshenko@mail.ru)  
Луговский А.А. [lugovski1111@gmail.com](mailto:lugovski1111@gmail.com)  
Лукьяненко Л.М. [lukyanenko@gmail.com](mailto:lukyanenko@gmail.com)  
Мансуров В.А. [mansurov@tut.by](mailto:mansurov@tut.by)  
Мантивода В.Э. [veronikamantivoda@gmail.com](mailto:veronikamantivoda@gmail.com)  
Мартинovich И.В. [parkun@bsu.by](mailto:parkun@bsu.by)  
Мартынов А.А. [m76549@gmail.com](mailto:m76549@gmail.com)  
Марченков Р.Е. [genkirus@mail.ru](mailto:genkirus@mail.ru)  
Маскевич А.А. [amaskevich@grsu.by](mailto:amaskevich@grsu.by)



Матиевский К.А. [kirill.matievskiy@mail.ru](mailto:kirill.matievskiy@mail.ru)  
Мельникова Я.И. [unive.yanina@gmail.com](mailto:unive.yanina@gmail.com)  
Минич Я.С. [yanaminich1094@gmail.com](mailto:yanaminich1094@gmail.com)  
Мотевич И.Г. [i.motevich@grsu.by](mailto:i.motevich@grsu.by)  
Мурина М.А. [marina\\_murina@mail.ru](mailto:marina_murina@mail.ru)  
Набиева Н.Д. [khalilovrashad@mail.ru](mailto:khalilovrashad@mail.ru)  
Назаренко П.С. [nazarenko.polinas@gmail.com](mailto:nazarenko.polinas@gmail.com)  
Неверов К.В. [neverovk@mail.ru](mailto:neverovk@mail.ru)  
Немченко А.А. [anna.nemchenko98@gmail.com](mailto:anna.nemchenko98@gmail.com)  
Никоненко Н.А. [nikonbelisa@mail.ru](mailto:nikonbelisa@mail.ru)  
Панасенко О.М. [o-panas@mail.ru](mailto:o-panas@mail.ru)  
Панкова С.М. [sazykina.93@mail.ru](mailto:sazykina.93@mail.ru)  
Пархоц М.В. [m.parkhots@ifanbel.bas-net.by](mailto:m.parkhots@ifanbel.bas-net.by)  
Пашкевич Л.В. [ljubi.k87@gmail.com](mailto:ljubi.k87@gmail.com)  
Петухов В.И. [viphema@inbox.lv](mailto:viphema@inbox.lv)  
Пинчук С.В. [pinchuksv@mail.ru](mailto:pinchuksv@mail.ru)  
Плавский В.Ю. [v.plavskii@ifanbel.bas-net.by](mailto:v.plavskii@ifanbel.bas-net.by)  
Плигин Е.И. [epligin@tut.by](mailto:epligin@tut.by)  
Полешко А.Г. [renovacio888@yandex.ru](mailto:renovacio888@yandex.ru)  
Попова М.В. [mayhemly@mail.ru](mailto:mayhemly@mail.ru)  
Радюк Д.В. [dasharaduk@gmail.com](mailto:dasharaduk@gmail.com)  
Рошупкин Д.И. [roshchupkin\\_di@rsmu.ru](mailto:roshchupkin_di@rsmu.ru)  
Рында Е.Г. [alenarynda@gmail.com](mailto:alenarynda@gmail.com)  
Садардинов Д.Н. [sadardinovd@gmail.com](mailto:sadardinovd@gmail.com)  
Садовничук М.Д. [mariasadovnichuk@gmail.com](mailto:mariasadovnichuk@gmail.com)  
Семенкова Г.Н. [galina\\_semenkova@yahoo.com](mailto:galina_semenkova@yahoo.com)  
Семёнов Д.А. [dsiamionau@gmail.com](mailto:dsiamionau@gmail.com)  
Серченя Т.С. [serchenya@iboch.by](mailto:serchenya@iboch.by), [serchenya@tut.by](mailto:serchenya@tut.by)  
Сидоров А.В. [sidorov@bsu.by](mailto:sidorov@bsu.by)  
Симонова Е.О. [mailsimonova@gmail.com](mailto:mailsimonova@gmail.com)  
Смирнов А.А. [aasm96@bk.ru](mailto:aasm96@bk.ru)  
Соколова Л.О. [lyudmila.sokolova.94@mail.ru](mailto:lyudmila.sokolova.94@mail.ru)  
Солодухо Н.А. [malkomus@gmail.com](mailto:malkomus@gmail.com)  
Старовойтова В.А. [vika.starovoytova17@gmail.com](mailto:vika.starovoytova17@gmail.com)  
Стародубцева М.Н. [marysta@mail.ru](mailto:marysta@mail.ru)  
Степура В.И. [stsiapura@gmail.com](mailto:stsiapura@gmail.com)

Суховаева С.В. [suhoveevalmbc@mail.ru](mailto:suhoveevalmbc@mail.ru)  
Сучков М.Ю. [max.suchkov3001@yandex.ru](mailto:max.suchkov3001@yandex.ru)  
Таланкина А.С. [atalankinaa@gmail.com](mailto:atalankinaa@gmail.com)  
Тарасов Д.С. [dmitrij-tarasov@list.ru](mailto:dmitrij-tarasov@list.ru)  
Телегина Т.А. [telegina.43@mail.ru](mailto:telegina.43@mail.ru)  
Терехов С.Н. [s.terekhov@ifanbel.bas-net.by](mailto:s.terekhov@ifanbel.bas-net.by)  
Теселкин Ю.О. [teselkin-box@mail.ru](mailto:teselkin-box@mail.ru)  
Титов В.Ю. [vtitov43@yandex.ru](mailto:vtitov43@yandex.ru)  
Ткалич Е.С. [t140786@gmail.com](mailto:t140786@gmail.com)  
Тюлькова Е.Г. [tut-3@mail.ru](mailto:tut-3@mail.ru)  
Фалетров Я.В. (Faletrov Y.) [yaroslav82@tut.by](mailto:yaroslav82@tut.by)  
Филипцова Г.Г. [tania\\_gavrilenko@mail.ru](mailto:tania_gavrilenko@mail.ru)  
Харитонов Д.В. [alexeeva.arsenia@gmail.com](mailto:alexeeva.arsenia@gmail.com)  
Хильманович В.Н. [olnikbel@yandex.ru](mailto:olnikbel@yandex.ru)  
Хильманович В.Н. [valentina-gr@yandex.ru](mailto:valentina-gr@yandex.ru)  
Хрусталёв В.В. [vkhrustalev@mail.ru](mailto:vkhrustalev@mail.ru)  
Хрущев С.С. [styx@biophys.msu.ru](mailto:styx@biophys.msu.ru)  
Церахава М.М. [maryterekhova@tut.by](mailto:maryterekhova@tut.by)  
Челнокова И.А. [irenachelnokova@gmail.com](mailto:irenachelnokova@gmail.com)  
Чиркин А.А. [chir@tut.by](mailto:chir@tut.by)  
Шамова Е.В. [lubakova@gmail.com](mailto:lubakova@gmail.com)  
Шафорост А.С. [asofocl@mail.ru](mailto:asofocl@mail.ru)  
Шаховская О.В. [s.o.v.94@mail.ru](mailto:s.o.v.94@mail.ru)  
Шеламова М.А. [marinashelamova@mail.ru](mailto:marinashelamova@mail.ru)  
Шкуматов В.М. [biopharm@bsu.by](mailto:biopharm@bsu.by)  
Яглова Н.В. [yaglova@mail.ru](mailto:yaglova@mail.ru)  
Яковлева О.В. [oolga.yakovleva@gmail.com](mailto:oolga.yakovleva@gmail.com)  
Azizov I.V. [ibrahim.azizov47@gmail.com](mailto:ibrahim.azizov47@gmail.com)  
Harutyunyan A.A. [aniharutyunyan@ysu.am](mailto:aniharutyunyan@ysu.am)  
Sadigova K.A. [kemale.sadiqova@mail.ru](mailto:kemale.sadiqova@mail.ru)  
Timotina M. [timotina.mar@gmail.com](mailto:timotina.mar@gmail.com)  
Vakhrusheva T.V. [tvvakhrusheva@yahoo.com](mailto:tvvakhrusheva@yahoo.com)