

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ОТДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК
СЕКЦИЯ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ
НАУЧНЫЙ СОВЕТ РАН ПО БИОФИЗИКЕ
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ
ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ КЛЕТКИ РАН
ИНСТИТУТ ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОФИЗИКИ РАН
ИНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ РАН
ИНСТИТУТ ПРИКЛАДНОЙ ФИЗИКИ РАН
НИЖЕГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. Н.И. ЛОБАЧЕВСКОГО
МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. М.В. ЛОМОНОСОВА

IV СЪЕЗД БИОФИЗИКОВ РОССИИ

20-26 августа 2012 г.
Нижний Новгород
Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского

Симпозиум III
«Физика –
медицине и экологии»

МАТЕРИАЛЫ ДОКЛАДОВ

Нижний Новгород · 2012

УДК 577.3

IV Съезд биофизиков России. Симпозиум III «Физика - медицине и экологии». Материалы докладов. – Нижний Новгород, 2012. - 290 с.

В сборнике представлены материалы симпозиума III «Физика - медицине и экологии» IV Съезда биофизиков России. Основные направления работы симпозиума: медицинская физика, биофотоника, действие физико-химических факторов на биологические системы, экологическая биофизика.

Сборник предназначен для биофизиков, биохимиков, молекулярных биологов, специалистов, работающих в различных областях физико-химической биологии. Он может быть также полезен для студентов и аспирантов, специализирующихся в данной отрасли знания.

Ответственный редактор: чл.-корр. РАН А.Б. Рубин

*Проведение симпозиума III
«Физика - медицине и экологии»
в рамках IV Съезда биофизиков России поддержано Российским
фондом фундаментальных исследований (грант № 12-02-06108-г)*

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ:

Рубин А.Б., член-корр. РАН – сопредседатель
Чупрунов Е.В., профессор, ректор ННГУ – сопредседатель
Воденев В.А., докт. биол. наук – зам. председателя
Иваницкий Г.Р., член-корр. РАН – зам. председателя
Фесенко Е.Е., член-корр. РАН – зам. председателя
Штранкфельд И.Г., канд. биол. наук – ответственный секретарь

Артюхов В.Г., проф., д.б.н.	Колчанов Н.А., акад. РАН
Бурлакова Е.Б., проф., д.б.н.	Комаров В.М., проф., д.б.н.
Вашанов Г.А., проф. д.б.н.	Крышталь О. А., чл.-корр. РАН, акад. НАН Украины
Владимиров Ю.А., акад. РАМН	Макаров А.А., акад. РАН
Волотовский И.Д., акад. НАН Белоруссии	Монаселидзе Д. Р., проф., д.ф.-м.н.
Гительзон И.И., акад. РАН	Намиот В.А., д.ф.-м.н.
Готтих Б.П., проф., д.х.н.	Никольский Н.Н., акад. РАН
Григорьев А.И., акад. РАН и РАМН	Островский М.А., акад. РАН
Гурбатов С.Н., проф., д.ф.-м.н.	Пирузян Л.А., акад. РАН
Гурский Г.В., чл.-корр. РАН	Ризниченко Г.Ю., проф., д.ф.-м.н.
Гусев Н.Б., чл.-корр. РАН	Розанов А.Ю., акад. РАН
Дегерменджи А.Г., акад. РАН	Савицкий А.П., проф., д.х.н.
Есипова Н.Г., к.ф.-м.н.	Твердислов В.А., проф., д.ф.-м.н.
Заалишвили М. М., акад. АН Грузии	Ткачук В.А., акад.РАН
Иванов В.Т., акад. РАН	Туманян В.Г., проф., д.ф.-м.н.
Карнаухов В.Н., к.б.н.	Чизмаджев Ю.А., чл.-корр. РАН
Кирпичников М.П., акад. РАН	Шувалов В.А., акад. РАН

ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ:

Рубин А.Б., член-корр. РАН – председатель
Есипова Н.Г., канд. физ.-мат. наук – зам. председателя

Антонов В.Ф., проф., д.б.н.	Подлубная З.А., проф., д.б.н.
Атауллаханов Ф.И., проф., д.б.н.	Ризниченко Г.Ю., проф., д.ф.-м.н.
Бурлакова Е.Б., проф., д.б.н.	Романовский Ю.М., проф., д.ф.-м.н.
Ванин А.Ф., проф., д.ф.-м.н.	Рощупкин Д.И., чл.-корр. РАМН
Вашанов Г.А., проф., д.б.н.	Семьянов А.В., проф., д.б.н.

Владимиров Ю.А., акад. РАН

Воденеев В.А., д.б.н.

Гельфанд М.С., проф. д.б.н.

Гречкин А.Н., акад. РАН

Загайнова Е.В., д.м.н.

Зинченко В.П., д.ф.-м.н.

Иваницкий Г.Р., чл.-корр. РАН

Казанцев В.Б., д.ф.-м.н.

Карнаухов В.Н., к.б.н.

Колесников С.С., проф., д.б.н.

Комарова Л.Ф.

Красавин Е.А., проф., д.б.н.

Крицкий М.С., проф., д.б.н.

Максимов Г.В., проф., д.б.н.

Мухина И.В., проф., д.б.н.

Намиот В.А., проф., д.ф.-м.н.

Сергеев А.М., чл.-корр. РАН

Слобожанина Е.И., чл.-корр. НАН Белоруссии

Соболев А.С., проф., д.б.н.

Твердислов В.А., проф., д.ф.-м.н.

Туманян В.Г., проф., д.ф.-м.н.

Фесенко Е.Е., чл.-корр. РАН

Финкельштейн А.В., проф., д.ф.-м.н.

Цатурян А.К., проф., д.ф.-м.н.

Черенкевич С.Н., акад. НАН Белоруссии

Чернавский Д.С., проф. д.ф.-м.н.

Шайтан К.В., проф., д.ф.-м.н.

Штранкфельд И.Г., к.б.н.

Ягужинский Л.С., проф., д.б.н.

Яминский И.В., проф., д.ф.-м.н.

Яхно В.Г., проф., д.ф.-м.н.

ЛОКАЛЬНЫЙ ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ:

Воденеев В.А., д.б.н. – председатель, зав. каф. биофизики

Веселов А.П., проф., д.б.н. – декан биологического ф-та

Загайнова Е.В., д.м.н. – зав. каф. биомедицины

Казанцев В.Б., д.ф.-м.н. – зав. каф. нейродинамики и нейробиологии

Абрамова Н.Н.

Акинчиц Е.К.

Балалаева И.В., к.б.н.

Глушаева Т.С.

Катичева Л.А.

Лебедева А. В.

Леканова Н.Ю.

Мысягин С.А., к.б.н.

Орлова А.Г., к.б.н.

Орлова О.В., к.б.н.

Половинкина Е.О., к.б.н.

Синицына Ю.В., к.б.н.

Сухов В.С., к.б.н.

Черкасова Е.И., к.б.н.

МАТЕРИАЛЫ ДОКЛАДОВ

**ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ
НА ФОРМИРОВАНИЕ ОКТ-ИЗОБРАЖЕНИЯ КОЖИ.****The effect of temperature on formation of skin OCT-images.****Агрба П.Д.^{1,2}, Бакшаева Е.А.^{1,2}, Кириллин М.Ю.^{2,1}**

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

²Институт прикладной физики РАН, 603950, г. Нижний Новгород. ГСП - 120, ул. Ульянова, 46.

Тел.:8(831)4164619, e-mail.:agrbapd@gmail.com

Метод оптической когерентной томографии (ОКТ), основанный на низкокogerентной интерферометрии, позволяет визуализировать внутреннюю структуру биоткани на глубинах до 2мм с разрешением до 10 мкм. Информация, получаемая методом ОКТ, основана на обратно рассеянной части зондирующего излучения. Рассеяние происходит на границах внутренних неоднородностей, где показатель преломления претерпевает скачок. В качестве интегральной характеристики рассеяния используется коэффициент рассеяния, который характеризует состояние, на котором коллимированный пучок ослабляется в e раз за счет рассеяния. Коэффициент рассеяния внутри биоткани может изменяться при внешних воздействиях, таких как применение просветляющих или контрастирующих агентов (например, в составе лечебных кремов, кремов от загара), механическая компрессия (например, при диагностике с помощью контактных ОКТ-зондов), а также изменение температурного режима.

В работе приведены результаты пилотных исследований по влиянию предварительного температурного воздействия на формирование ОКТ-изображений тонкой кожи человека. Температурное воздействие осуществлялось с помощью помещения на поверхность объекта термостата при температурах -15°C (охлаждение) и $+46^{\circ}\text{C}$ (нагрев).

Было показано, что контраст между эпидермальным и дермальным слоями на ОКТ-изображениях при предварительном охлаждении возрастает, а при нагреве - снижается. Данный эффект может быть связан с изменением пространственного распределения коэффициента преломления при изменении температуры, а следовательно изменением коэффициента рассеяния внутри биоткани. Кроме того, при изменении температуры происходит изменение кровенасыщения верхней дермы, что ведет к изменению поглощения в слое и, в свою очередь, к изменению контраста слоев на ОКТ-изображении.

Также в работе была исследована временная зависимость контраста при компрессии биоткани после температурного воздействия при релаксации температуры к нормальному значению. Зависимость контраста, полученная при предварительном охлаждении, располагалась выше, а при нагревании - ниже контрольной зависимости, полученной при компрессии без температурного воздействия. Соотношение между контрастами сохранялось даже после полной релаксации температуры к нормальному значению, что говорит о наличии более долговременного эффекта чем время наблюдения (7 минут).

НЕКОВАЛЕНТНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПОЛИМЕТИНОВОГО КРАСИТЕЛЯ CYAN2 С ДНК, ХОНДРОИТИН 4-СУЛЬФАТОМ И ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТОЙ: СПЕКТРАЛЬНО-ФЛУОРЕСЦЕНТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ.

Noncovalent interaction of a polymethine dye Cyan2 with DNA, chondroitin 4-sulfate and hyaluronic acid: spectral and fluorescent study.

Акимкин Т. М.¹, Татицолов А. С.¹, Ярмолюк С. М.²

¹ - Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля РАН, Москва, РФ

² - Институт молекулярной биологии и генетики НАНУ, Киев, Украина
Тел.: (495) 939-71-71; e-mail: aki.tim@gmail.com

В настоящей работе с помощью спектрально-флуоресцентных измерений изучается нековалентное взаимодействие полиметинового красителя (ПК) 3,3',9'-триметилтиакарбонцианина (Cyan2) с ДНК и двумя структурно сходными гликозаминагликанами: хондроитин 4-сульфатом (Х4С) и гиалуроновой кислотой (ГК) в водном растворе при различных условиях. ПК обладают способностью изменять свои спектрально-флуоресцентные свойства в присутствии биомакромолекул, что представляется перспективным с точки зрения поиска и разработки спектрально-флуоресцентных зондов на эти биомакромолекулы.

Для изучения взаимодействия красителя с ДНК проводились совместные измерения спектров поглощения и флуоресценции красителя. При увеличении концентрации ДНК в системе Cyan2-ДНК наблюдались падение, батохромный сдвиг и последующий рост полосы поглощения красителя и рост квантового выхода флуоресценции (максимальный $\Phi_f \approx 0.15$). Рост значения Φ_f красителя при увеличении концентрации ДНК был смоделирован математически. Эффективная константа связывания и число связывания Cyan2 с ДНК были получены из аппроксимации экспериментальных значений модельной кривой роста Φ_f .

Другой тип взаимодействия наблюдался в системе краситель-ГК. По мере увеличения концентрации ГК происходило появление коротковолновых полос в спектре поглощения и рост их интенсивности вследствие образования Н-агрегатов Cyan2 (упорядоченных агрегатов молекул красителя) на молекулах ГК. Для этих агрегатов определено число агрегации $n = 3$. Была обнаружена зависимость интенсивности агрегирования красителя от pH среды и ионной силы раствора. Рост Φ_f при данном взаимодействии отсутствует.

В системе Cyan2-Х4С в отсутствие буфера был обнаружен смешанный тип взаимодействия красителя с биополимером. Вплоть до соотношения концентраций мономеров Cyan2 и Х4С $\approx 1:1$ наблюдалось образование Н-агрегатов. При дальнейшем увеличении концентрации биополимера Н-агрегаты распадались, и наблюдались батохромный сдвиг и рост полосы поглощения красителя, а также рост Φ_f системы ($\Phi_f^{\max} \approx 0.7$). В системе Cyan2-Х4С в буферных растворах Н-агрегаты красителя не образуются, но наблюдается рост Φ_f . Также была обнаружена зависимость Φ_f Cyan2, связанного с Х4С, от pH среды. Так, при pH 4.5 и 9.0 $\Phi_f \approx 0.7$ ($\Phi_f^{\text{Cyan2}} = 0.002$), а при pH 7.0 $\Phi_f \approx 0.2$. Оценены параметры связывания.

Основываясь на полученных результатах, мы предложили краситель Cyan2 в качестве спектрального зонда для обнаружения ГК и спектрально-флуоресцентного зонда для обнаружения Х4С и ДНК в биологических системах.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект №10-03-00647а).

**ЭНДОМЕТРИАЛЬНЫЕ МЕЗЕНХИМНЫЕ КЛЕТКИ,
ВЫЖИВШИЕ ПОСЛЕ СУБЛЕТАЛЬНОГО ТЕПЛООВОГО ШОКА,
СОХРАНЯЮТ СВОЙСТВА СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

**Endometrial mesenchymal cells survived sublethal heat shock sustain stem cell
properties**

**Алексеев Л.Л.¹, Фридлянская И.И.¹, Зенин В.В.¹, Земелько В.И.¹, Гринчук Т.М.¹,
Никольский Н.Н.¹**

1 - Институт цитологии РАН, 194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий пр.,4;
Тел.: +7(812)297-23-13; факс: +7 (812)297-03-41; e-mail: al.l.l@mail.ru

Уникальность стволовых клеток взрослого организма позволяет им дифференцироваться в различные типы клеток, мигрировать в поврежденные ткани и замещать пострадавшие или погибшие клетки. При этом сами стволовые клетки, несмотря на их уязвимость к стрессам, должны оставаться генетически стабильными и сохранять свои изначальные мультипотентные свойства.

Целью настоящей работы является изучение воздействия повышенной температуры (45°C, 30 мин) на мезенхимные стволовые клетки (МСК) из дескваминированного эндометрия, обладающие высокой степенью пролиферации и способностью к длительному культивированию *in vitro*.

Тепловой шок является сильным индуктором апоптоза. Тем не менее, в наших исследованиях при окрашивании эндометриальных МСК ДНК-связывающим красителем DAPI и методом проточной цитофлуориметрии при окраске аннексином-V, через 4 часа после термического воздействия апоптотических клеток обнаружено не было. При построении кривых роста и методом иммуноцитохимии с помощью антител против **Ki67, который является маркером пролиферации**, мы обнаружили, что в течение 3 дней после прогрева эндометриальные МСК перестают пролиферировать. Распределение эндометриальных МСК по фазам клеточного цикла, которое оценивали при помощи проточной цитофлуориметрии, показало, что через 24 часа после теплового шока происходит остановка клеточного деления в фазах G2/M и G0/G1. Через 48 и 72 часа после теплового воздействия распределение клеток по фазам клеточного цикла остается неизменным. Арест клеточного цикла в фазах **G2/M и G0/G1 может сопровождаться стресс-индуцированным старением**. В нашем эксперименте клетки, подверженные преждевременному старению, выявляли по изменению их морфологии и усилению активности ассоциированной со старением β-галактозидазы. Было выявлено, что уже через 24 часа после термического воздействия количество X-Gal позитивных клеток увеличивается на 10% по сравнению с контролем и через 72 часа достигает 60%. Клетки, пережившие сублетальное температурное воздействие, культивировали длительное время (10 пассажей) в стандартных условиях, после чего проверяли их свойства. Результаты исследований показали, что выжившие после теплового шока потомки эндометриальных МСК не меняют свою морфологию, подвержены репликативному старению и сохраняют высокую экспрессию поверхностных маркеров CD13, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, подтверждающих их мезенхимное происхождение.

Работа выполнена в рамках ГК 16.512.11.2191

**ФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ
В УСЛОВИЯХ ТРАНСПОРТНОЙ НАГРУЗКИ****Fluorescence of wood plants in the conditions of transport pressure****Алиева М.Ю.**

Прикаспийский институт биологических ресурсов ДНЦ РАН, 367000, Махачкала,
ул.М.Гаджиева, 45.

Тел./факс: +7(8722)67-58-81; e-mail: pibrdncran@mail.ru

В крупных городах России с мало развитой промышленностью вклад автотранспорта в суммарное загрязнение атмосферного воздуха соизмерим с выбросами промышленных предприятий и в отдельных случаях достигает 80–90% (Махачкала, Нальчик, Якутск, Горно-Алтайск и др.) [1]. Среди загрязняющих веществ особую биологическую опасность представляют тяжелые металлы. Известно что, в почвах придорожных зон наиболее интенсивно накапливаются валовые и подвижные формы свинца, цинка, меди, олова, молибдена, кобальта, железа и т.д.

Флуоресценция надежно характеризует влияние экстремальных условий на фотосинтезирующие органы растений и отражает их физиологическое состояние. Изучалось влияние загрязняющих веществ поступающих в среду с выбросами автотранспорта на флуоресцентные показатели древесных растений видов *Robinia pseudoacacia*, *Platanus orientalis* L, *Populus nigra* L. произрастающих на участке с интенсивной транспортной нагрузкой (проспект) и в питомниковой зоне городского парка.

Произведенный анализ почв, исследуемых территорий, показал повышенное содержание Pb, Zn, Co, Cu в зоне проспекта. Фотосинтетическая активность листьев деревьев исследованных нами произрастающих в парковой зоне была на 10-15% выше, чем у деревьев на проспекте, что сопоставимо с данными других авторов, по промышленным районам, где содержание в почве солей тяжелых металлов превышало допустимые нормы в 3 - 10 раз, [2].

Значение вариабельной флуоресценции (Fv) (соответствующей части энергии света, используемой открытыми реакционными центрами в фотосинтезе и характеризующей активность начальных стадий фотосинтеза) у деревьев, произрастающих в парковой зоне выше, чем у образцов на проспекте. Эта тенденция четко выражена у листьев Платана восточного и Тополя черного. Уменьшение интенсивности флуоресценции часто связано с уменьшением концентрации хлорофилла, высокая фотосинтетическая активность (Fv/Fm) не требуется в условиях стресса. Робиния лжеакация демонстрирует устойчивость к загрязняющим факторам среды, что возможно обусловлено ее видовыми характеристиками. Флуоресцентные характеристики ее листьев у обоих образцов идентичны.

1. Экологическая обстановка в регионах. Раздел 1. Общая характеристика загрязнения окружающей среды.

Электронный журнал. <http://lib.unidubna.ru/search/files/>

2. Фатеева Н.Л., Клишкин А.В., Бендер О.В., Зотикова А.П., Ямбуров М.С. Исследование лазерно-индуцированной флуоресценции хвойных и лиственных растений при загрязнении почвы / Оптика атмосферы и океана. 2006. - Т. 19. № 2-3. - С. 212-215.

ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ НА СОДЕРЖАНИЕ МОЗГОСПЕЦИФИЧЕСКИХ АУТОАНТИТЕЛ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС**Effect of low-intensity electromagnetic field on the content of autoantibodies to S-100 protein in serum of rats**

Ананьева Ю.Е., Лабынцева О.М., Липова В.В., Куканова О.В., Лобкаева Е.П.

ФГУП Российский Федеральный Ядерный Центр – всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики, 607188, г.Саров, Нижегородская обл., пр.Мира 37

Тел. +7(83130) 2 52 99, факс +7(83130) 2 53 00, e-mail: nata@bfrc.vniief.ru

Согласно концепции А.Б. Полетаева, изменение в уровне аутоантител с определенной органной направленностью можно рассматривать как определяющий признак раннего проявления патологии в данном органе. В частности, низкий или высокий уровень сывороточных нейротропных аутоантител к **S-100 белку служит маркером риска развития психоневрологических отклонений** (фобий, эмоциональной лабильности и др.) [1].

В многочисленных работах получено, что электромагнитное поле (ЭМП) оказывает влияние на процессы высшей нервной деятельности: память, обучение и др., основную роль в которых отводят белку S-100.

Таким образом, в работе представлены результаты воздействия низкоинтенсивного низкочастотного электромагнитного поля на содержание нейротропных аутоантител класса Ig G к S-100 белку в сыворотке крови крыс.

Исследования проводили на 96 белых беспородных крысах-самцах, массой 200 – 220 граммов. На животных оказывали воздействие низкоинтенсивным низкочастотным амплитудно-модулированным ЭМП с величиной магнитной индукции не более 11 мТл с различными спектральными характеристиками модулирующего сигнала. Зависимость спектральной плотности сигнала от частоты подчинялась закону $U(f)=mf^n$ с параметрами, $n = 1,79$, $n = 1,14$ и $n = 0,65$.

Оценку иммунореактивности по нейротропным регуляторным аутоантителам класса Ig G, взаимодействующих с белком S-100 в сыворотке крови крыс, проводили на 4 сутки после воздействия ЭМП с помощью твердофазного иммуоферментного анализа «Эли-Н-к-тест» (пр-во «Иммункулус», Россия).

Установлено, что после воздействия ЭМП с $n=1,79$ и $n=1,14$ существенно повышалось сывороточное содержание Ig G к S-100 практически на 70 % ($p \leq 0,001$) и 100 % ($p \leq 0,001$), соответственно, что обуславливает сильный риск развития психоневрологических отклонений и изменение психофизиологического состояния у экспериментальных животных.

Применение ЭМП с $n=0,65$ приводило к снижению иммунореактивности сыворотки крови крыс по Ig G к белку S-100 на 49 % ($p \leq 0,001$), что обычно связывают с увеличением количества и функциональной активности супрессорных Т-лимфоцитов, модулирующих антигенспецифические аутоиммунные реакции.

**МЕТОД ИНДУКЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ В ИНТЕГРАЛЬНОЙ ОЦЕНКЕ
ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ МОРСКИХ МАКРОФИТОВ****Method of an induction of fluorescence in an integrated estimation of functional
condition sea macrophytes**Андреев В.П.^{1,2}

- 1 - Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена,
191186, Санкт-Петербург, Набережная реки Мойки, 48
2 - Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6
Тел.: (812)394-34-73; e-mail: vpandreev@mail.ru

Оценивали действие пресной воды и суточного осушения [1] на фотосинтетический аппарат литоральных и сублиторальных водорослей рода *Fucus*, учитывая, что фотосистема II (ФС II) повреждается стрессорами различных типов [2]. Уровень флуоресценции при открытых и закрытых реакционных центрах (F_0 и F_m соответственно) в течение 4 суток в пресной воде изменялся мало. Не изменялся в тех же условиях и максимальный квантовый выход фотохимии ФС II (F_v/F_m). Напротив, эффективный квантовый выход фотохимии ФС II (Y_{II}) снижался на 2—3 суток распреснения. Сравнение коэффициентов тушения флуоресценции показало, что у литоральных видов в пресной воде происходит снижение показателя фотохимического (qP) и увеличение не фотохимического (qN) тушения. У сублиторального вида изменение обоих показателей выражено слабо. В экспериментах с осушением установлено, что после суток в воздушной среде уровень F_0 снижается только у сублиторального вида. Квантовые выходы F_v/F_m и Y_{II} после осушения снижаются у всех видов, но только у литоральных водорослей эти показатели в полной мере восстанавливаются после двух суток релаксации в морской воде. Показатели qP и qN демонстрируют такую же динамику. Сравнение последствий применения разных факторов показывает, что параметры индукции флуоресценции информативны для характеристики устойчивости макрофитов к условиям литорали и не только выявляют различия в феноменологии стресса, но и демонстрируют характер повреждений. Так, под действием пресной воды сохраняется структурная организация пигментных комплексов (не изменяется F_v/F_m), а нарушается реализация поглощенной энергии (снижается Y_{II}). Напротив, суточное осушение талломов приводит к изменению состояния, как самих пигментных комплексов, так и зависящих от них функциональных параметров (снижаются F_v/F_m и Y_{II}). К таким же выводам приводит анализ изменения показателей тушения флуоресценции. Под действием распреснения на фоне снижения qP растёт qN, что может косвенно свидетельствовать о компенсаторной перестройке сохранивших функциональную организацию структур. Осушение ведёт к уменьшению qP и qN, что ожидаемо при структурных повреждениях. Восстановление параметров индукции флуоресценции после релаксации в море, наблюдаемое не у всех видов водорослей, говорит о способности метода выявлять различия в общей устойчивости сравниваемых объектов.

1. V. P. Andreev et al. / Russian Journal of Plant Physiology, 2012, Vol. 59. P. 217–223.
2. Osmond C.B. / Biochim. Biophys. Acta, 1981. V. 639. P. 77–98.

**МЕТОД МНОГОЧАСТОТНОЙ ИМПЕДАНСОМЕТРИИ
ДЛЯ ОЦЕНКИ СОДЕРЖАНИЯ ЛИКВОРА В ПОЛОСТИ ЧЕРЕПА ЧЕЛОВЕКА****Method of multifrequency impedancometry for noninvasive evaluation of
intracranial liquor contain in humans.****Андреева Ю.В., Масалов И.С., Вайнштейн Г.Б., Москаленко Ю.Е.**

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
194223, Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
Тел.: +7(8129)552-32-60; e-mail: Julia-andr@bk.ru

Величина электрического сопротивления между электродами, наложенными на кожные покровы головы человека, зависит от частоты измерительного тока и от соотношения жидких и плотных сред в полости черепа. Зависимость между изменением базисного межэлектродного сопротивления на разных частотах и соотношением жидких сред в черепе рассчитывалась по схеме формирования импеданса между электродами (по Шванну). Эта схема отражает активное сопротивление внутричерепных (R_i), а также внечерепных (R_e) структур, и емкостную составляющую (C). Оптимальным является использование трех разных частот, относящихся к диапазонам низких, средних и высоких частот, что было подтверждено результатами экспериментов на животных.

Регистрация краниального электроимпеданса на нескольких частотах может служить для оценки гидратации мозговой ткани, так и для определения соотношения объемов спинномозговой жидкости и массы мозга в полости черепа. Для исследований применялся двухканальный (для правой и левой гемисфер) трехчастотный (16 кГц, 100 кГц и 200 кГц) реограф (фирмы «Мицар», СПб, Россия), АЦП «PowerLab-8» с регистрацией на ПК. Для оценки относительного вклада в суммарный межэлектродный импеданс его внутри- и внеклеточных составляющих был разработан программный блок для MSW Excel 2007, позволяющий вычислять относительный вклад сопротивления внечерепных (R_e) и внутричерепных (R_i) структур и емкостной составляющей (C). Принципы расчетов R_i и R_e составляющих импеданса головы основаны на интеграционных методах и методе наименьших квадратов. Поскольку с возрастом вследствие атрофии массы мозга следует ожидать относительного увеличения содержания ликвора в полости черепа, исследования были проведены у здоровых добровольцев от 17 до 85 лет. Соотношение показателей R_i , R_e , и C имеет четкую возрастную зависимость. Так, у лиц до 20 лет R_e , R_i и C составляют 426 ± 18 ом ($m \pm St.Err$) 805 ± 40 ом, 345 ± 23 пФ, для лиц 20-45 лет 432 ± 13 ом, $951 \pm 40,2$ Ом и 316 ± 19 пФ, для лиц 60-85 лет 342 ± 13 ом; 367 ± 20 ом и 252 ± 5 пФ, соответственно. Полученные данные дают основание полагать, что с возрастом происходит увеличение количества ликвора в полости черепа, что коррелирует с имеющимися в литературе данными, полученными методом МРТ. Таким образом, метод трехчастотной импедансометрии открывает возможность для неинвазивной оценки динамики объемных соотношений мозга и ликвора в полости черепа, что может найти применение также и в клинической практике.

**ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ И ТРАНСПОРТ ВОДЫ
В РАСТЕНИЯХ ПОД ВЛИЯНИЕМ ДАВЛЕНИЯ****Intracellular changes and water transport in plants under the effect of pressure****Анисимов А. В., Абдрахимов Ф. А., Суслов М. А., Ионенко И. Ф.**

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, 420111, Казань, а/я 30.
Тел.(843) 231-90-31; факс: (843)292-73-47; e-mail: anisimov@mail.knc.ru

Результаты влияния сравнительно высокого давления - от 1 Кбар и выше на биологические системы широко представлены в научных публикациях [1]. Намного скромнее представлены результаты по низким положительным (до десятков бар) и отрицательным давлениям, которые характерны для нормального метаболизма и представляют интерес для разных областей биофизики, физиологии, медицины. Применительно к проблемам медицины внимание к давлению связывается с задачами баротерапии, с механизмами адаптации к пониженному и повышенному атмосферному давлению, с выяснением механизмов процессов, сопровождающих (провоцирующих) инфаркты, инсульты. Новые задачи ставятся по выяснению механизмов адаптации организмов к условиям невесомости, к давлениям перегрузки при ускорении. В растительных тканях давление в различных проявлениях осмотическое, гравитационное, транспирационное, «метаболически зависимое» интересует как движущая сила переноса водных растворов. Более того, изменения гидродинамического давления с активацией механочувствительных рецепторов прочатся в переносчики сигнальной информации по растению.

Применительно к растительным тканям (корни кукурузы) в работе приводятся результаты влияния давления до 40 бар на внутриклеточную структуру по данным электронной микроскопии (ЭМ) и релаксационно-диффузионные характеристики воды, по данным градиентного метода ЯМР во время приложения давления. Показано, что мишенью давления является мембранная система клеток, установлена зависимость диффузионного межклеточного переноса воды от величины давления. Демонстрируется различное влияние давления на ЭМ картину плазмалеммы и тонопласта: возникновение неоднородностей деструктивного характера в тонопласте и локальных изменений электронной плотности плазматической мембраны, альтерации в эндоплазматической системе. Зарегистрировано изменение объема корня при сбросе давления. Наблюдаемое под давлением ускорение магнитной релаксации связывается с парамагнетизмом растворимого в воде кислорода воздушных полостей межклеточного пространства .

**СКРИНИНГ КСЕНОБИОТИКОВ НА РАСТИТЕЛЬНЫХ ФАНТОМАХ МЕТОДОМ ЯМР
ПО ВЛИЯНИЮ НА МЕМБРАНУЮ ПРОНИЦАЕМОСТЬ****Screening of xenobiotics using NMR method on plant phantoms with respect to their
effect on membrane permeability****Анисимов А. В., Ионенко И. Ф., Даутова Н. Р.**

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, 420111, Казань, а\я 30.
Тел.: (843) 231-90-31; факс: (843) 292-73-47; e-mail: anisimov@mail.knc.ru

Как известно плазматическая мембрана клеток является первой мишенью воздействия ксенобиотиков. Транспортные характеристики мембран, в частности коэффициент водопроницаемости, может изменяться под воздействием ксенобиотиков. Величина коэффициента водопроницаемости проявляется в величине эффективного коэффициента диффузии и в значении времен спин-решеточной и спин-спиновой релаксации молекул воды, которые могут измеряться единым релаксационно-диффузионным методом спин-эхо ЯМР. Идеология диффузионного варианта метода основывается на регистрации диффузионного трансляционного пробега молекул воды за некоторое экспериментально выбранное время наблюдения за диффузией. Экспериментально измеряется диффузионное затухание сигналов спинового эха. В итоге скрининг ксенобиотиков по влиянию на мембранную водопроницаемость, предлагается проводить через измерение эффективного коэффициента диффузии воды методом спин-эхо ЯМР с импульсным градиентом магнитного поля. Если проницаемость плазмалеммы подвержена влиянию ксенобиотика, этот факт найдет свое отражение в изменении крутизны диффузионного затухания сигналов спинового эха. В сравнительных экспериментах нет необходимости в вычислении эффективного коэффициента диффузии, достаточно сравнивать диффузионные затухания для контрольного и опытного образцов, что значительно упрощает и ускоряет процесс скрининга. В спорных случаях параллельно измеряются времена релаксации, из которых решением обратной задачи трансмембранного обмена вычисляется скорость обмена и соответственно коэффициент водопроницаемости. В качестве тест-системы удобно использовать растительные фантомы, учитывая схожесть структурной организации мембран растительных и животных клеток, наличие в растительных тканях доступного для допингования ксенобиотиком внеклеточного пространства, дешевизну и простоту подготовки фантомов. Результаты использования методики скрининга демонстрируются в экспериментах с воздействием на растительные ткани (сегменты корней 7-дневных проростков кукурузы) известных мембрано-активных соединений различного механизма действия: пипольфена- уменьшающего вязкость мембран; нистатина- формирующего трансмембранные поры; хлорида ртути- блокирующего аквапорины; холестерина- стабилизирующего мембраны.

**О ВЛИЯНИИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ
В ОБЛАСТИ МИЛЛИМЕТРОВЫХ ДЛИН ВОЛН
НА ЖИВЫЕ СИСТЕМЫ**

About of effect of electromagnetic millimeter waves on living systems

Астафуров В.И., Маренный А.М., Семёнов С.Ю.

ФГУП Научно-технический центр радиационно-химической безопасности и гигиены
ФМБА России, 123182, Москва, Щукинская ул., 40;
Тел.: +7(499)190-51-31; факс: +7(499)193-80-60; e-mail: vastafurov@mail.ru

В проведённых экспериментах наблюдается частотно-зависимый отклик живых систем на воздействие миллиметровых волн. Резонансная зависимость выявленных эффектов свидетельствует о том, что механизм воздействия миллиметровых волн затрагивает фундаментальные аспекты гомеостаза живых систем. Можно предположить, что специфика взаимодействия живых структур с электромагнитным излучением миллиметрового диапазона обусловлена существованием природного генератора данного вида излучения, определяющего функционирование живых структур и управляющего их гомеостазом. Для такого предположения имеются экспериментальные и теоретические основания. *Экспериментальные основания гипотезы.* В 1965 году было обнаружено космическое радиоизлучение, получившее название реликтового микроволнового излучения (РМИ). Это излучение является изотропным, характеризуется высокой плотностью энергии, максимум в спектре РМИ приходится на частоту ~160 ГГц (длина волны ~2 мм). Параметры РМИ свидетельствуют в пользу того, что это излучение является собственным, непрерывно генерируемым, излучением материального континуума. *Теоретические основания гипотезы.* На основе новой модели физического вакуума получено уравнение, связывающее пространственные параметры фундаментальных иерархических структур [1]. Уравнение имеет вид:

$$\log R_i = \log R_{abc} + f^i \log K_0$$

где R_i – радиус i -го фундаментального осциллятора; R_{abc} – радиус наименьшего природного осциллятора; f – мерность пространства; K_0 – безразмерный коэффициент; i – номер фундаментального осциллятора ($i = 0, 1, \dots, 5$). Значению $i = 4$ соответствует фундаментальный осциллятор радиусом ~3,9 мм. Согласно расчётным данным, этот осциллятор должен генерировать электромагнитное излучение с длиной волны ~2,2 мм, что согласуется с экспериментальными данными, полученными при измерении спектра РМИ. Таким образом, из теоретической модели следует, что существует непрерывный природный источник миллиметровых волн, формирующий спектр наблюдаемого космического радиоизлучения. Приходим к основополагающему выводу, что миллиметровое электромагнитное излучение может принципиально влиять на инициацию и динамику жизненных процессов на клеточном уровне. К настоящему времени накоплен обширный клинический и экспериментальный материал, свидетельствующий об изменениях иммунного статуса человека и животных после воздействия электромагнитного излучения миллиметрового диапазона. Неконтролируемое расширение диапазона используемых радиочастот в сторону миллиметровых и субмиллиметровых волн может привести к непредсказуемым последствиям для высших форм жизни на Земле. Необходимо проведение широкого круга исследований, направленных на измерение спектра излучений живых объектов и характера их взаимодействия с внешними излучениями различного диапазона.

**ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ПРОЦЕСС ПРОСТРАНСТВЕННОГО ФОРМИРОВАНИЯ
ФИБРИНОВОГО СГУСТКА В МЕТОДЕ ТРОМБОДИНАМИКИ.****Influence Of Temperature On Fibrin Clot Formation Process In Thrombodynamics.****Атауллаханов Ф.И.^{1,2,3,4,5}, Баландина А.Н.^{3,4}, Липец Е.Н.^{2,3}, Щербина И.А.^{1,3}.**

1 - ФГБУ Гематологический научный центр Минздравсоцразвития РФ;
125167, Россия, Москва, Новый Зыковский проезд, д.4а.

2 - ООО «Гематологическая корпорация»; 125319, Россия, Москва, 4-я улица 8 Марта, д.3.

3 - ФГБУ «ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздравсоцразвития России;
117198, Россия, г.Москва, ул. Саморы Машела, д.1

4 - Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН

5 - Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Физический
факультет; 119991, Россия, Москва, Ленинские горы 1, стр.2.

Тел.: +7(495)612-35-22; e-mail: ataulakhanov.fazly@gmail.com

В настоящее время проблема адекватной диагностики системы гемостаза при различных состояниях, сопряженных с повышенным риском развития коагулопатических осложнений, остается крайне актуальной. Одним из состояний, часто сопровождающихся кровотечениями, является гипотермия, однако механизмы нарушений гемостаза при понижении температуры тела пациента не до конца ясны.

Мы исследовали влияние температуры на состояние плазменной системы гемостаза с помощью метода Тромбодинамики, который позволяет анализировать процесс формирования фибринового сгустка от пластины с нанесенным на нее тканевым фактором в свободной от тромбоцитов неперемешивающейся плазме. В процессе обработки полученных данных были вычислены следующие параметры: начальная скорость роста сгустка, характеризующая стадию инициации свертывания, и стационарная скорость роста сгустка, характеризующая стадию распространения сгустка от места активации.

В исследовании приняли участие 15 здоровых добровольцев. Образцы плазм были случайным образом скомпонованы в 7 пулов (по 3 образца плазмы в каждом). Исследования Тромбодинамики были проведены при температурах 20 °С, 24 °С, 28 °С, 33 °С, 37 °С, 41 °С и 43 °С.

Результаты проведенного исследования показали, что начальная скорость роста сгустка возрастает с ростом температуры от значения (21 ± 4) (среднее ± стандартное отклонение) мкм/мин при 20 °С до значения (48 ± 6) мкм/мин при 37 °С, достигает максимума при 39 °С (54 ± 4) мкм/мин и снижается при дальнейшем росте температуры до значения (47 ± 4) мкм/мин при 43 °С. Стационарная скорость роста сгустка возрастает со значения (17 ± 4) мкм/мин при 20 °С до (25 ± 3) мкм/мин при 37 °С и 39 °С и снижается при дальнейшем росте температуры до значения (19 ± 2) мкм/мин при 43 °С. При температурах выше 41 °С наблюдалось снижение значений параметров Тромбодинамики.

В данной работе показано, что фаза инициации свертывания сильнее зависит от температуры, чем стационарная фаза роста сгустка. При этом в диапазоне температур 24-37 °С значение стационарной скорости роста сгустка существенно не изменяется. Возможно, высокая частота развития кровотечений у пациентов в состоянии гипотермии не связана напрямую с пониженной температурой тела.

Работа была частично поддержана грантами РФФИ 10-01-91055, 11-04-00303, 11 04 12080 и программами фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине», «Интегративная физиология» и «Молекулярные механизмы физиологических функций».

**ИЗМЕНЕНИЕ КОНФОРМАЦИИ МОЛЕКУЛ СЫВОРОТОЧНОГОАЛЬБУМИНА
У БОЛЬНЫХ С ПЕРВЫМ ЭПИЗОДОМ ШИЗОФРЕНИИ.
ДАННЫЕ ЯМР-РЕЛАКСАЦИИ И ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ.**

Conformation changes of the serum albumin molecules from patients with the first episode schizophrenia. Data of NMR-relaxation and NMR high resolution spectroscopy.

**Бабушкина Т.А.¹, Климова Т.П.¹, Смолина Н.В.², Добрецов Г.Е.², Узбеков М.Г.³,
Перегудов А.С.,¹ Раевский А.М.¹, Грызунов Ю.А.²**

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

Тел.:+7(499)135-92-69; e-mail: tab@ineos.ac.ru

2 - ФГБУН НИИ физико-химической медицины ФМБА; 119435 Москва; М.Пироговская, 1а;

3 - Московский научно-исследовательский институт психиатрии Минздравсоцразвития
РФ; 107076 Москва. Потешная ул. 3

Методом ЯМР ¹H высокого разрешения исследованы спектры образцов альбумина, выделенного из сыворотки крови здоровых людей и пациентов с первым эпизодом шизофрении (ПЭШ). Наблюдается увеличение интенсивности сигналов метильных протонов неэстерифицированных жирных кислот в спектрах водных растворов альбумина ПЭШ пациентов. Это указывает либо на увеличение числа молекул жирных кислот, то есть на изменение лигандной нагрузки альбумина, либо на возрастание подвижности метильных групп жирных кислот, то есть на изменение конформации молекул альбумина.

Характеристики ЯМР релаксации протонов воды для раствора альбумина, выделенного из сыворотки крови больных ПЭШ, отличаются от тех же параметров раствора альбумина, выделенного у здоровых доноров. Изменения свойств гидратного слоя молекулы патологического альбумина не идентичны изменениям свойств гидратного слоя молекулы альбумина, дополнительно нагруженного пальмитиновой кислотой.

Поэтому изменения в спектрах ЯМР высокого разрешения раствора «патологического» альбумина, вероятнее всего, связаны с изменениями скорости обмена подвижных протонов белка и окружающей воды.

**ИНГИБИРОВАНИЕ ХЕЛИКАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ИНИЦИАТОРНОГО БЕЛКА UL9
ВИРУСА ПРОСТОГО ГЕРПЕСА АНАЛОГАМИ НЕТРОПСИНА****Inhibition of helicase activity of the initiator protein UL9 of herpes simplex virus type I by
netropsin derivatives**

**Бажулина Н. П.¹, Суrowая А. Н.¹, Гурский Я. Г.², Андрoнова В. Л.³, Архипова В. С.¹,
Головкин М. В.¹, Никитин А. М.¹, Галегов Г. А.³, Гроховский С. Л.¹, Гурский Г. В.¹**

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

² – ФГБУ кардиологический научно-производственный комплекс
121552 Москва, ул. 3-я Черепковская, 15 а;

³ – ФГБУ НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского Минздравсоцразвития России,
123098 Москва, ул. Гамалеи, 16.

Тел.: +7(499)135-99-95; факс: +7(499)135-14-05; e-mail: bazh@immb.ru

Получены экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что мишенью для противовирусного действия димерных производных антибиотика нетропсина являются комплексы, образуемые хеликазой UL9 вируса простого герпеса с началом репликационной вирусной ДНК, включающим два сайта OriS и один сайт OriL. Согласно данным ДНКазного футпринтинга бис-нетропсина избирательно связываются с А+Т-кластером в OriS. Они повышают температуру плавления А+Т-кластера и ингибируют, вызванное тепловыми флуктуациями раскрытие АТ-пар оснований, которое необходимо для инициации процесса раскручивания ДНК хеликазой UL9. С помощью измерения эффективности резонансного переноса энергии (FRET - метод) между флуоресцентными зондами, присоединенными ковалентно к 3'- и 5'-концам олигонуклеотидов, соответствующих верхней и нижней нитям минимального дуплекса OriS, исследована кинетика раскручивания ДНК хеликазой UL9. В качестве флуорофора и тушителя использовали 6-карбоксиродамин и краситель BHQ2 (Black hole quencher 2), радиус миграции энергии равен 63 Å. Разделение цепей в минимальном дуплексе сопровождается уменьшением квантового выхода флуоресценции, вызванном увеличением эффективности процесса переноса энергии от флуорофора к тушителю. Это объясняется тем, что олигонуклеотид сворачивается в шпильку, в которой расстояние между донором и акцептором меньше, чем в дуплексе OriS. В шпильке, образуемой верхней нитью минимального дуплекса (63 нуклеотида), расстояние между флуорофором и тушителем примерно равно 52 Å. Связывание димеров хеликазы с частичным дуплексом, содержащим связывающие места I и III для хеликазы и АТ-богатый од- нотяжевый хвост, в отсутствие АТФ приводит к образованию промежуточной структуры дуплекса, для которой расстояние между флуорофором и тушителем уменьшается с 77 Å до 54 Å. Аналогичный результат был получен для комплекса хеликазы с дуплексом, содержащим связывающие места I и II и А+Т- кластер. Рт-бис-нетропсин избирательно связывается с А+Т-кластером и ингибирует процесс раскручивания минимального дуплекса OriS хеликазой UL9. Он также уменьшает скорость раскручивания хеликазой UL9 АТ-богатой шпильки в верхней нити минимального дуплекса OriS. Противовирусная активность бис- нетропсинов связана с их способностью ингибировать хеликазную активность инициаторного белка UL9 вируса герпеса.

Работа поддержана Программой Президиума РАН по молекулярной и клеточной биологии и грантом РФФИ № 11-04-02001.

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ СОВМЕЩНОГО ДЕЙСТВИЯ МЕКСИДОЛА И НИТРОГЛИЦЕРИНА НА ТКАНИ ПЕЧЕНИ ЖИВОТНЫХ**The mechanisms of combined action of mexidol and threegyleronitrate on the animal liver tissues****Байдер Л.М.¹, Белая О.Л.², Куроптева З.В.¹**

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

2- Медико-стоматологический университет, Москва, ул. Делегатская, 10/1
Тел: +7(495)939-74-42; факс: +7(499)137-41-01; e-mail: zvuk@sky.chph.ras.ru

Было исследовано методом ЭПР влияние различных доз мексидола, нитроглицерина (НГ) и их сочетания на железосерные центры (ЖСЦ) дыхательной цепи митохондрий (МХ) в тканях печени и образование оксида азота (NO). **Объектами исследования служили образцы тканей печени животных, инкубированных: 1 - с мексидолом, 2 - с нитроглицерином, 3 - мексидолом и нитроглицерином, 4 - с физиологическим раствором (контроль).** Через различные промежутки времени после начала инкубации при комнатной температуре отбирали образцы тканей и замораживали их при 77 К. Спектры ЭПР образцов регистрировали на спектрометре ЭПР фирмы Bruker (Германия) при 77К.

В образцах тканей печени после инкубации с НГ и (мексидол+ НГ) помимо обычно наблюдаемых в печени интактных животных сигналов ЖСЦ дыхательной цепи митохондрий (МХ) и цитохрома P-450 эндоплазматического ретикулаума, регистрировался интенсивный сигнал нитрозильных комплексов гемоглобина с оксидом азота Гем-NO. **Причем, интенсивность этого сигнала в образцах, инкубированных с НГ и мексидолом вместе, была выше, чем с НГ отдельно.** Т.е. количество образующегося оксида азота было выше в присутствии мексидола. Анализ спектров ЭПР образцов, инкубированных только с мексидолом, и контрольных образцов показал, что в образцах тканей печени после инкубации с мексидолом также образуется NO. В процессе инкубации тканей печени в течение 26 часов при комнатной температуре интенсивность сигнала ЭПР ЖСЦ снижалась во всех случаях. Наибольшее снижение - в 3,4 раза, связанное с окислением ЖСЦ, происходило в присутствии нитроглицерина (при наибольших концентрациях препаратов: мексидол 2×10^{-2} М и НГ 6×10^{-4} М). Использование комбинации мексидола и нитроглицерина также способствовало окислению ЖСЦ, хотя и в меньшей степени - активность ЖСЦ снизилась в 2,9 раза. Интенсивность сигналов ЭПР ЖСЦ через 26 часов инкубации с мексидолом снизилась всего в 1,2 раза, в контрольном образце - в 3 раза. Использование мексидола защищало ЖСЦ от окисления.

Таким образом, мексидол при совместном действии с НГ проявляет двойное положительное действие: он увеличивает выход NO и **снижает отрицательное действие НГ на дыхательную цепь МХ, защищая ЖСЦ от окисления.** Эти данные свидетельствуют о поддержании мексидолом синтеза АТФ в клетках, что должно приводить к поддержанию функционального состояния клеток и защите от окислительных повреждений.

**МЕТОДЫ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ИМИДЖИНГА НА УРОВНЕ ЦЕЛОГО ОРГАНИЗМА
ДЛЯ РЕШЕНИЯ ЗАДАЧ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОНКОЛОГИИ****Whole-body fluorescence imaging for experimental oncology**

Балалаева И.В.^{1,2}, Леканова Н.Ю.¹, Малеханова Е.А.¹, Ширманова М.В.³, Здобнова Т.А.^{1,4}, Брилкина А.А.¹, Клапшина Л.Г.⁵, Клешнин М.С.², Фикс И.И.², Загайнова Е.В.³, Турчин И.В.⁴, Деев С.М.⁴

1-Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского,
603950, Нижний Новгород, пр-т Гагарина, 23;

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

3- Нижегородская государственная медицинская академия,
603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

4-Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова,
117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10;

5- Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева,
603950, Нижний Новгород, ул. Тропинина, 49;

Тел.: +7(831)465-61-06; факс: +7(831)465-61-04; e-mail: irin-b@mail.ru

Развитие методов флуоресцентного имиджинга обеспечило экспериментальных онкологов новым эффективным инструментом для получения информации о росте и развитии опухоли, мониторинга ответа на действие терапевтических агентов, метастазирования и т.п. На основе флуоресцирующих соединений разрабатываются методы клинической диагностики и фотодинамической терапии онкологических заболеваний.

Нами создана модель экспериментальной опухоли, экспрессирующая дальнекрасный флуоресцентный белок, и проведена апробация данной модели для оценки эффективности терапевтического воздействия. Мониторинг роста опухоли *in vivo* с помощью флуоресцентного имиджинга позволил получить дополнительную информацию о количестве и распределении клеток в опухолевом узле и, как следствие, выявить действие терапии на более ранних стадиях по сравнению с измерением размеров опухоли штангенциркулем.

Созданы оригинальные методики, позволяющие с использованием методов флуоресцентного имиджинга на просвет определить некоторые фармакокинетические параметры соединений для флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии в исследованиях на животных. Предложенный подход применен при тестировании свойств новой группы флуорофоров на основе металлопорфиразинов.

Для достижения направленного маркирования опухолевых клеток созданы биосовместимые комплексы на основе квантовых точек и рекомбинантных белков антител, специфичных к белкам семейства рецепторов эпидермального фактора роста. Методом флуоресцентного имиджинга на просвет проведено сравнение методов пассивного маркирования опухоли биоинертными квантовыми точками и активного специфического маркирования созданными комплексами.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ (ГК №№14.740.11.0253, 16.5.12.11.2140, 11.G34.31.0017) и Российского фонда фундаментальных исследований (№№10-04-01506, 11-04-97100, 11-02-00916, 12-04-90031).

ОСОБЕННОСТИ ИК СПЕКТРОВ БУМАГИ В ОБЛАСТИ ФОКСИНГОВ**Балахнина И.А.¹, Брандт Н.Н.¹, Ребрикова Н.Л.², Чикишев А.Ю.¹, Юрчук Ю.С.¹**

1 – Физический факультет и Международный лазерный центр МГУ,
119991, Москва, ГСП-1, ул. Ленинские горы, 1

2 – Государственный Исследовательский Институт Реставраций,
107114, Москва, ул. Гастелло, 44

Тел.: +7(495)939-11-06; e-mail: balakhnina@physics.msu.ru

Окружающая нас природа поражает многообразием биологических объектов. Все они не только являются неотъемлемой частью биофизического равновесия на нашей планете, но и активно используются человечеством в различных областях его деятельности и, в частности, в создании объектов культурного наследия. Одним из важнейших носителей биологического происхождения культурных ценностей является бумага. Она служит основой для большого количества документов имеющих большое значение в истории, политике, географии и т.п.

Химической основой бумаги являются молекулы целлюлозы различного происхождения (лён, хлопок, древесина и т.д.). Являясь длинной полисахаридной цепью, молекула целлюлозы легко подвержена химическим и структурным изменениям с течением времени за счёт взаимодействия с окружающей средой. Бумага достаточно быстро разрушается в связи с окислением волокон целлюлозы под воздействием кислорода и образованием буро-желтых пятен (foxing). Вместе с тем, современные наукоёмкие методы всё шире используются в различных гуманитарных направлениях, например, в реставрации. Поэтому интерес применения различных физических методов диагностики старинных бумажных материалов постоянно растёт.

Основная сложность анализа бумаги заключается в разнообразии состава исходных материалов и процессов, сопровождающих старение, во влиянии внешних условий на процесс старения, в неоднородности бумаги и локальности foxing. Известно, что в области foxing бумага имеет иную структуру и свойства, более тонкая и ломкая. Однако однозначного понимания причины образования foxing до сих пор нет.

Основной задачей нашей работы является определение различий между foxing-ами и свободными от них участками старинной бумаги методом ИК-Фурье спектроскопии. В ИК спектре бумаги в диапазоне 1500-1800 см⁻¹ находятся полосы поглощения продуктов окисления целлюлозы (карбонильные и карбоксильные группы). Были исследованы четыре образца с явно выраженными различиями толщин, цвета и фактуры материала, используемого для изготовления бумаги. Все образцы в разной степени покрыты foxing-ами, диаметр которых составляет 3-6 мм.

В результате анализа спектров были определены особенности в области «отпечатков пальцев», характерные для foxing. Показано, что при образовании foxing имеют место изменения структуры бумаги.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (11-06-00282-а, 11-06-00423-а).

**ОСОБЕННОСТИ ПРОТОННОГО НАСОСА ИЗ *EXIGUOBACTERIUM SIBIRICUM*:
УЧАСТИЕ ЛИЗИНА-96 В РЕПРОТОНИРОВАНИИ ШИФФОВА ОСНОВАНИЯ
И ГИСТИДИНА-57 В ЕГО ДЕПРОТОНИРОВАНИИ**

**Novel features of the proton pump from *Exiguobacterium sibiricum*: Involvement of
Lysine-96 in reprotonation of the Schiff base and Histidine-57 in its deprotonation**

**Балашов С.П.¹, Петровская Л.Е.², Лукашев Е.П.³, Имашева Е.С.¹, Дюмаев А.К.¹, Ванг
Дж.М.¹, Крюкова Е.А.², Сычев С.В.², Рубин А.Б.³, Кирпичников М.П.², Лани Я¹**

¹Университет Калифорнии, Ирвин, США;

² ИБХ РАН им. М.М. Шемакина и Овчинникова Ю.А., 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10;

³МГУ им. М.В.Ломоносова, 119992, Москва, Ленинские горы, 1, стр.12;

Тел.: +7(495)-939-12-38, факс: +7(495)-939-11-15, e-mail: lukashev@biophys.msu.ru

Уникальная особенность активируемого светом протонного насоса ESR, из *Exiguobacterium sibiricum*, обнаруженного в вечной мерзлоте возраста более 3 млн лет, заключается в том, что на месте внутрибелкового донора протонов для Шиффова основания (ШО) расположен Lys96, в то время как у других известных протонных помп эту функцию выполняет карбоксильная группа аспартата в бактериородопсине (БР) или глутамата в протеородопсине. Возникает вопрос - участвует ли Lys96 в ESR в репротонировании ШО на стадии распада М-интермедиата, также как Asp96 в БР? Как и в других помпах из эубактерий, ESR содержит гистидин, который возможно взаимодействует с первичным акцептором протона Asp85. Для того чтобы выяснить роль Lys96 и His57 мы исследовали pH-зависимость кинетики образования и распада М-интермедиата, кинетику выделения и поглощения протонов, а также последствия мутаций по этим аминокислотам. Результаты показывают, что Lys-96 и, возможно, взаимодействующие с ним молекулы воды, вовлечены в перенос протона к ШО, выступая либо в качестве внутреннего донора протонов, либо как медиатор транспорта протонов из среды. His57 сильно влияет на рKa Asp85 и pH-зависимость формирования М, показывая взаимодействие этих двух остатков. Эти выводы подтверждают данные: **1)** замена Lys-96 на аланин или глутамин резко тормозит репротонирование ШО, примерно в 100 раз при pH 9. Константа скорости распада М в мутанте K96A линейно уменьшается с уменьшением концентрации протонов, также как наблюдалось ранее в мутанте D96N в БР; **2)** добавление азидата натрия к K96A ускоряет распад М; **3)** светоиндуцированные изменения pH (в липосомах или при экспрессии ESR в клетке *E. coli*) для K96A в несколько раз меньше, чем для дикого типа ESR; **4)** В ESR солюбилизованном в детергенте при pH выше 2 большая часть Asp85 депротонирована, однако, до pH 8 образуется очень мало М. Его количество увеличивается при щелочных pH с рKa около 9, что связано с депротонированием другого остатка, вероятно, His57; **5)** Между pH 8 и 9 константа скорости распада М почти pH-независима, что можно было бы ожидать в случае существования внутреннего донора. При более высоких значениях pH константа скорости уменьшается, что может быть следствием депротонирования внутреннего донора в исходном состоянии; **6)** Эти свойства кинетики М (pH-независимость репротонирования при pH < 9 и pH-зависимость при pH > 9) отчетливо проявляются в мутанте H57M и в липосомах с ESR дикого типа. В мутанте H57M депротонирование Asp85 и образование М происходят с одинаковым рKa (6.5 в детергенте и 4.5 в липосомах). Переход с рKa 9, наблюдаемый в сдвиге максимума спектра поглощения и увеличении амплитуды М в ESR дикого типа, отсутствует в H57M, указывая, что вероятно His57 отвечает за эти изменения; **7)** кинетика светоиндуцированного поглощения протонов, измеренная с помощью пиранина при нейтральных pH в ESR дикого типа и в H57M, совпадает с кинетикой распада М. Это означает что Lys96 и, вероятно, взаимодействующие с ним молекулы воды, участвуют в реакции протонирования ШО.

Работа была поддержана грантами NIH (ЯЛ), ARO (СПБ) и Федеральной целевой программы для научных и научно-педагогических кадров Инновационной России (ЛЕП).

**АНТИОКСИДАНТНЫЕ И АДАПТОГЕННЫЕ СВОЙСТВА
КОМПОЗИЦИИ ХИТОЗАН-ДИГИДРОКВЕРЦЕТИН
В УСЛОВИЯХ ТЯЖЕЛОЙ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ**

Antioxidant and adaptogenic properties of chitosan-dihydroquercetin composition in conditions of oxygen deficiency

Баранов И.А.¹, Мурач Е.И.², Мочалова А.Е.¹, Смирнова Л.А.¹, Корягин А.С.¹

1 – ННГУ им. Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23.

2 – НижГМА, 603081, Н.Новгород, пр. Гагарина, 70.

Тел.: +7(831)4658592; e-mail: baranoff_ivan@mail.ru

Среди основных причин смертности населения России стоит гибель от сердечно-сосудистых заболеваний (инфаркты, инсульты). В связи с этим актуальна проблема поиска препаратов, повышающих устойчивость организма в условиях дефицита кислорода, как в случае патологий, так и в стрессовых ситуациях. Несомненно, интерес в этом направлении исследований представляют препараты на основе природных биологически активных веществ. В настоящее время хорошо известны выраженные антиоксидантные свойства природного флавоноида дигидрокверцетина. Однако, из-за его плохой всасываемости в кровь из желудочно-кишечного тракта ограничивается его применение в практической медицине. Эта проблема может быть решена путем создания композиций дигидрокверцетина с соединениями, обеспечивающими его транспорт в кровь.

Нами проведены исследования антиоксидантных и антигипоксических свойств препарата на основе гидрогеля хитозана с дигидрокверцетином в условиях моделирования тяжелой формы гипобарической гипоксии (условная высота 12000 м над уровнем моря). В результате проведенных исследований установлено, что профилактическое курсовое пероральное введение препарата лабораторным животным (беспородные белые крысы) улучшает энергетический обмен организма, статистически значимо ($p < 0.05$) снижая активность лактатдегидрогеназы, соотношение лактат/пируват, концентрацию глюкозы в плазме крови, нормализуя интенсивность свободно-радикальных процессов, относительно контрольных животных. Исследованиями также выявлено, что антигипоксическая активность препарата статистически значимо выше, чем водного раствора дигидрокверцетина.

Проведенные исследования указывают на перспективность разработки противоишемических, антигипоксических, адаптогенных комплексных препаратов на основе дигидрокверцетина и хитозана.

**СТАБИЛИЗАЦИЯ БИФЕРМЕНТНОЙ СИСТЕМЫ СВЕЯЩИХСЯ БАКТЕРИЙ
NADH:FMN-ОКСИДОРЕДУКТАЗА-ЛЮЦИФЕРАЗА
В ЖЕЛАТИНОВОМ И КРАХМАЛЬНОМ ГЕЛЕОБРАЗНОМ ОКРУЖЕНИИ**

**Stabilization of coupled enzymatic system of luminous bacteria NADH:FMN-
oxidoreductase-luciferase in gelatinous and starch gel environment**

Безруких А.Е.¹, Есимбекова Е.Н.^{2,1}, Кратасюк В.А.^{1,2}

¹ – Сибирский федеральный университет, 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79;

² – Институт биофизики СО РАН, 660036, Красноярск, Академгородок
Тел.: +7(391)206-20-72; e-mail: aebezrukih@gmail.com

Биферментная система светящихся бактерий NADH:FMN-оксидоредуктаза-люцифераза применяется для создания различных методов биолюминесцентного анализа, в том числе используется в экологическом мониторинге для определения интегральной токсичности различных сред. Однако существует проблема недостаточной стабильности биферментной системы при воздействии неблагоприятных факторов (температуры, pH). Цель данной работы состояла в повышении стабильности биферментной системы светящихся бактерий к физическим и химическим факторам среды путем варьирования гелеобразного микроокружения ферментов. Показано, что активность биферментной системы в золе и геле желатина различаются. Помещение ферментов в золь желатина приводит к снижению интенсивности биолюминесценции, включение ферментов в гелевую матрицу желатина способствует их стабилизации и увеличению выхода активности. В присутствии крахмала значительного изменения активности ферментов относительно контроля не наблюдается. Температурный оптимум биферментной системы в крахмальном окружении сдвигается в область более высоких температур и составляет 33 °С. В присутствии желатина температурный оптимум смещается в область более низких температур благодаря наблюдаемому в этих условиях гелеобразованию желатина.

Выявлено, что термоинактивация биферментной системы включает в себя два этапа инактивации, которым предположительно соответствуют процессы диссоциации ферментов на субъединицы и их последующей денатурации. Анализ величин эффективных констант скорости термоинактивации показал, что желатин не влияет на скорость термоинактивации, а добавление в реакционную смесь крахмала замедляет второй этап термоинактивации, связанный с денатурацией ферментов. При этом эффективная константа скорости термоинактивации при 43 °С в присутствии крахмала уменьшается почти в 12 раз.

Показано, что pH-оптимум биферментной системы при добавлении в реакционную смесь желатина не изменяется, при добавлении крахмала – смещается в более кислую область. Обнаружен стабилизирующий эффект, оказываемый желатином и крахмалом на ферменты в щелочной области.

Таким образом, желатин и крахмал обладают при определённых условиях стабилизирующим действием на ферменты светящихся бактерий. Для повышения термостабильности биферментной системы светящихся бактерий наиболее предпочтительной добавкой является крахмал.

Работа выполнена при финансовой поддержке Правительства РФ (контракт № 11. G34.31.058), Федерального агентства по науке и инновациям (контракт № 02.740.11.0766).

**ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ТЕПЛОВИЗИОННОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ
ПРИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СОМАТИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВАХ.****Disgnostic possibilities of thermal survey for functional somatic disorders.****Беленко А.И.**

Медицинский центр РОСМИД, 105094, г.Москва, ул.Семеновский Вал, 6г, стр.3.

Тел.: +7 (495) 744-51-89; +7(905) 549-41-25; e-mail: info@rosmid.ru

Считается, что у 30 - 50% пациентов, обращающихся к врачам с жалобами на соматические расстройства, современные методы исследований не обнаруживают никакой локальной патологии (3). В связи с наличием у таких пациентов множества сопутствующих жалоб невротического характера, общепринято их заболевания соотносить с первичными расстройствами психики. Это направление в современной медицине получило название – Психосоматическая медицина. В тоже время имеется достаточное количество клинических и экспериментальных исследований, показавших взаимосвязь нарушенной деятельности внутренних органов с патологией вегетативных центров спинного мозга и вегетативных паравертебральных узлов (2). Однако отсутствие до настоящего времени методов диагностики функционального состояния этих вегетативных центров затрудняет патофизиологический подход к пониманию проблем этой группы заболеваний. Нами проведены тепловизионные исследования 18 пациентам, которые имели соматические расстройства при отсутствии органических изменений со стороны внутренних органов. Исследования проводились на тепловизоре ТВ-03кст. Жалобы пациентов были выделены в следующие блоки: 1. Сердечнососудистые расстройства; 2. Дыхательные расстройства; 3. Желудочно-кишечные расстройства. Расшифровка термограмм проводилась по запатентованному способу расшифровки инфракрасного излучения с поверхности тела человека (1). При этом гипертермия оценивалась как гиперфункция, а гипотермия – гипофункция соответствующих вегетативных структур. При жалобах сердечнососудистого характера на термограммах выявлялись термографические паттерны в проекциях спинного мозга и паравертебральных ганглиев от С7 до Th4; при дыхательных расстройствах от Th1 до Th7 и в проекции узлового узла блуждающего нерва; при желудочно-кишечных расстройствах от Th4 до Th11-12 и в проекциях узлов солнечного сплетения. Выявленные термографические паттерны соответствуют классическим представлениям о вегетативных центрах иннервации внутренних органов (4).

1. Беленко А.И. Способ расшифровки инфракрасного излучения с поверхности тела человека методом компьютерной термографии. Патент №2435522 от 10.12.2011г.

2. Бондарчук А.Н. Регуляция вегетативных функций у человека. М., "Медицина", 1977.-207с. 3. Тополянский В.Д. и др. Психосоматические расстройства. М., "Медицина", 1986.-384с. 4.Гринштейн А.М., Попова Н.А. Вегетативные синдромы. М."Медицина", 1971.-308с.

ВОЗМОЖНОСТИ ТЕПЛОВИЗИОННОЙ ДИАГНОСТИКИ В ОЦЕНКЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ОТДЕЛЬНЫХ СТРУКТУР ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ.

Features of thermal imaging diagnostics in evaluating the functional state of individual structures autonomic nervous system.

Беленко А.И.

Медицинский центр РОСМИД, 105094, г.Москва, ул.Семеновский Вал, 6г, стр.3
Тел.: +7 (495) 744-51-89; +7(905) 549-41-25; e-mail: info@rosmid.ru

Вегетативной нервной системе принадлежит ведущая роль в терморегуляции человека, которая состоит из двух взаимосвязанных звеньев: теплопродукции и теплоотдачи. В связи с этим, тепловизионное исследование, фиксирующее в реальном масштабе времени поверхностную температуру (показателя интенсивности теплоотдачи), позволяет приблизиться к пониманию физиологических процессов, происходящих внутри организма.

Для осуществления тепловизионной диагностики функционального состояния отдельных структур вегетативной нервной системы представляется важным учитывать:

1. Наличие сегментарных и периферических механизмов терморегуляции (спинной мозг, вегетативные ганглии), функции которых направлены на отведение избыточного тепла из структур ядра организма к его оболочке;

2. Современную концепцию терморегуляции, согласно которой, температура ядра организма регулируется по количеству теплосодержания в отдельных его органах и структурах; эта концепция рассматривает функциональную связь отдельных структур ядра с определенной поверхностью тела;

3. Рефлекторные механизмы связи структур ядра с сосудами кожи: сегментарная рефлекторная дуга между внутренними органами и кожей, аксон рефлекс;

4. Наличие рецепторных полей кожи - зоны Подшибякина, топографически связанные с нервно-сосудистыми пучками.

С учетом вышеизложенного подхода, нами проанализированы термограммы 76 пациентов, страдающих различными формами вегетативных расстройств (вегетативные кризы, вегетативно-соматические расстройства, нейропатические болевые синдромы). Все исследования проводились на тепловизоре ТВ-03кст. Отмечено, что при этих заболеваниях, на термограммах имеются зоны гипертермии или гипотермии в проекции спинного мозга (средняя линия спины) и в проекции вегетативных паравerteбральных ганглиев (3-4см латерально от остистых отростков позвонков). Топографически, эти тепловизионные паттерны соответствовали известным анатомическим и физиологическим данным о центрах сегментарной и периферической вегетативной регуляции организма. Отмечено, что жалобы пациентов также указывали на функциональное напряжение в этих центрах.

БИОХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ЕГО КОРРЕЛЯЦИЯ С АГРЕГАЦИОННОЙ СПОСОБНОСТЬЮ ЭРИТРОЦИТОВ**Biohemilyuminescentny blood test sick doggy style mammary gland and his correlation with agregacionnoy ability eritrocitov****Белкин А.В.¹, Белкина Н.А.¹, Богданова А.Б.¹, Верхоланцева А.Р.¹, Добрынина Н.Г.¹, Кравченко С.В.¹, Мельникова А.А.¹, Морозова Д.В.¹, Сапожникова А.Д.¹**

1-Тюменский государственный университет, департамент биологии,
625043, Тюмень, ул. Пирогова 3

Тел.; факс: 8(3452)255120 ; e-mail:alexbel2@mail.ru

Известно, что свободнорадикальное окисление является одним из физико-химических регуляторных механизмов. Значительное изменение интенсивности свободнорадикального окисления как в сторону увеличения (например, при лучевом поражении), так и в сторону уменьшения (например, при раке) характерно для патологических состояний живого организма.

Активация свободнорадикальных процессов вызывает нарушения гемореологических свойств, реализуемых через повреждения циркулирующих эритроцитов (окисление мембранных липидов, повышение жесткости билипидного слоя, гликозилирование и агрегация белков мембраны), оказывая опосредованное влияние на другие показатели кислородтранспортной функции крови и транспорт кислорода в ткани.

Исследование биохемилюминесценции крови и ее корреляции с агрегацией эритроцитов человека, до настоящего времени не проводилось. Целью работы было оценить характер люминол-зависимой биохемилюминесценции цельной крови человека в норме и при раке молочной железы, а также проследить его взаимосвязь с уровнем агрегации эритроцитов. Решались задачи: 1. Оценить различия в люминол-зависимой биохемилюминесценции крови здоровых женщин и больных раком молочной железы. 2. Оценить различия в уровне агрегации эритроцитов здоровых женщин и женщин, больных раком молочной железы. 3. Провести корреляционный анализ между люминол-зависимой биохемилюминесценцией и агрегацией эритроцитов крови здоровых женщин и женщин, больных раком молочной железы.

Измерение интенсивности биохемилюминесценции проводилось на приборе «Биохемилюминометр БХЛ 3606М». Измерение агрегации эритроцитов проводилось при помощи агрегометра **та1**. Было зафиксировано достоверное снижение уровня биохемилюминесценции крови людей больных раком молочной железы по сравнению с уровнем биохемилюминесценции крови здоровых людей. При оценке агрегационной способности эритроцитов было зарегистрировано достоверное снижение уровня агрегации эритроцитов онкобольных в сравнении с агрегационной способностью эритроцитов здоровых людей. При проведении корреляционного анализа наблюдалась высокая положительная корреляция между уровнем биохемилюминесценции и значением агрегации эритроцитов.

**ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННЫХ И КВАЗИСТАЦИОНАРНЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ
НА ЛАБОРАТОРНУЮ ПОПУЛЯЦИЮ ХЛОРЕЛЛЫ****The influence of regular and quasi-stationary magnetic fields at the lab
population Chlorella****Беллюстин Н.С.¹, Сизов Ю.А.², Савельев В.Ю.¹**

¹ - федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский радиофизический институт» (ФГБНУ НИРФИ), 603950, г. Н. Новгород ул. Большая Печерская ул., д. 25/12а, Тел. (831) 436-72-94. Факс (831) 436-99-02

E-mail: sneg@nirfi.sci-nnov.ru; 4199054@mail.ru.

² - ННГУ им. Н.И. Лобачевского

Вопрос о влиянии магнитного поля на живые организмы в настоящее время исследован неполно и представляет значительный интерес для ряда приложений. В качестве объекта исследования в настоящей работе взята хлорелла (*Chlorella vulgaris* beijer), которая широко распространена в природе. Хлорелла используется в промышленных масштабах в рыбоводстве как корм зоопланктона, для изучения токсичности водных сред, и для получения вторичных метаболитов. Для решения этих задач требуются методы подавления роста и размножения хлореллы, а также методы стимуляции её роста. В связи с этим исследование влияния магнитного поля на лабораторную популяцию хлореллы представляется интересным и актуальным.

Нами исследовалось влияние постоянного магнитного поля (напряженностью ~ 50 мТл) и переменного магнитного поля (~ 50 мТл) в интервале частот 0,5 – 7 Гц на динамику роста популяции хлореллы на протяжении до 8 дней. В проведенных экспериментах изменение поля обеспечивалось вращением постоянного магнита магнитной мешалки. При этом было показано, что при наложении полей рост популяции хлореллы имеет немонотонный во времени характер, как и в отсутствие магнитного поля. Показано также, что постоянное магнитное поле снижает скорость развития популяции хлореллы по сравнению с контролем в 1,5 – 3 раза.

Наиболее интересным оказалось влияние переменного магнитного поля на рост хлореллы, которое имеет более сложный характер: до 2 – 4 дней с начала опыта происходит увеличение скорости роста популяции на 10 -15%, затем, на протяжении 1-3 дней снижение роста на 10-20%, а после этого вновь увеличение на 30 – 40% по сравнению с контролем. При этом в предварительных экспериментах выявлена немонотонная зависимость роста хлореллы от частоты изменения магнитного поля. Полученный результат позволяет предположить наличие специфических резонансных частот, при которых влияние низкочастотного переменного магнитного поля на популяцию водоросли с наиболее эффективно.

**ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЯ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА
В ЦИТОПЛАЗМЕ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК
ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ЦИСПЛАТИНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СЕНСОРА HyPER**

The study of hydrogen peroxide level in the cytoplasm of tumor cells under the cisplatin action using sensor HyPer

Белова А.С.¹, Сергеева Е.А.², Брилкина А.А.¹, Мишина Н.М.^{3,4}, Масленникова А.В.^{1,2,4}, Орлова А.Г.², Загайнова Е.В.⁴, Шахова Н.М.^{2,4}, Белоусов В.В.^{3,4}, Лукьянов С.А.^{3,4}

¹ – Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 603022, г. Нижний Новгород, пр-т Гагарина, д. 23;

² – ИПФ РАН, 603155, г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, д. 46;

³ – ИБХ РАН, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10;

⁴ – ГБОУ ВПО НижГМА Минздравсоцразвития России, 603005, г. Нижний Новгород, пл. Минина, д.1/10

Тел.: +7(831)465-61-06; e-mail: belova-as@mail.ru

Цисплатин является широко используемым химиотерапевтическим препаратом, он вызывает повреждения ДНК, индуцирует апоптоз, а также активирует продукцию активных форм кислорода (АФК). Роль АФК в инициации гибели опухолевой клетки окончательно не выяснена. Также остается неизвестной роль отдельных представителей АФК. Единственным методом, позволяющим специфически оценить роль определенных АФК в биологических процессах, является оценка их уровня с использованием сенсоров. Целью работы было исследование содержания H_2O_2 в опухолевых клетках при воздействии цитотоксического препарата цисплатина с использованием генетически-кодируемого сенсора HyPer. В работе использована линия HeLa Kyoto HyPer-cyto – аденокарциномы шейки матки человека HeLa Kyoto, содержащая цитозольный сенсор на пероксид водорода HyPer. Оценка цитотоксического действия цисплатина в отношении данной линии клеток была проведена с использованием МТТ-теста. Для исследования уровня H_2O_2 была выбрана концентрация препарата, при которой жизнеспособность теряют 90% клеток (IC_{90}). Для анализа отклика сенсора HyPer на добавление цисплатина использовали метод лазерной сканирующей микроскопии. В ходе эксперимента клетки содержались в среде DMEM с глутамином и 10% FBS в камере микро-инкубатора при 37°C, 5% CO_2 . Изменения уровня пероксида водорода определяли по сдвигу соотношения между интенсивностями флуоресценции при возбуждении сенсора на двух длинах волн: 488 и 458 нм (F_{488}/F_{458}). Регистрация флуоресценции осуществлялась каждые 60 секунд в течение одного часа. Было продемонстрировано, что цисплатин оказывает влияние на уровень H_2O_2 в клетках линии HeLa Kyoto HyPer-cyto. Добавление препарата вызывает временное повышение уровня H_2O_2 в цитоплазме. Данная реакция происходила непосредственно после добавления препарата в среду инкубации и продолжалась около 5 минут. Относительный сигнал при возбуждении на длинах волн 488 и 458 нм возрастал на 15%. В дальнейшем, через 10 минут после добавления цисплатина, концентрация H_2O_2 вновь падала, о чем свидетельствовало снижение отношения F_{488}/F_{458} до исходных значений. Таким образом, под воздействием цисплатина в дозе IC_{90} в цитоплазме опухолевых клеток выявлено кратковременное накопление пероксида водорода.

Работа выполнена при поддержке Министерства Образования и Науки Российской Федерации (проект № 11.G 34. 31.0017).

**ДЕЙСТВИЕ РАДИАЦИОННОГО ИЗЛУЧЕНИЯ И ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ
НА РОСТОВЫЕ ПАРАМЕТРЫ И АНТИОКСИДАНТНЫЕ ЗАЩИТНЫЕ СИСТЕМЫ
МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ**

**Influence of radiation and heavy metals on growth parameters and antioxidant
resistance systems of microscopic fungi**

Белозерская Т.А.¹, Иванова А.Е.², Гесслер Н.Н.¹, Егорова А.С.

1-Институт биохимии им. А.Н.Баха РАН, 119071, Москва, Ленинский пр., 33;

Тел: +7(495)952-34-31; e-mail: tab@inbi.ras.ru

2-Факультет почвоведения МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы, 1

Действие стрессоров на грибы приводит к повышению уровня АФК внутри клетки, изменению характера роста, перестройке метаболизма и формированию антиоксидантных (АО) механизмов. В работе проведено сравнение ростовых характеристик и АО систем у штаммов *Paecilomyces lilacinus* из зоны отчуждения ЧАЭС (разные уровни радиоактивного загрязнения) со штаммами, выделенными из почв с повышенной концентрацией меди в среде (30 раз превышающих ПДК по валовым формам и 150 раз – по подвижным), а также со штаммами из почв с фоновым уровнем радиоактивного загрязнения. Показано, что все исследуемые штаммы способны существовать в широком диапазоне концентраций глюкозы в среде (олигокарботолерантность). Однако штаммы из зоны ЧАЭС, как и штаммы из загрязненных медью экотопов обладают способностью увеличивать радиальную скорость роста в 1,5 раза по сравнению с «фоновыми» изолятами при низкой концентрации глюкозы в среде (0,2%).

Активности АО ферментов штаммоспецифичны, как и их реакция на окислительный стресс (10 мМ H₂O₂). Выявлена высокая активность каталазы у штаммов, устойчивых к меди. Таким образом, АО ферменты, по-видимому, не являются основным механизмом АО защиты у грибов из экотопов с повышенной радиоактивностью. Виды *P.lilacinus* широко распространены при уровне радиоактивности в почве 3,7x10⁶-3,7x10⁸ Бк/кг и служат индикаторами радиоактивного загрязнения. Интересно, что в отличие от типичных меланин-содержащих черных грибов зоны ЧАЭС, в гиалиновом мицелии *P.lilacinus* меланины ранее обнаружены не были. Нами выявлено, что грибная масса и выделенный из разных штаммов пигмент содержали источник типичного для меланинов синглетного ЭПР-спектра. Концентрация ПЦ в мицелии штаммов из зон с фоновым уровнем радиации была в 1,5–3,5 раза ниже, чем у штаммов из зоны ЧАЭС. Радиопротекторные свойства меланинов хорошо известны. Таким образом, увеличение содержания меланинов у штаммов, обитающих в зоне ЧАЭС, по-видимому, является одним из основных элементов защиты от радиоактивного излучения.

БИОФИЗИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПРИРОДНОЙ И ИНСТРУМЕНТАЛЬНОЙ ОРТЕРАПИИ

The natural and instrumental orotherapy biophysical grounds

Березовский В.А., Киенко В.М., Левашов М.И., Литовка И.Г.

Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины, 01024, Киев, ул.Богомольца 4

Целебное действие горного воздуха (**природная оротерапия**) известно человечеству со времен Гиппократ и Авиценны. Горные курорты и сегодня успешно восстанавливают здоровье при легочных и сердечно-сосудистых заболеваниях. В то же время два часа дыхания чистым кислородом способно инициировать отек легкого, а у беременной женщины даже 30 минут такого воздействия достаточно, чтобы вызвать слепоту новорожденного. Молекулярный кислород подобен двуликтому Янусу, что подтверждается многолетней эмпирической практикой медицины и современными исследованиями. Уместно заметить, что первые живые прокариотические образования возникли на планете в бескислородной, восстановительной атмосфере, обеспечивая свои энергетические потребности анаэробным путем. Эволюционно более позднее появление молекулярного (биогенного) кислорода привело к развитию как биохимических механизмов аэробного дыхания, так и антиоксидантных систем (каталазы, пероксидазы, супероксиддисмутаза), способных противостоять разрушительному действию молекулярного кислорода или его радикалов. В соответствии с законами физической диффузии и уравнением Фика массоперенос вещества прямо пропорционален градиенту его концентрации. В случае массопереноса растворенных в жидкости газов – градиенту их парциальных давлений ($seu - \text{напряжения газа} - dP$). Для адаптированных к условиям вторичной атмосферы Земли биологических систем особое значение приобрели условия перемещения молекул кислорода, интенсивность которого прямо пропорциональна градиенту P_{O_2} . Высказана точка зрения, что для человека нынешняя концентрация кислорода воздуха избыточна, вызывает состояние гипероксии. Она создает условия хронического кислородного стресса, снижающего иммунитет и укорачивающего длительность жизни. Более низкое P_{O_2} воздуха горных районов – один из факторов, способствующих долголетию и здоровью аборигенов. Терапевтическое и профилактическое использование азотно-кислородных газовых смесей с умеренно сниженным P_{O_2} (**инструментальная оротерапия**) находит все более широкое применение в клинической медицине для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, аллергических состояний, анемий, для профилактики гестозов и лечения последствий детского церебрального паралича. Учитывая результаты исследований нескольких поколений физиологов и клиницистов следует признать, что уместно дифференцировать четыре степени биологического действия сниженного P_{O_2} вдыхаемого воздуха, выделяя **индифферентную, саногенную, патогенную и абиотическую** гипоксию, каждая из которых имеет определенный диапазон конкретных значений парциального давления кислорода в природном или инструментально воспроизведенном горном воздухе.

ВЛИЯНИЕ НУЛЕВОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА МОРФОЛОГИЮ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ И ДИМОРФНЫХ ВИДОВ МИКРОМИЦЕТОВ

Influence of zero magnetic field on morphology of mycelial and dimorphous micromycetes

Богомолова Е.В., Зароченцева И.А., Панина Л.К.

Санкт-Петербургский государственный университет,
199034, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9 ; e-mail: fungi@narod.ru

Роль геомагнитного поля как фактора естественной среды обитания и возможный вклад сверхслабых магнитных полей в процессы функционирования живых систем еще далеки от понимания. Особый интерес для таких исследований представляют биологические модели, не имеющие явных органов рецепции магнитных полей.

В работе изучена вариабельность ряда морфофизиологических свойств у мицелиальных грибов *Ulocladium consortiale* и *Neurospora crassa* и диморфного вида *Phaeococcomyces chersonesos* при культивировании в условиях ослабления магнитного поля Земли в $500 \div 600$ раз и компенсации остаточных полей до величин порядка $1 \div 100$ нТ. Показано, что у грибов наблюдается целый спектр магнитобиологических реакций, среди которых наиболее значимыми являются спиралевидный рост мицелия у *U. consortiale* и *N. crassa* и мицелиальный рост у черных дрожжей *P. chersonesos*.

Согласно нашей гипотезе, при изменении морфологии в экранированном поле у *P. chersonesos* первичными мишенями могут быть ионы Ca^{2+} и функционально связанные с ними сигнальные элементы. Традиционная модель мицелиального роста включает понятие «апикального тельца» (Spitzenkorper, SPK) – мобильного сложноорганизованного комплекса транспортных везикул и белков в апексе растущей гифы. Переход от изотропного дрожжевого к мицелиальному росту, сопровождаемый образованием SPK, и стабилизация такой организации роста приводят к удлинению гиф вдоль оси полярности. При инициации ветвления происходит выбор новой точки роста и формирование новых осей. У многих микромицетов (например, *Aspergillus awamori*, *A. fumigatus*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium graminearum*, *N. crassa*) в такие морфогенетические процессы, в частности, удлинение и ветвление гиф вовлечены элементы Ca^{2+} -опосредованной сигнализации. С изменениями уровней внутриклеточного Ca^{2+} сопряжен переход дрожжи-мицелий ($Y \rightarrow M$) у диморфных видов *Paracoccidioides brasiliensis* и *Sporothrix schenckii* и др. Возможно, формирование SPK при воздействии ГМП и/или чувствительность клеток *P. chersonesos* к дальнейшей экспозиции в магнитном вакууме также связаны с модификацией кальциевого паттерна в клетках, аналогично механизмам, описанным для других биосистем [1-5].

1. Белова Н.А., Леднев В.В./ Биофизика. 2001. Т. 46, № 1. С. 122-125
2. Belova NA et al./ The Environmentalist .2007. V.27(4).P. 411-416
3. Poiata A. et al./ Electromagnet. Biol. Med. 2003.V. 22. P. 171-182
4. Creanga DE et al./ J. Magnet. Magnetic Mat. 2004.V. 272-276. P. 2442-2444
5. Nagy P, Fischl G/ Bioelectromagnetics. 2004.V. 25. P.316-318.

**ВРЕМЕННОЕ ФИЗИЧЕСКОЕ УДАЛЕНИЕ АУТОАНТИТЕЛ С ПОМОЩЬЮ
ПЛАЗМАФЕРЕЗА КАК СПОСОБ СОЗДАНИЯ «ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ОКНА»
ПРИ АУТОИММУННОМ ТИРЕОИДИТЕ**

**Temporary physical removal of autoantibodies with plasmapheresis as a method of
creating a «therapeutic window» in patients with autoimmune thyroiditis**

Болотанова М.К.^{1,3}, Орлов А.А.², Мамаев С.В.², Маевский Е.И.³

¹-Городская поликлиника № 6, Москва, Рублёвское шоссе, 1;

²-ФГУ НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН,
125315, Москва, Балтийская улица, 8;

³-Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
142290, Пушкино, Моск. обл., ул. Институтская, 3;
Тел.: +7(903)261-23 64; e-mail: jufesa@mail.ru

Возрастная инволюция эндокринной и иммунной системы сопровождается уменьшением плотности и повышением хрупкости костной ткани, нарушением трофики организма в целом. Возрастные изменения существенно осложняются спонтанным и генетически обусловленным развитием аутоиммунной патологии, особенно часто среди которой наблюдается аутоиммунный тиреоидит (АИТ). Причем частота таких осложнений встречается на порядок чаще у женщин в период менопаузы и может наблюдаться в более молодом возрасте. Такие состояния приводят к развитию дентальной патологии, остеопороза, пародонтоза, инфекционно-воспалительным осложнениям, отторжению трансплантатов и имплантов, обесценивая самую высокотехнологическую стоматологическую помощь, вследствие чего являются противопоказанием для реконструктивного хирургического пособия. Лечение АИТ, как правило, способствует минимизации многих осложнений. В первую очередь препятствует трофическим нарушениям, тормозит денто – и остеолитиз, стимулирует ремоделирование костной ткани и регенераторные процессы, уменьшает вероятность отторжения. Однако патогенетически обоснованное лечение АИТ, протекающего с высокой вариабельностью и фазно, требует постоянного квалифицированного эндокринологического и иммунологического мониторинга и соответствующей коррекции лечения.

В последние десятилетия для достижения временной ремиссии при аутоиммунных заболеваниях, первоначально при аутоиммунной миастении, получила распространение тактика физического удаления аутоиммунных антител путем многократного плазмафереза. Мы решили испытать этот физический подход для удаления аутоантител в практической стоматологии при различных формах АИТ. Оказалось, что после 6-10 кратного плазмафереза резко снижается уровень аутоантител и вновь возрастает лишь через несколько месяцев. Таким образом формируется «терапевтическое окно», позволяющее добиться паллиативной ремиссии, которая может дать время, необходимое для успешного оказания стоматологического реконструктивного пособия. Как показал наш опыт применения плазмафереза более чем у 30 больных, длительность «терапевтического окна» достаточна для проведения операции, искусственного наращивания лигированных тканей, процесса заживления послеоперационной травмы и приживления имплантов и трансплантатов. Мы полагаем, что временное физическое удаление аутоантител - патофизиологически оправданный подход при АИТ. Этот метод повышает эффективность

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ РАДИОЧАСТОТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ДЕЦИМЕТРОВОГО ДИАПАЗОНА НА ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА КРЫС**Studies on the effect of RF energy in the decimeter range heart rate variability in rats.****Борзиков В.В.**Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского,
603950, Нижний Новгород, пр.т Гагарина 23.

E-mail: Crovean_@mail.ru

В настоящее время, в связи с интенсивным развитием электроники и созданием новейших разработок в этой области, в мире происходит резкое увеличение электромагнитного фона окружающей среды человека. Показано, что ЭМП влияет на живые существа любой степени сложности – от простейших до высших. Это влияние характеризуется многообразными эффектами – от изменений на молекулярном уровне до реакций целостного организма, в связи с этим является актуальным исследование ЭМИ и разработка теоретических и практических основ о степени положительного и отрицательного влияния этих излучений на организм человека и животных. Целью данной работы являлось изучение реакций вегетативной нервной системы крыс на действие ЭМИ низкой интенсивности в диапазоне частот 600 -1250 МГц, на фоне острого иммобилизационного стресса в данной работе исследовано воздействие ЭМИ на организм крыс, воздействие 20 минутного острого иммобилизационного стресса и суммарное воздействие этих двух факторов. Данные получены методом регистрации ЭКГ, обработаны при помощи критерия Стьюдента. Для изучения действия ЭМП, крысу помещали в специальную камеру, ЭКГ регистрировали во 2 стандартном отведении.

В результате исследований установлено, что показатели спектра сердечного ритма крыс при их тотальном облучении электромагнитным полем в диапазоне 600-1250 МГц и при интенсивности 2-4 мкв/см² статистически значимо не изменялись. Показано, что острый иммобилизационный стресс в течении 20 минут изменял спектр сердечного ритма крыс, так статистически значимо увеличилась частота сердечных сокращений, статистически значимо уменьшились следующие показатели: SDNN, pNN5, CV.

Тотальное облучение крыс электромагнитным полем в диапазоне частот 950-1050 МГц при интенсивности облучения 2-4 мкв/см² на фоне иммобилизационного стресса, усиливало его действие на исследуемые показатели ЭКГ, что свидетельствовало об углублении стрессорного воздействия.

РЕАКЦИИ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ И МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС**OXIDATIVE STRESS RESPONSES OF HUMAN EMBRYONIC AND MESENCHYMAL STEM CELLS****А.В. Бородкина, А.Н. Шатрова, Н.А. Пуговкина, Н.Н. Никольский, Е.Б. Бурова¹**

ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064, Тихорецкий пр., д. 4;
(812)-297-45-96; ¹электронный адрес: lenbur87@mail.ru

Цель работы. Сравнительное исследование эффекта окислительного стресса на эмбриональные и тканеспецифичные, полученные из эндометрия, стволовые клетки человека.

Подходы и методы. Возможность использования стволовых клеток при лечении патологий, связанных с повреждением тканей в условиях окислительного стресса, зависит от устойчивости этих клеток к действию окислителей. Реакции эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) на окислительный стресс интенсивно исследуются в последние годы, в то время как аналогичные работы на стволовых клетках эндометрия (СКЭ) отсутствуют. Окислительный стресс индуцировали действием H_2O_2 в различных концентрациях (от 50 до 1000 мкМ) в течение 1 ч. Жизнеспособность клеток после воздействия тестировали методом МТТ. Распределение клеток по фазам клеточного цикла и апоптоз оценивали методом проточной цитофлуориметрии. Экспрессию активной каспазы-3 и $p21^{waf1/cip1}$ детектировали методом Вестерн-блота.

Результаты. Жизнеспособность ЭСК и СКЭ после воздействия обратно пропорциональна концентрации H_2O_2 в диапазоне 50-1000 мкМ; при этом значение LD_{50} было определено как 350-400 мкМ и 600-700 мкМ, соответственно. В результате действия H_2O_2 в летальной концентрации (500 мкМ) на ЭСК уже через 2-4 ч после воздействия наблюдали увеличение доли **AnnexinV-положительных клеток и экспрессию активной каспазы-3, что свидетельствует об апоптотической гибели клеток.** В последующие сутки восстанавливалась нормальная пролиферация выживших после стресса клеток.

Показано, что характер H_2O_2 -индуцированного ответа СКЭ зависит от концентрации H_2O_2 . Так, действие 50 мкМ H_2O_2 приводит к небольшому торможению пролиферации в клетках по сравнению с контролем. В ответ на суб-летальную концентрацию H_2O_2 (200 мкМ) клетки также не погибали, но демонстрировали признаки **SIPS (stress-induced premature senescence): необратимый арест клеточного цикла, длительную остановку пролиферации, увеличение доли клеток, позитивно окрашенных SA- β -Gal, накопление ингибитора циклин-зависимых киназ $p21^{waf1/cip1}$.** H_2O_2 в летальных концентрациях (900 мкМ) стимулирует вхождение части клеток в состояние преждевременного старения, тогда как другая часть клеток погибает путём апоптоза (через 24 ч).

Выводы. СКЭ являются более устойчивыми к действию окислительного стресса по сравнению с ЭСК. В зависимости от концентрации H_2O_2 СКЭ могут входить в состояние преждевременного старения и/или погибать путём позднего апоптоза. Для ЭСК при действии H_2O_2 характерна ранняя апоптотическая гибель повреждённых клеток.

**ВОДА, НАСЫЩЕННАЯ ВОЗДУХОМ, КАК АКТИВНАЯ СРЕДА:
СЕНСОР, ТРАНСФОРМАТОР И УСИЛИТЕЛЬ СЛАБЫХ ФИЗИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ****Air-saturated water as an active medium: sensor, transformer and amplifier of weak
physical impact****Брусков В.И., Гудков С.В., Черников А.В., Ягужинский Л.С.***

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук,
142290, Пущино, ул. Институтская, 3

Тел.: +7(4967) 73-94-49; факс: +7(4967) 33-05-53; e-mail: bruskov_vi@rambler.ru

*Институт физико-химической биологии им.А.Н.Белозерского Московского государственного университета им.М.В.Ломоносова, Москва

Вода, насыщенная воздухом, содержит определенное количество собранных в гроздь нанопузырьков воздуха диаметром примерно 10-100 нм, стабилизированных ионами, так называемых «бабстонов» (**bubble stabilized by ions**). **Нами разработана концепция, согласно которой открытая система «вода-воздух» является неравновесной активной средой.** В ней происходит накопление свободной энергии в виде поверхностного натяжения в бабстовах. Эта энергия может высвобождаться в виде стандартных высокоэнергетических процессов в результате их коллапса - кавитационного схлопывания бабстонов при действии ряда слабых физических воздействий. Такой коллапс, вероятно, происходит при световом, лазерном и тепловом воздействии на воду. Он сопровождается свечением в сине-зеленой области спектра, увеличением электропроводности воды и образованием активных форм кислорода (АФК) и азота. Пусковым механизмом коллапса бабстонов, вероятно, является возбуждение молекулярного кислорода в полосах его резонансного поглощения и перехода в синглетное состояние в результате локального электромагнитного возмущения в бабстовах. В результате среда «вода-воздух» может служить сенсором, трансформатором и усилителем слабых воздействий. Этот процесс, вероятно, аналогичен коллапсу бабстонов под влиянием ультразвука, который носит взрывной характер и сопровождается нагреванием до высоких температур (более 10000 К) и высокими давлениями в микрообъеме. В результате этого процесса происходит последовательность реакций генерации активных форм кислорода (АФК): $2O_2$ (триплет) $\rightarrow 2O_2$ (синглет) $\rightarrow 2O_2^-$ (супероксид-анион радикал) $\rightarrow 2HO_2$ (гидроперекисный радикал) $\rightarrow H_2O_2 + O_2$ (синглет) с образованием долгоживущей формы АФК - перекиси водорода - и возможностью протекания цепного процесса. Оценка энергии поверхностного натяжения, сосредоточенной в единичном нанопузырьке воздуха и освобождаемой при его коллапсе, при среднем радиусе нанопузырька $R=25$ нм, составляет $E = 6 \times 10^{-7}$ эрг = 3.75 КэВ. Она достаточна для разрыва любой химической связи и образования радикалов. В результате происходит выделение запасенной энергии в виде квантов света и образование гидроксильных, супероксид-анион и гидроперекисных радикалов, перекиси водорода и оксидов азота и других продуктов. Образование АФК, главным образом перекиси водорода, и активных форм азота могут влиять на биологические процессы сигнально-регуляторным способом.

Работа поддержана грантами РФФИ (10-04-00800-а; 10-04-00949-а).

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ НЕЙРОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ОКСИДА АЗОТА ПРИ ДЕГЕНЕРАЦИИ КЛЕТОК СЕТЧАТКИ ГЛАЗА**Molecular mechanisms of nitric oxide neurotoxic action under the degeneration of the retina cells****Бугрова А.Е., Константинова Т.С., Шевченко Т.Ф., Каламкарров Г.Р.**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4
Тел.: +7(495)939-74-05; факс: +7(499)137-41-01; e-mail: kalam2@rambler.ru

Апоптотическая гибель клеток сетчатки является причиной самых распространенных глазных патологий, таких, как макулярная дегенерация сетчатки, глаукома, невриты глазного нерва. Молекулярные механизмы этих патологий обусловлены изменением внутриклеточной концентрации кальция, глутаматной интоксикацией, развитием окислительного и нитрозотивного стресса, приводящими к апоптотической гибели клеток сетчатки.

Молекулярные механизмы развития апоптоза в сетчатке глаза исследовались нами на двух экспериментальных моделях: глутаматной интоксикации и ишемии сетчатки.

Модель глутаматной интоксикации создавали путем интравитреального введения NMDA (200 нмоль/глаз). При этом контролировали электрическую активность и морфологические изменения сетчатки. Введение NMDA приводило к развитию апоптоза в ганглиозном и внутреннем ядерном слоях сетчатки в течение 12 – 24 часов. Однако предварительное введение животным ингибитора NO-синтазы L-NAME предотвращало развитие апоптоза.

Аналогичный результат получен и на разработанной нами модели ретиальной ишемии. Развитие ишемии индуцировали непосредственным локальным лазерным воздействием на магистральные ретиальные сосуды, что позволяет избежать недостатков таких широко используемых моделей ишемии, как окклюзия центральной ретиальной артерии и повышение внутриглазного давления, так как исключаются компрессионные повреждения ганглиозных клеток, нервных волокон и зрительного нерва. Типичные признаки ишемии наблюдались во внутренних слоях сетчатки через 24 часа после лазерного воздействия.

Методом TUNEL было обнаружено увеличение количества апоптотических клеток через 24 часа после лазерной коагуляции во внутреннем ядерном слое и слое ганглиозных клеток. Введение блокатора NO-синтазы L-NAME непосредственно перед лазерной коагуляцией предотвращало апоптотическую гибель клеток. Т.о. снижение концентрации оксида азота в сетчатке предотвращает развитие апоптоза при ишемии и глутаматной интоксикации.

Чтобы установить, приводит ли повышение концентрации NO к развитию апоптоза, в глаз экспериментальным животным вводили ДНКЖ - соединение, которое является нетоксичным донором оксида азота. Введение ДНКЖ приводило к развитию апоптоза в клеточных слоях сетчатки через 24 часа.

В докладе обсуждаются молекулярные механизмы токсического действия оксида азота и возможности предотвращения гибели клеток сетчатки при патологиях путем фармакологического снижения концентрации NO.

ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ ЖИДКОСТИ ПЕРЕДНЕЙ КАМЕРЫ ГЛАЗА ПАЦИЕНТОВ С КАТАРАКТОЙ

Mass spectrometry based proteomic analysis of human cataract aqueous humor

А.Е. Бугрова¹, А.С. Кононихин^{1,3}, Е.Н. Вериго², Д.М. Автономов³, И.А. Попов^{1,3}, Г.Р. Каламкар¹, Е.Н. Николаев^{1,3}

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

2 - Московский научно-исследовательский институт глазных болезней им.Гельмгольца, Москва, Россия

3- Институт энергетических проблем химической физики РАН, Москва, Россия
Тел.: +7(495)939-74-05; факс: +7(499)137-41-01; e-mail: anna.bugrova@gmail.ru

Изучение протеома глазных жидкостей важно для выяснения этиологии, прогнозирования и диагностики офтальмологических заболеваний. Внутриглазная жидкость передней камеры (ВПК) необходима для трофики и удаления метаболитических отходов от бессосудистых структур глаза, таких как роговица, хрусталик, и играет важную роль в поддержании определенного уровня внутриглазного давления. ВПК содержит белки, секретруемые тканями переднего сегмента глаза, которые могут играть важную роль в патогенезе различных офтальмологических заболеваний. О белковом составе ВПК глаза известно немного, так как получение образцов довольно сложно: она доступна только при проведении некоторых офтальмологических операций, например при удалении катаракты. Целью настоящей работы было исследование белкового состава ВПК глаза пациентов с катарактой с целью выявления потенциальных биомаркеров этого заболевания.

Образцы ВПК глаза были отобраны у двенадцати пациентов с возрастной катарактой и шести кадаверов без офтальмологических патологий. Пациенты с другими офтальмологическими заболеваниями, системными заболеваниями, а также подвергавшиеся хирургическому вмешательству по поводу глазных болезней ранее не участвовали в исследовании. Белки, содержащиеся в изучаемом образце, солиобилизовались в мочеvine, восстанавливались и алкилировались. Последующее концентрирование материала осуществлялось путем осаждения ацетоном. Гидролизовали белки трипсином в аммоний-бикарбонатном буфере. Полученные пептиды анализировались с использованием тандемной масс-спектрометрии (Agilent LTQ FT Ultra). Идентификация белков по базе данных IPI-human проводилась при помощи программы Mascot (Matrix Science). Впервые в исследовании в качестве контрольной группы использовалась ВПК глаза кадаверов среднего возраста без офтальмологических заболеваний. Более двухсот белков было идентифицировано в образцах ВПК. Некоторые из них (50%) были описаны ранее [1, 2]. Часть белков идентифицирована впервые. Белковый состав ВПК пациентов с катарактой и кадаверных глаз существенно различается: некоторые белки были обнаружены только при катаракте. Эти белки могут быть потенциальными маркерами катаракты.

1. Richardson MR, Price MO, Price FW, Pardo JC, J You, Wang M, Yoder MC // Molecular Vision 2009; 1:2740-2

2. Escoffier P, Paris L, Bodaghi B, Danis M, Mazier D, Marinach-Patrice C // Journal of Proteome Research 2010, 9, 789-797 789.

**ЛАЗЕРНАЯ ФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА ФАРМАКОКИНЕТИКИ
МИКРОКАПСУЛ****Laser fluorescence diagnostics of pharmacokinetics of microcapsules****Букреева Т. В.¹, Калашникова И. В.¹, Марченко И. В.¹, Смирнова О. Д.², Рогаткин Д. А.²**¹ – Федеральное государственное бюджетное учреждение

«Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»; 123182 Россия, Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1. Тел.: 8-(499)-196-95-39; Факс: 8-(499)-196-17-04.

² – Государственное учреждение Московский Областной Научно-исследовательский клинический институт (МОНИКИ) им. М.Ф. Владимирского; 129110, Москва, ул.Щепкина, 61/2. Тел.: +7 (495) 626-67-00, факс: +7-(495)-681-89-84; e-mail: smrnova0ksana@ya.ru

Микрокапсулирование позволяет снизить дозировку и общую токсикологическую нагрузку фармпрепаратов на организм за счёт временной защиты от разрушающих ферментов и локализованной в области адресной адгезии концентрации. Разработка новых форм микрокапсул требует непрерывного мониторинга за их поведением в организме от момента введения до полного выведения из него. Для возможности неинвазивного отслеживания распределения хитозан-декстрансульфатных микрокапсул в организме грызунов капсулы метили фотодитазинном, а затем с периодичностью при помощи лазерного диагностического сканирующего комплекса ЛАКК-М отслеживали их распределение в подкожных слоях от момента введения до полного пропадания специфического флюоресцентного сигнала фотодитазина.

Микрокапсулы были получены в НИЦ «Курчатовский институт» последовательным напылением мономолекулярных слоёв хитозана и декстран сульфата на ядра из CaCO₃, меченные фотодитазинном и имеющие изначальный размер 0,5-1 мкм. Включение каждого слоя полимеров контролировалось при помощи ИК-спектроскопии. Ядра затем частично растворяли растворяли и промывали, - что обеспечивало формирование пористой структуры микрокапсул, конечным размером 1-5 мкм.

Дисперсию микрокапсул в воде вводили мышам экспериментальной группы внутрибрюшинно в дозировке 10 мг/кг веса. За динамикой их распределения вокруг места введения и по организму наблюдали при возбуждении лазерами 365 нм и 532 нм. Параллельно контролировали параметры микроциркуляции, чтобы убедиться, что не происходит окклюзии микроциркуляторного русла при возможном застревании микрокапсул в капиллярах.

Выявлено, что микрокапсулы не попадают в кровеносные микрокапилляры мышей, а в течение 5-8 дней всасываются, по-видимому, в лимфатические капилляры и оседают в ближайших лимфоузлах на срок 40-60 дней. Параметры микроциркуляции близлежащих тканей при этом не изменяются. У контрольной группы мышей, которой аналогичным образом вводился водный раствор фотодитазина, флюоресцентный сигнал пропадавал через 4 суток. При этом в обоих случаях распределение сигнала было всплесковым в месте инъекции, с затуханием в окружающем районе 1 см. Поведение опытных животных не менялось и не отличалось от контрольной группы; их внутренние органы сохраняли нормальные структуры и не выявили флюоресцентной метки.

Это указывает на возможность использования микрокапсул из хитозана, покрытых декстран сульфатом, в качестве нетоксичного носителя фармпрепаратов локального расщепленного действия.

УСТАНОВЛЕНИЕ ГРАНИЦ НОРМЫ БИОЛОГИЧЕСКИХ ИНДИКАТОРОВ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ЭКОСИСТЕМ ПО ДАННЫМ НАТУРНЫХ НАБЛЮДЕНИЙ**Determination of norm borders for biological indicators and physical-and-chemical factors in ecosystems by data of natural observations****Н.Г.Булгаков, А.П.Левич, Д.В.Рисник**

Биологический факультет МГУ, 119991, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12
e-mail: bulgakov@chronos.msu.ru

Согласно биотической концепции экологического контроля оценку состояния природных экосистем следует проводить по биологическим, а не физико-химическим показателям. Дальнейший совместный анализ биоиндикационных показателей и физико-химических факторов с помощью метода установления локальных экологических норм приводит к созданию *insitu-технологии экологического контроля, которая позволяет выявить, нормировать и ранжировать абиотические факторы, приводящие к экологическому неблагополучию*. Технология также дает возможность рассчитывать границы нормы не только для факторов, но и для биоиндикаторов.

Кроме того, с помощью технологии можно: выявлять, в какой степени достаточна программа мониторинга факторов среды, вызывающих экологическое неблагополучие; оценивать качество окружающей среды на отдельных участках наблюдения за биологическими и физико-химическими характеристиками; составлять прогноз состояния экосистемы по сценариям проектируемых воздействий; предлагать пути управления качеством среды экосистемы.

Устанавливаемые с помощью метода границы локальных экологических норм могут быть интерпретированы как целевые показатели качества среды, как региональные уточнения или дополнения лабораторных нормативов ПДК, как адаптивные фоновые значения факторов среды и как границы классов качества среды по биологическим и физико-химическим показателям.

Для биоиндикации состояния водных экосистем, кроме традиционных методов измерения индексов сапробности, биотических, олигохетных индексов, могут быть применены показатели видового разнообразия (параметры ранговых распределений численностей видов гидробионтов, индексы выравненности) и показатели размерной структуры (средний размер клетки в пробе, соотношение численностей и биомасс размерных классов) сообществ фитопланктона. Кроме того, перспективным направлением биоиндикации является использование экспресс-методов измерения общей флуоресценции водных проб и флуоресценции фитопланктона.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (гранты №№ 12-07-00580-а, 11-04-00915-а).

**НОВЫЕ ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ПРЕПАРАТЫ ИЗ КЛАССА ОКСАЗОЛОВ
ДЛЯ РАДИОТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ****New perspective class of oxazole derivatives for radiotherapy of tumors**

**Бурлакова Е.Б.¹, Духович Ф.С.² Гуревич С.М., Жижина Г.П.¹, Заварыкина Т.М.¹,
Козаченко А.И.¹, Наглер Л.Г.¹ Трещенкова Ю.А., Фаткуллина Л.Д.¹**

¹ - Институт биохимической физики им. Н.М.Эмануэля РАН,
119334, Москва, ул.Косыгина 4;

² - ФГУП ГНИИ органической химии и технологии, Москва.
Тел. +7(499)939-71-79; факс +7(499)137-41-01; e-mail: seren@sky.chph.ras.ru

Важнейшей проблемой лучевой радиотерапии злокачественных опухолей является подбор препаратов, селективно повышающих радиочувствительность опухолей по сравнению с нормальными тканями. Целью настоящей работы является поиск таких свойств среди препаратов - производных оксазола, способных трансформировать энергию ионизирующей радиации (ИР) в световую и тепловую формы энергии. Наибольшей эффективностью такого действия обладают два соединения: 2,5-дифенилоксазол (ДФО) и 1,4-ди[2-(5-фенилоксазолил)]бензол (ДФОБ). Эти соединения проявляют дозово-зависимое радиооащитное или сенсibiliзирующее влияние при рентгеновском облучении мышей. Введение 20 мг/кг ДФОБ на 2 сутки после перевивки аденокарциномы АКАТОЛ снижало скорость роста опухоли, почти не влияя на среднюю продолжительность жизни (СПЖ) мышей линии Balb/c. Препарат снижал содержание малонового диальдегида, степень гемолиза эритроцитов, активность ГП печени и ЛДГ мозга.

Тотальное облучение в дозе 2 Гр (75 сГр/мин) уменьшало СПЖ мышей на 15% и незначительно тормозило рост опухоли, индуцируя ДР ДНК лейкоцитов селезенки, снижая уровень МДА в эритроцитах и микровязкость мембран на 10-15% относительно контрольных опухоленосителей. Комбинация облучения в дозе 2 Гр и 20 мг/кг ДФОБ вызывала более эффективное торможение роста опухоли и увеличение СПЖ до уровня контроля. Совместное действие препарата и облучения нормализовало содержание МДА, гемолиз эритроцитов, активность ГП печени, однако повышало количество ДР ДНК, микровязкость мембран и активность СОД, снижая содержание глутатиона в плазме крови относительно контроля.

Повышение концентрации ДФОБ до 30 мг/кг в сочетании с 2 Гр ИР вызывало снижение повреждения структуры ДНК, содержания МДА в эритроцитах, уровня их гемолиза и активности ЛДГ в клетках мозга относительно параметров контроля, то есть оказывало более благоприятное действие на организм животных.

Совместное действие 20 мг/кг или 30 мг/кг ДФОБ и облучения в дозе 2 Гр тормозило рост карциномы АКАТОЛ на 30±3% в течение 12-15 суток, увеличивая СПЖ мышей. Более эффективным по сенсibiliзации опухоли это сочетание оказалось при воздействии на медленно растущую солидную опухоль – меланому В-16 мышей-гибридов (СВАх C₅₇ В1).

Эти результаты позволяют предположить, перспективность применения оксазолов при радиотерапии. Тщательный подбор доз препарата ДФОБ и доз ИР при однократном локальном облучении позволит получить сенсibiliзацию злокачественной опухоли при наименьшем влиянии на организм.

ИЗМЕНЕНИЯ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ КРЫС, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ СПОСОБОМ ЭКСПОЗИЦИИ ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ БИОФИЗИЧЕСКОГО ЭКСПЕРИМЕНТА**Features of rats behavior resulting from different means exposition at the biophysical experiment****Буянов Л.С., Баркин В.В., Кременчугская И.Г., Лопаткина Н.В., Сметанина М.В.,
Девяткова Н.С.**

ФГУП Российский Федеральный Ядерный Центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики,
607188, г.Саров, Нижегородская обл., пр.Мира 37
Тел. +7(83130) 2 25 99, факс +7(83130) 2 53 00, e-mail: nata@bfrf.vniief.ru

В работе представлены результаты исследования зависимости результатов теста «открытое поле» от способа экспозиции животных в условиях биофизического эксперимента.

Объектом исследования являлись крысы-самцы. Крыс в течение 34 минут экспонировали в условиях, определяемых типом спецконтейнера, применяемого в биофизических экспериментах для размещения мелких лабораторных животных. Исследование особенностей поведения крыс после выдерживания в заданных условиях проводили с использованием методики «открытое поле».

Установлено, что выдерживание крыс в течение 34 минут в контейнерах различных типов приводит к изменению их поведения в тесте «открытое поле». Выявлены однонаправленные изменения некоторых поведенческих реакций, служащие признаком увеличения исследовательской активности у крыс экспериментальных групп относительно интактной группы. Определены факторы экспозиции, вызывающие эмоциональную напряженность животных: это малый объем пространства и отсутствие возможности тактильного взаимодействия между особями. Выявлены изменения поведенческих реакций крыс, генерированные отдельными факторами экспозиции, на основании чего были даны рекомендации по планированию биофизического эксперимента.

В качестве направления дальнейших исследований предложено определение времени адаптации животных к факторам экспозиции, вызывающим эмоциональное напряжение.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ДИНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА С ТИОЛ-СОДЕРЖАЩИМИ ЛИГАНДАМИ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ БИМЕДИЦИНСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭТИХ КОМПЛЕКСОВ

Physico-chemical characteristics of dinitrosyl-iron complexes underlying bio-medical activity of the complexes

Ванин А.Ф.

Институт химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН, 119991, Москва, ул. Косыгина,4;
Тел.: +7(495)939-75-35; факс: +7(495)651-21-91; e-mail: vanin@polymer.chph.ras.ru

Обе формы - моноядерная и биядерная – водорастворимых низкомолекулярных динитрозильных комплексов железа (М- и Б-ДНКЖ) с глутатионом или цистеином (формулы $[(RS)_2Fe(NO)_2]$ и $[(RS)Fe(NO)_2]_2$, соответственно) способны выступать в живых системах в качестве доноров молекул NO и ионов нитрозония (NO^+). Эта способность обнаруживается при взаимодействии М- и Б-ДНКЖ с гемовыми и тиоловыми группами белков, приводящем соответственно к образованию нитрозильных комплексов гемового железа и S-нитрозированию тиоловых групп белков и, как следствие этого, к изменению биологической активности гем- и тиол-содержащих белков. Таким образом, ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами оказывают на компоненты живых систем такое же действие, что и эндогенно продуцируемый в этих системах монооксид азота (NO) – **один из универсальных регуляторов** разнообразных физиологических и метаболических процессов во всех представителях живого мира, функционирующий в них в форме NO и NO^+ . В связи с этим есть основание полагать, что низкомолекулярные ДНКЖ с глутатионом или цистеином также могут влиять на множество биологических процессов.

Действительно, к настоящему времени показано, что обе формы ДНКЖ с глутатионом или цистеином способны вызывать длительную релаксацию сосудов и обусловленную ею гипотензию у животных и человека, подавлять агрегацию тромбоцитов, повышать эластичность эритроцитов и тем самым улучшать микроциркуляцию, снижать зону риска при экспериментальном инфаркте миокарда, ускорять заживление кожных ран, благотворно влиять на кавернозную ткань пениса у животных, подавлять развитие апоптоза в клеточных культурах, модулировать активность ряда важнейших генов. При распаде ДНКЖ могут оказывать цитотоксическое действие, что может быть использовано при лечении инфекционных и злокачественных патологий.

Низкомолекулярные ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами и низкомолекулярные S-нитрозотиолы способны к взаимопревращению, образуя в присутствии тиолов, ионов железа и NO **самоподдерживающуюся, саморегулирующуюся химическую систему**, способную вдали от химического равновесия осуществлять автоволновое распределение в пространстве и времени компонентов этой системы.

ВЗАИМОСВЯЗЬ ЭНЕРГИИ МОЛЕКУЛ ВОДЫ, ИОНОВ, БЕЛКА ЛИМФЫ И КРОВИ ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ, ПРИ ДИАГНОСТИКЕ И КОМБИНИРОВАННОМ ЛЕЧЕНИИ РАКА**The energy interaction between water molecules, ions, protein in human lymph and blood in norm, at diagnosing, during radiation therapy and combination therapy for cancer****Вапняр В.В.**

ФГБУ Медицинский радиологический научный центр Минздравсоцразвития РФ,
Обнинск, ул.Королева 4. Тел.: +7(495) 956-14-40; факс: +7(48439) 4-11-99,
e-mail: vap@obninsk.com

Предпосылка. Слабые поля в биосистемах, создаваемые подвижными ионами, влияют на поляризацию белка, нелинейные процессы, регулируют гомеостаз биосистем [1]. Ферменты и гормоны ускоряют реакции самосборки, упаковки разделенных полипептидных цепей белка [2]. В многослойной поляризованной структуре (МПС) протоплазмы, представляющей гель, по модели фиксировано-зарядной системы через энергию специфической связи молекул воды, белка и ионов, индуктивные эффекты осуществляют перегруппировку больших популяций молекул по энергетическим уровням в процессах гидратации тканей [3].

Цель работы – исследовать воздействие энергии молекул воды, ионов и белка на гидратацию и метаболизм лимфы и крови в норме, на этапе диагностики и лечения рака.

Обследовано более 500 взрослых человек. Из них практически здоровые люди (I группа) и больные раком легких, желудка, прямой кишки, матки и др. (II группа) при диагностике, лучевом и комбинированном лечении. С помощью ядерно-физического анализа исследован состав 18 химических элементов методом ЯМР - время релаксация связи водорода воды T_1 , и $*T_1$ – разности времени T_1 , полученной до- и после ультразвуковой обработки проб, определяется состояние свободной и связанной фазы воды лимфы, взятой из подкожных сосудов нижней трети голени, и плазмы, сыворотки венозной крови. Методом рэлеевского рассеяния света изучены статические и динамические параметры частиц, представленные в виде интегрального показателя G в относительных единицах водных растворов протеинов в пробах. Анализ сравнения лимфы и крови I и II групп выявляет наличие гипергидратации и гиперэлементоза лимфы. Показатели $*T_1$, Al, Sb, Zn (а.с. №№1096775, 1284017) лимфы, способны диагностировать рак. Во II группе после комбинированного лечения, спустя 3-4 недели, показатели G плазмы крови по сравнению с нормой находятся на высоком уровне, снижаясь до нормы через 2-3 месяца. У больных раком желудка до облучения в сухом остатке лимфы по сравнению сывороткой крови содержание Al, Cl, Zn, Na, Fe – высокое, а после облучения суммарной очаговой дозы 20 Гр - Zn, Cl, Na, Al, Sb, K, Co, Fe возрастают в 3-10 раз.

Разработана иерархическая двухуровневая модель системного электромагнитного поля (ЭМП), которое путем тензора натяжения пондеромоторной силы неоднозначно воздействует на лимфоидную и гематогенную ткань. Энергия системных ЭМП через развитие системного эффекта опухоли обуславливает подъем элементов связанной фазы воды, белка лимфы и крови.

Таким образом, взаимосвязь энергии молекул воды, ионов и белка в МПС связанной фазы воды лимфы и крови может быть представлена в виде депо внутренней энергии системных ЭМП в норме. Системный эффект рака обусловлен расширением средне- и слабогидратированных слоев, насыщением их элементами, частицами белка на этапах диагностики и ближайšie сроки после проведения эффективного комбинированного лечения.

1. Чукова Ю.П. Эффекты слабых воздействий. М., 2002.426 с.

2. Ленинджер А. Биохимия М.,1976.957с.

3. Линг Г. Физическая теория живой клетки. Незамеченная революция. С-Петербург, 2008. 375 с.

ВЛИЯНИЕ УФ-ИЗЛУЧЕНИЯ НА ОКИСЛЕНИЕ КОФЕРМЕНТНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ.**Influence of UV irradiation on the oxidation of coenzyme derivatives of folic acid.****Вечтомова Ю.Л., Телегина Т.А., Буглак А.А., Крицкий М.С.**

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии им. А.Н.Баха РАН,
Москва, 119071, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2
Tel: +7(495)952-15-00; e-mail: vechtomova@inbi.ras.ru;

Восстановленные производные фолиевой кислоты являются коферментами ферментов, участвующих в биосинтезе некоторых аминокислот и оснований нуклеиновых кислот, они также являются участниками фотобиологических процессов протекающих под действием ближнего УФ и синего света. В ДНК-фотолиазах, ферментах фотореактивирующих ДНК, поврежденную коротковолновым ультрафиолетом, а также в криптохромах (белках – фоторегуляторах онтогенеза и циркадных ритмов организмов) 5,10-метенилтетрагидрофолат (5,10-метенил-ТГФК) функционирует в составе фотосенсора в качестве светособирающей антенны, передающей энергию возбуждения на основной хромофор - молекулу флавина (в фотолиазах это анионная форма ФАД-Н⁻), отвечающий за фотокаталитическую функцию. Второй «антенный» хромофор не обязателен для работы фермента, не влияет на связывание с субстратом, но при недостаточной освещенности увеличивает скорость фотореактивации на один-два порядка величин.

В докладе изложены результаты экспериментального исследования фотохимических реакций производных фолиевой кислоты (дигидро- и тетрагидрофолиевой кислоты, 5,10-метенил-ТГФК и др.) в присутствии кислорода воздуха. Идентификация продуктов, образующихся после УФ-облучения водных растворов фолатов, с помощью ВЭЖХ-анализа, с использованием трех типов детекторов (фотометрического, флуориметрического и электрохимического), в сочетании с анализом спектров поглощения и флуоресценции индивидуальных соединений, позволила охарактеризовать основные пути и продукты фотодеградации фолатов.

В водном растворе в присутствии кислорода скорость фотолиза 5,10-метенил-ТГФК была на порядки величин ниже, чем у родственных соединений ($\Phi < 0,001$, для сравнения Φ фоторазрушения тетрагидрофолата равен 0,075, а 5-формилтетрагидрофолата - 0,027). При этом в отличие от других фолатных коферментов, присутствие O₂ оказывало протекторное воздействие на молекулу. Есть основание полагать, что устойчивость 5,10-метенил-ТГФК к окислению и фотолизу обусловлена наличием в структуре молекулы положительно заряженного имидазолинового кольца. Высокая устойчивость к УФ-А излучению в присутствии кислорода в сочетании с высоким коэффициентом поглощения ($\epsilon_{360} = 25100 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ при pH 3), а также универсальная доступность кофермента в клетках, могли служить положительными селективными признаками при эволюционном отборе 5,10-метенил-ТГФК на роль светособирающей антенны в ДНК-фотолиазах и криптохромах.

Работа поддержана Программой Президиума РАН № 25 и грантом РФФИ № 11-04-01007-а

ВЛИЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ АКТИНА НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С МИОЗИНОМ В СИСТЕМЕ ПОДВИЖНОСТЬ IN VITRO**Influence of oxidative modification of actin on its interaction with myosin in motility *in vitro* assay****Вихорева Н.Н.¹, Вихорев П.Г.², Негуляев Ю.А.¹, Кулева Н.В.³**¹ _Институт цитологии РАН, С-Петербург, 194064, Тихорецкий пр., 4, Россия² _Национальный Институт сердца и легкого, Имperial Колледж, Лондон, SW72AZ, Великобритания³ _Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра биохимии, С-Петербург, 199034, Университетская наб., 7/9.

Тел. (812)3282182, e-mail:nadezhda.kuleva@gmail.com

Многие физиологические процессы сопровождаются образованием высокореактивных молекул, известных под названием активных форм кислорода (АФК). Количество АФК увеличивается при патологических состояниях организма, старении, интенсивной физической нагрузке, а также при действии повреждающих факторов внешней среды, таких как загрязняющие вещества или ионизирующее излучение. АФК могут окислять белки, липиды и ДНК и нарушать физиологические процессы, в которых участвуют биомолекулы. Присутствующий практически во всех клетках белок актин играет главную роль в функционировании цитоскелета и является ключевым элементом мышечного сокращения. Известно, что необратимое окисление актина, его карбонилирование, может происходить под действием различных факторов внешней среды и является биомаркером окислительного стресса. Цель настоящей работы - исследовать влияние окислительной модификации актина на его физиологические функции. Окислительный стресс у крыс был вызван посредством общего облучения рентгеновскими лучами в дозе 5 Гр [1]. Из икроножных мышц облученных и контрольных крыс был выделен актин [2], и приготовленные из него филаменты были исследованы в системе подвижность *in vitro* [3]. Было показано, что при окислительном стрессе, следующем за облучением, значительно уменьшается доля подвижных филаментов в общем количестве приготовленных для работы нитей. Средняя скорость скольжения актиновых нитей по иммобилизованным головкам тяжелого меромиозина также снижается от 6,0 до 4,0 мкм/мин. В работе были также проанализированы траектории движения филаментов, отражающие их механические свойства - т.н. "персистентную длину", пропорциональную степени устойчивости к изгибу [4,5]. Было показано, что под действием окислительного стресса актиновая нить становится более гибкой. Таким образом, окислительная модификация актина может изменять как механические свойства актиновых нитей, так и их взаимодействие с актином.

1. Бакланова М.Ю., Залесова З.С., Федорова М.А., Кулева Н.В./Вестн.СПбГУ 2002.4:24-31

2. Pardee J.D., Spudich J.A./Methods Enzymol.1982.85 Pt B:164-181/

3. Kron S.J., Toyoshima Y.Y., Uyeda T.Q., Spudich J.A./Methods Enzymol.1991,196:399-416.

4. Nitta T., Tanahashi A., Obara Y., Hirano M. et al.,/Nano Lett.2008. 8:2305-2309.

5. Vikhorev P.G., Vikhoreva N.N., Mansson A. /Biophys.J.2008.95:5809-5819.

ПАРАМЕТРЫ ОДНОСТОРОННЕЙ ХОЛОДОВОЙ СТИМУЛЯЦИИ И ХАРАКТЕРИСТИКИ СИММЕТРИЧНЫХ ТЕРМОРЕАКЦИЙ**Parameters of unilateral cold stimulation and characteristics of symmetrical thermoreactions****Воловик М.Г., Каменская Э.В.**

ФГБУ «Нижегородский НИИ травматологии и ортопедии» Минздравсоцразвития России, 603155, г. Нижний Новгород, Верхне-Волжская наб., 18\1
Тел.: +7(831)436-01-60; факс: +7(831)436-05-91; e-mail: afanassy@mail.ru

Еще в 1934 г. американскими исследователями Кларками [1] было показано, что температурная стимуляция (холодовая или тепловая) одной стороны тела или одной конечности вызывает изменение кровотока в симметричных областях, а также в других конечностях. Г.А. Орлов [2], изучая проблему влияния переохлаждения на организм, с помощью ИК-тепловидения показал, при каких температурах и времени охлаждения начинается повреждение сосудов и нервов, регулирующих их тонус. В многочисленных работах описаны феномены симметричных физиологических реакций в самых разнообразных, преимущественно патологических контекстах, связанных с односторонними повреждениями [3]. Пространственное рассогласование между зоной воздействия и зоной реакции свидетельствует об участии в процессе системных нейробиологических механизмов управления и привлекает внимание как физиологов, так и клиницистов. Наша работа посвящена разработке экспериментальной модели, позволяющей изучать пространственно-временную динамику симметричных температурных реакций у человека методом ИК-тепловидения. На 8 здоровых испытуемых 16-17 лет с помощью тепловизора «Агета-470» (Швеция) исследовали распределение температур на коже тыльной поверхности кистей рук. Регистрировали исходный термопаттерн (до 20 мин.) и динамику его изменения после холодной пробы (ХП): погружения одной кисти в воду температурой 15 °С на 1 мин. с продолжением регистрации ИК-излучения от не стимулируемой руки и с последующим наблюдением за процессом восстановления на охлажденной и за динамикой температуры в симметричных зонах неохлажденной конечности (до 13 мин.). На этапе подбора параметров ХП, стабильно провоцирующей формирование симметричных терморреакций, использовали различные температуры (22, 20, 15, 10 °С) и время экспозиции (30 с, 1, 2 и 3 мин.). Во всех случаях применения разработанной пробы были зарегистрированы симметричные терморреакции на не охлаждавшейся конечности, которая у разных испытуемых начиналась в разное время: от 7 до 12,5 мин. (в среднем 8,5 мин.). Температура в проекции ногтевой фаланги (в области максимальной концентрации артерио-венозных шунтов) в ответ на ХП снижалась меньше, чем на основной (7,92±0,30°С и 9,73±0,45 °С, соответственно). К концу регистрации за счет более раннего (на 2-3 мин.) и быстрого прироста ИК-излучения зона в проекции ногтевой фаланги «нагревалась» на 1-4 °С выше, чем на основной фаланге. Непосредственно перед ХП у испытуемых, которых заранее информировали о ходе эксперимента, отмечено кратковременное предстимульное повышение температуры в пределах 0,3-0,7 °С на пальцах обеих кистей, чего не наблюдалось у тех, кому ХП проводили без предварительного предупреждения. Пространственно-временная динамика симметричных терморреакций в контексте контролируемых температурных нагрузок у здоровых испытуемых может являться источником диагностически значимой информации о характере повреждений периферических нервов в клинике, позволяя по ИК-данным оценивать нарушения кровотока и механизмов его регуляции.

1. Clark E.R., Clark E.L. / Am. J. Anat. – 54:229, 1934.

2. Орлов Г.А. Хроническое поражение холодом. – М.: Медицина, 1978.

3. Колесов С.Н. / Матер. конф. нейрохирургов. Иваново. 2001. С.25-26.

**ИНТЕРНАЛИЗАЦИЯ КОНЪЮГИРОВАННОГО
С ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТОЙ ХЛОРИНА Е6 В ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ
ПО ФОЛАТНОМУ РЕЦЕПТОРУ КЛЕТКИ
И ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЕМЫЕ КОНЪЮГАТОМ ПОВРЕЖДЕНИЯ КЛЕТОК**

**Internalization of chlorine e6-folic acid conjugate in folate receptor positive cells HeLa
and photosensitized cell damages**

Воробей А.В., Лапина В.А.

Институт физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси,
220072, Беларусь, Минск, пр. Независимости, 68.
Тел.: +375 (017)284-28-69; факс: +375 (017)284-08-79;
e-mail: avorobey@tut.by

Увеличение селективности накопления фотосенсибилизаторов в опухолевых клетках является одним из основных путей повышения эффективности метода фотодинамической терапии (ФДТ) опухолей. Селективность может быть достигнута путем конъюгирования фотосенсибилизаторов со специфичными к клеточной поверхности лигандами. В качестве такого лиганда широко используется фолиевая кислота (ФК) [1]. Пролиферативно-активные клетки экспрессируют на своей поверхности рецепторы к ФК, имеющие высокое сродство к лиганду, и способны интернализировать различные конъюгаты ФК путем рецептор-опосредуемого эндоцитоза. Мы исследовали интернализацию полученного ранее [2] конъюгата ФК с фотосенсибилизатором - диметиловым эфиром хлорина е6 (КонФК-Хл) в экспрессирующие фолатный рецептор клетки HeLa и изучили фотосенсибилизируемые интернализированным конъюгатом повреждения клеточных компонентов.

Клетки культивировали в питательной среде 199 с низким содержанием ФК ($2 \cdot 10^{-8}$ моль/л) и использовали в логарифмической фазе роста. Интернализацию КонФК-Хл клетками определяли по интенсивности флуоресценции Хл е6 в клеточных лизатах после инкубации клеток в монослое с конъюгатом ($2 \cdot 10^{-7}$ моль/л) в течение 2-х часов, отмывки их буферным раствором и лизиса тритоном Х100. Для фотосенсибилизируемого воздействия клетки после инкубации с конъюгатом переводили в суспензию в среде 199 и освещали светом диапроектора (лампа КГМ, 150 Вт/м^2) в течение 15 мин.

При введении в культуральную среду КонФК-Хл происходит накопление его в клетках (до $\sim 2 \cdot 10^7$ молекул/кл). Блокирование данного процесса экзогенной ФК ($5 \cdot 10^{-4}$ моль/л) свидетельствует об участии в этом процессе экспрессируемых клетками фолатных рецепторов и интернализации конъюгата путем рецепторно-опосредуемого эндоцитоза. Исследования, проведенные на не экспрессирующих фолатный рецептор лимфоцитах не выявили связывания КонФК-Хл с клетками. С использованием физико-химических методов установлено, что интернализированный в клетки HeLa конъюгат эффективно сенсбилизирует фотоокисление мембранных липидов и клеточных белков, что приводит к деполаризации митохондрий и индукции апоптотической и некротической гибели клеток.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования конъюгатов фолиевой кислоты с хлорином е6 для разработки метода селективной ФДТ опухолей.

1. Paulos C.M., Reddy J.A. et al. / Mol. Pharmacol. 2004. V.66. P.1406-1414.

2. Воробей А.В., Павич Т.А., Арабей С.М. / Сб. статей Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем. Минск. Изд. БГУ. 2008. Ч.1. С.39-41.

**ДЕЙСТВИЕ ИОНОВ Zn^{2+} И Ni^{2+} НА РАЗВИТИЕ ФОТОСИСТЕМЫ II (ФС II)
В ПРОЦЕССЕ ЗЕЛЕНЕНИЯ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ****Ганиева Р.А., Байрамова С.А., Джафарова Д.Р., Гасанов Р.А.**

Институт Ботаники Национальной Академии Наук,
Азербайджан, Баку, Патамдартское шоссе, 40, AZ 1073, Тел.: +994 125398608;
E-mail: gani@azevrotel.com
Бакинский Государственный Университет, кафедра «Биофизики и молекулярной
биологии», Азербайджан, Баку, ул. З. Халилов, 23, AZ 1148, Тел.: +994 125100827;
E-mail: ra38hasan@yahoo.com

В работе определены наиболее чувствительные к действию ионов Ni^{2+} и Zn^{2+} (1) этапы формирования тилакоидной мембраны хлоропластов в листьях зеленеющих проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Исследование индукционной картины мсек замедленной флуоресценции (мсек ЗФ) хлорофилла а, отражающей состояние донорной и акцепторной стороны ФС II показали, что на первом этапе зеленения (от 0 до 4 часов) характеризующемся лаг-фазой в биосинтезе хлорофилла и образованием первичных тилакоидов (2) наблюдается наибольшая чувствительность быстрой фазы (б. ф.) к действию тяжелых металлов. Так ионы Ni^{2+} подавляет интенсивность этой фазы на 60%, а Zn^{2+} на 40% по сравнению с контролем. На индукционной кривой мсек ЗФ полностью отсутствует медленная фаза (м. ф.), что указывает на отсутствие или неактивность партнеров по рекомбинации (вероятно Mn_4O_5Ca -кластера или Y_2) возбужденного хлорофилла а. Таким образом на раннем этапе зеленения ионы как Ni^{2+} , так и Zn^{2+} задерживают формирование марганцевого кластера и синтез белков реакционного центра ФС II. Следующий этап зеленения (от 6 до 12ч) проростков почти не изменяет характера индукционной кривой мсек ЗФ, но интенсивность ее фаз в 2 раза меньше контроля. Однако наблюдается появление м. ф., развитие которой значительно сильнее блокируется ионами Ni^{2+} . На этапе зеленения (от 10-12ч до 24ч), который связан с полной сборкой светособирающего комплекса с последующим процессом гранообразования, действие металлов проявляется в возрастании интенсивности б. ф. и м. ф., при этом м. ф. при действии ионов Ni^{2+} существенно превосходит контроль. Через 48 часов зеленения ионы Ni^{2+} стимулируют развитие м. ф. мсек ЗФ. Величина отношения м. ф. к стационарному уровню мсек ЗФ при наличии в среде ионов Ni^{2+} равна 5, тогда как в контроле это отношение равно 2. Интенсивность б. ф. и ее отношение к стационарному уровню не отличается от контроля. Напротив, ионы Zn^{2+} вызывают резкое подавление б. ф. и мало влияют на характер м. ф. Таким образом, присутствие в среде ионов Zn^{2+} и Ni^{2+} нарушают последовательность формирования субъединиц ФС II, а действие ионов Zn^{2+} в целом подавляет развитие ФС II.

1. Arif Gaziye, Samira Aliyeva, Inna Kurbanova, Rena Ganiyeva, Sona Bayramova and Ralphreed Gasanov./ Metallomics, v. 3, N12, p. 1255-1386, 2011.

2. Р.А. Ганиева, С.А. Байрамова, З.Ш. Алиев, Р.А. Гасанов./ Физиология и биохимия культурных растений, т. 20, №6, с. 544-552, 1988.

**ИЗМЕНЕНИЕ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ
У МЫШЕЙ С СОЛИДНОЙ ФОРМОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА
ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ КРАЙНЕ ВЫСОКИХ ЧАСТОТ**

Changes in fatty acid composition of organs and tissues in mice with solid Ehrlich carcinoma after exposure to extremely high-frequency electromagnetic radiation

Гапеев А.Б.¹, Кулагина Т.П.¹, Ариповский А.В.²

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

2 – ФГУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии,
142279, Московская обл., г. Оболensk

Тел.: +7(4967)739412; факс: +7(4967)330509; e-mail: a_b_g@mail.ru, tpkulagina@rambler.ru

Имеющиеся литературные данные свидетельствуют о том, что электромагнитное излучение крайне высоких частот (ЭМИ КВЧ) способно подавлять опухолевый рост, а также обеспечивать гемопротекторный эффект при сочетании с химио- и лучевой терапией и продлевать сроки жизни животных-опухоленосителей [1]. Однако механизмы противоопухолевого действия ЭМИ КВЧ остаются во многом неясными.

Хорошо известно противоопухолевое действие некоторых омега-3 и омега-6 жирных кислот (ЖК) при их добавлении в культуральную среду опухолевых клеток и при введении в диету животных-опухоленосителей и человека [2]. Полученные нами экспериментальные факты дают возможность предположить, что одним из механизмов противоопухолевого действия ЭМИ КВЧ может быть изменение состава ЖК в различных тканях животных-опухоленосителей под действием излучения. Для проверки этой гипотезы в настоящей работе исследованы изменения ЖК состава в клетках тимуса, печени, плазме крови, мышечной ткани и опухолевой ткани животных-опухоленосителей при действии ЭМИ КВЧ с оптимальными параметрами (42.2 ГГц, 100 мкВт/см², 20 мин/сут в течение 5 последовательных суток после инокуляции опухоли) с использованием модели солидной формы карциномы Эрлиха.

Показано, что опухолевая ткань отличается от тканей интактных животных повышенным содержанием мононенасыщенных ЖК (МНЖК). Опухолевый рост вызывал значительное увеличение содержания МНЖК (на 25-63% по сравнению с интактными животными) в основном за счет увеличения содержания олеиновой кислоты во всех исследованных тканях, а также снижение содержания полиненасыщенных ЖК (ПНЖК) на 20-33% по сравнению с тканями интактных животных. Облучение животных-опухоленосителей ЭМИ КВЧ замедляло скорость роста опухолевого узла, при этом в ткани опухоли снижались содержание МНЖК и увеличивалось содержание ПНЖК. В клетках тимуса измененное опухолевым ростом содержание большинства ЖК восстанавливалось до состояния, характерного для интактных мышей. В других исследованных органах и тканях мышей-опухоленосителей облучение ЭМИ КВЧ не вызывало значимых изменений содержания большинства ЖК.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что замедление опухолевого роста под действием ЭМИ КВЧ связано с восстановлением профиля ЖК в тимусе и модификацией ЖК состава опухолевой ткани.

1. Гапеев А.Б., Швед Д.М., Михайлик Е.Н. и др. // Биофизика, 2009. Т.54. С.1128-1136.

2. Wang D., DuBois R.N. / Nat. Rev. Cancer, 2010. V.10. P.181-193.

ЛАЗЕРНАЯ МИКРОПОРАЦИЯ КОЖИ КАК МЕТОД УЛУЧШЕНИЯ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ АГЕНТОВ**Laser microporation of skin as a method for improvement of agent target delivery****Генина Э.А.¹, Долотов Л.Е.¹, Башкатов А.Н.¹, Тучин В.В.^{1,2,3}**

1 – Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского,
410012, Саратов, ул. Астраханская, 83;

2 – Институт проблем точной механики и управления РАН,
410028, Саратов, ул. Рабочая, 24;

3 – Университет Оулу, P.O. Box 4500, Oulu FIN-90014, Финляндия
Тел. +7(8452)21-07-16; факс: +7(8452)27-85-29; e-mail: eagenina@yandex.ru

Основным преимуществом транскутанного введения препаратов (включая наночастицы) является то, что доставка осуществляется непосредственно в патологически измененные области биоткани [1]. Создание искусственных каналов в эпидермисе с помощью микроабляции позволяет преодолеть защитный барьер кожи и обеспечивает более глубокую и адресную доставку иммерсионных агентов, лекарственных препаратов или наночастиц [2-4]. Нами разрабатывается метод увеличения проницаемости кожи за счет фракционной лазерной микроабляции поверхностных слоев кожи с помощью Er:YAG лазера [5]. В данной работе мы представляем результаты доставки полиэтиленгликоля (ПЭГ) и пегелированных наночастиц диоксида титана в дерму.

Фракционная микроабляция осуществлялась с помощью модифицированной лазерной установки **StarLux/Lux2940 (Palomar Medical Technologies Inc., США)**. **Параметры воздействия:** длина волны 2940 нм, энергия импульса 1.0-3.0 Дж, длительность импульса 20 мс, режимы микропорации и абляции. Используемые агенты: ПЭГ с молекулярным весом 300 и суспензия нанопорошка TiO₂ с размерами наночастиц менее 100 нм в ПЭГ. Концентрация наночастиц в суспензии составляла 0.5 г/мл. Исследования проводились на коже лабораторных крыс *in vitro* и *in vivo* и человека *in vivo*. Для количественного анализа результатов обработки участков кожи использовались оптическая когерентная томография (ОКТ) и клиническая фотография.

В результате *in vitro* и *in vivo* исследований показано, что наночастицы и иммерсионный агент могут быть доставлены в эпидермис или дерму на различные глубины в зависимости от режимов фракционного Er:YAG лазера. **Микропорация кожи позволила улучшить ее иммерсионное просветление и повысить контраст наблюдаемых подкожных слоев на ОКТ изображениях.**

Лазерная микропорация имеет значительный потенциал за счет скорости, эффективности и возможности управления транскутанной доставкой агентов.

1. Cevc G., Vierl U. / Journal of Controlled Release, 2010, Vol.141, P.277-299.

2. Tuchin V.V., Altshuler G.B., Gavrilova A.A. et al. / Lasers Surg. Med., 2006, Vol.38, P.824-836.

3. Genina E.A., Bashkatov A.N., Tuchin V.V. et al. / Journal of Innovative Optical Health Sciences, 2009, Vol. 2(3), P. 279-287.

4. Altshuler G.B., Yaroslavsky I.V., Tabatadze D. et al. / Lasers Surg. Med., 2010, Vol.42, Suppl.22, P.4.

5. Генина Э.А., Долотов Л.Е., Башкатов А.Н. и др. / Квантовая электроника, 2011, Т.41(5), С.396-401.

**ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО СЛОЖНОМОДУЛИРОВАННОГО
ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ
ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ**

**Effect of low intense modulated electromagnetic radiation on the autonomic nervous
system function of laboratory animals**

Глухова О.В., Мишагина М.Н., Баркин В.В., Девяткова Н.С., Лобкаева Е.П.

ФГУП Российский Федеральный Ядерный Центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики,
607188, г.Саров, Нижегородская обл., пр.Мира 37
Тел. +7(83130) 2 25 99, факс +7(83130) 2 53 00, e-mail: nata@bfr.vniief.ru

Исследовали влияние низкоинтенсивного сложномодулированного электромагнитного излучения (ЭМИ) на функционирование вегетативной нервной системы крыс с различным исходным вегетативным статусом, находившихся на различной удалённости от излучателя.

Воздействие оказывали ЭМИ частотой 1 ГГц. Животных располагали на расстоянии 2,5, 5,8, 15,0 м, при этом плотность потока энергии (ППЭ) составляла 85,0, 19,0 и 2,8 мкВт/см². Оценку функционального состояния вегетативной нервной системы животных осуществляли по показателям вариабельности сердечного ритма (ВСР) с использованием метода вариационной пульсометрии Баевского.

Наблюдали различную направленность реакции на действие сложномодулированного ЭМИ с ППЭ 2,8, 19 и 85 мкВт/см² у животных с различным исходным вегетативным статусом.

У животных – нормотоников ЭМИ удалённостью 5,8 м от животных вызывало проявление реакции компенсации со стороны парасимпатического отдела, а ЭМИ удалённостью 15 м вызывало активацию симпатического отдела. У животных с **моделированной симпатотонией** после воздействия сложномодулированного ЭМИ на различной удалённости от излучателя произошла активация симпатического отдела и перенапряжение регуляторных систем организма, рассматриваемая как неспецифический компонент адаптационной реакции на воздействие. У животных с моделированным состоянием ваготонии основная тенденция заключалась в снижении активности парасимпатического отдела вегетативной нервной системы в течение периода наблюдения после действия ЭМИ, что является неблагоприятным прогностическим признаком. Продемонстрирована немонотонность проявления биологического эффекта действия сложномодулированного ЭМИ на животных, расположенных на различной удалённости от излучателя.

**ИЗМЕНЕНИЯ В БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ В РАСТЕНИЯХ ПШЕНИЦЫ
ПОСЛЕ ИХ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ ОБРАБОТКИ *TRICODERMA*****Changes of bioenergetic processes in wheat plants after their pre-treatment
by *Tricoderma*****Голованова Т.И., Валиулина А.Ф., Долинская Е.В.**Сибирский федеральный университет, институт фундаментальной биологии
и биотехнологии,

660041, Красноярск, проспект Свободный, 79

Тел.: +7 (391) 249-57-56; e-mail: tigolovanova@mail.ru

Микроорганизмы – антагонисты патогенов оказывают существенное влияние на ростовые процессы растений. Для выяснения роли грибов – антагонистов в данном процессе необходимо выявить их влияние на первичные процессы фотосинтеза. В настоящее время для оценки состояния и эффективности функционирования фотосинтетического аппарата используются параметры флуоресценции. В данной работе о влиянии грибов рода *Trichoderma* на фотосинтетический аппарат растений судили по термоиндуцированным изменениям нулевого уровня флуоресценции (ТИНУФ) хлорофилла. Рассчитывали переменную флуоресценцию, которая характеризует эффективность захвата энергии возбуждения открытыми реакционными центрами ФС II, термоустойчивость исследуемых растений и соотношение гранальной и агранальной структуры хлоропластов (R_2). Измерения проводили на индуктофлуориметре. Для измерения скорости фотосинтетического электронного транспорта и кинетических параметров использовали флуориметр junior – PAM в режиме регистрации световой кривой фотосинтеза и индукционной кривой. Содержание зеленых пигментов определяли спектрофотометрическим методом на SPECOL – 1300. В качестве объекта исследования использовали растения пшеницы, различающиеся по продуктивности, выращенные как в естественных условиях, так и в условиях светокультуры.

Исходя из результатов термоиндуцированных изменений нулевого уровня флуоресценции хлорофилла растений, можно сделать предположение, что растения обработанные спорами гриба *Trichoderma asperellum*, обладают большей термоустойчивостью. У данных растений, независимо от условий их выращивания, преобладает гранальная организация хлоропластов в сравнении с контрольными растениями. Результаты исследований показали высокие значения переменной флуоресценции в обработанных триходермой растениях, это говорит о том, что эффективность использования световой энергии ФС II у данных растений выше. Данный факт подтверждается и высоким содержанием хлорофилла *b* у опытных растений.

Характеристика кинетических параметров индукционной кривой флуоресценции показала, что грибы *Trichoderma asperellum*, не изменяя скорости фотосинтетического электронного транспорта, значения квантового выхода, фотохимического компонента тушения, снижают нефотохимический компонент тушения. Следовательно, у опытных растений происходила более интенсивная зарядка мембраны, ускорялся отток H^+ -градиента на синтез АТФ, а затем на темновые реакции, а это способствовало, как было показано в данной работе, накоплению основных метаболитов.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ СВОЙСТВА БЕЛКА KFP С ЗАМЕНОЙ G148N**Physico-chemical and fluorescent properties of KFP protein with G148N mutation****Горященко А.С.¹, Хренова М.Г.², Ивашина Т.В.³, Савицкий А.П.¹***1 - Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, 119071, Москва, Ленинский просп. 33 корп.2**2 - Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова,
119991, Москва, Ленинские горы, дом 1, строение 3, ГСП-1**3 - Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН,
142290, Московская область, г. Пушкино, пр-кт Науки, 5
Тел.: +7(495)954-87-25; e-mail: ASGoryash@yandex.ru*

Фотопереключаемые белки, меняющие свои свойства при облучении светом определенной длины волны, используются в новейших методах микроскопии сверхвысокого разрешения, а также как тушители в биосенсорах. Представителем семейства фотопереключаемых белков является белок KFP. При этом согласно работе [1] мутация Gly148Asn приводит к исчезновению флуоресценции белка. Данная работа посвящена исследованию физико-химических и спектральных свойств мутанта KFP-G148N. **В результате экспериментов по динамическому светорассеянию был вычислен гидродинамический радиус белка KFP-G148N, равный 3,5 нм, что соответствует молекулярной массе 61 кДа. Таким образом, поскольку молекулярная масса KFP-G148N составляет 25,9 кДа, выделенный образец белка представляет собой димер. Изменение олигомерного состояния по сравнению с KFP, являющимся тетрамером, может быть объяснено тем, что согласно результатам моделирования методом молекулярного докинга остаток 148 попадает в область интерфейса между димерами, препятствуя образованию тетрамера. Максимум спектра поглощения хромопротеина KFP-G148N совпадает с максимумом поглощения KFP. В то же время в спектре поглощения KFP-G148N наблюдается большее по сравнению с KFP поглощение в области от 400 до 540 нм. В спектрах возбуждения флуоресценции наблюдался сдвиг положения максимума возбуждения KFP-G148N ($\lambda_{max} = 566$ nm) в более коротковолновую область по сравнению с KFP ($\lambda_{max} = 571$ nm). В спектрах эмиссии флуоресценции, как и для спектров возбуждения флуоресценции, наблюдалось смещение положения максимума эмиссии KFP-G148N ($\lambda_{max} = 591$ nm) в более коротковолновую область по сравнению с KFP ($\lambda_{max} = 596$ nm). В работе [2] показано, что при нейтральных значениях pH KFP практически не флуоресцирует, тогда как при pH выше 9 наблюдается существенное увеличение интенсивности флуоресценции. Что касается белка KFP-G148N, то нами продемонстрировано, что при движении в щелочную область pH роста флуоресценции не наблюдается.**

Работа выполнена при поддержке программы Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология»

[1] D. M. Chudakov, A.V. Feofanov, N.N. Mudrik, S.Lukyaynov, and K.A. Lukyaynov, "Chromophore Environment Provides Clue to "Kindling Fluorescent Protein" Riddle", J. Biol. Chem., 278 (9), 7215-7219 (2003).

[2] A.L. Rusanov, V.A. Mironov, A.S. Goryashenko, B.L. Grigorenko, A.V. Nemukhin, and A.P. Savitsky, "Conformational Partitioning in pH-Induced Fluorescence of the Kindling Fluorescent Protein (KFP)", J. Phys. Chem. B, 115(29), 9195-201 (2011).

**ИЗУЧЕНИЕ ГЕМОСТАЗА ПЕРВИЧНЫХ БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ
РАЗЛИЧНЫМИ ЛАБОРАТОРНЫМИ МЕТОДАМИ****ASSESSMENT OF HAEMOSTASIS IN THE PRIMARY MULTIPLE MYELOMA PATIENTS USING
DIFFERENT LABORATORY METHODS**

**Грачева М.А.^{1,2}, Урнова Е. С.³, Менделеева Л. П.³, Синауридзе Е. И.³, Баландина А.
Н.^{1,2}, Липец Е. Н.^{1,4}, Грибкова И. В.³, Васильев С. А.³, Паровичникова Е. Н.³,
Савченко В. Г.³, Атауллаханов Ф. И.^{1,2,3,4,5}**

- 1- ФНКЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии,
117198, г. Москва, ул. Саморы Машела, д. 1
- 2- Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН,
119991, Москва, Ленинский просп., 38А, к.1;
- 3- Гематологический научный центр МЗСР РФ, 125167, Москва,
Новый Зыковский проезд, 4;
- 4- ООО «ГемаКор», 125319, Москва, 4-я улица 8 Марта, д.3;
- 5- МГУ им М.В. Ломоносова, 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы,
телефон:(495) 9382533 факс:(495) 9382533 gerus.marina@gmail.com

Множественная миелома (ММ) - онкологическое заболевание кроветворной системы, при котором у пациентов повышается вероятность образования тромбозов. Для их предотвращения крайне важным является своевременная диагностика нарушений системы свертывания крови и корректировка соответствующей терапии. Тромбодинамика - новый метод оценки состояния системы гемостаза. Метод характеризуется рядом параметров, важнейшими из которых являются стационарная скорость роста сгустка (V_{st}) и время полужаростания экспериментального объема плазмы (St) - оценивает образования спонтанных сгустков, которые в норме отсутствуют. Тромбодинамика чувствительна как гипо- так и к гиперкоагуляционным проявлениям, что делает этот тест предельно важным при оценке состояния больных с нарушениями гемостаза. Целью данного исследования было сравнить новый тест Тромбодинамика и общеприменимые лабораторные тесты при исследовании гемостаза первичных пациентов с ММ.

В исследование включены 18 первичных пациентов с ММ. Состояние гемостаза оценивали методами: активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновый индекс по Квику (ПИ), эндогенный тромбиновый потенциал (ЭТП), Тромбодинамика, новый метод, основанный на пространственной регистрации роста фибринового сгустка.

ПИ был в пределах нормы у всех пациентов ($97 \pm 17\%$). Тромбодинамика показала гиперкоагуляционное состояние у 10 пациентов (56%), V_{st} была 47 ± 15 мкм/мин (норма 24 ± 3 мкм/мин), St было 22 ± 8 мин и только у одного пациента не было спонтанных сгустков. При этом тест ЭТП показал гиперкоагуляцию в 50% случаев – у 9 пациентов (площадь под кривой была 1500 ± 200 нМ*мин, в то время как в норме 1000 ± 200 нМ*мин), АЧТВ было укорочено у трех пациентов – 15% (27 ± 2 сек против 33 ± 3 сек в норме). Пациенты с нормальной и гипокоагуляцией по тесту Тромбодинамика имели те же показатели в тесте ЭТП (ЭТП= 730 ± 240 нМ*мин), но АЧТВ при этом показало гиперкоагуляцию в двух случаях (11%) – 26 сек и 28 сек. Более чем у трети пациентов с первичной ММ были обнаружены гиперкоагуляционные изменения по тестам Тромбодинамика и ЭТП. Стандартные АЧТВ и ПИ регистрировали гиперкоагуляцию в значительно меньшем числе случаев, что свидетельствует о большей эффективности новых методов оценки гемостаза.

Работа частично поддержана грантами РФФИ 11-04-00303, 11-04-12080, 12-04-00652-а, 12-04-00438-а, программами фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине», «Интегративная физиология», «Молекулярные механизмы физиологических функций».

**МЕХАНИЗМЫ ГЕНОТОСИЧНОСТИ НОВОГО АЦИДОКОМПЛЕКСА ПАЛЛАДИЯ (II)
- МОРФОЗОЛ****Genotoxic mechanisms of the new palladium (II) acidocomplex - Morphozol****Грехова¹ А.К., Горбачева¹ Л.Б., Иванова² Н.А., Ефименко² И.А., Осипов³ А.Н.**

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

2 - Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН,
119991, Москва, ГСП-1 Ленинский проспект, 31.

3 - Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России
123182, Москва, ул. Живописная, 46.

Тел.: +7 (495) 939-72-54, факс (499)137- 41-01; e-mail: Anya-prelest@mail.ru

В институте общей и неорганической химии имени Н.С. Курнакова РАН был синтезирован новый ацидокомплекс палладия II $[C_5H_7NO]_2[PdCl_4]$ – морфозол. В опытах с прививаемыми опухолями мышей была выявлена высокая противоопухолевая активность морфозола. Целью данной работы является исследования генотоксичности морфозола в лимфоцитах крови здоровых доноров. Выбор лимфоцитов крови в качестве объекта исследований обусловлен тем, что эти клетки очень чувствительны к генотоксикантам и могут быть использованы в качестве модели оценки общей токсичности фармакологических препаратов. Для сравнения исследовали генотоксичность коммерческого препарата «Цисплатин-Тева» (TevaPharmaceuticalindustries LTD). Для исследования использовали гепаринизированную кровь пяти здоровых женщин-доноров в возрасте 23-25 лет. Выделение лимфоцитов из крови проводили путем центрифугирования в градиенте плотности фикол-верографина (Histopaque, "Sigma"). Суспензию лимфоцитов инкубировали с различными концентрациями противоопухолевых препаратов при 37°C в течение 60 мин. Для изучения сшивок ДНК-ДНК, индуцированных морфозолом и цисплатином, использовали метод электрофореза единичных клеток в щелочных условиях (метод ДНК-комет) с дополнительной предобработкой клеток перекисью водорода и метод детергентного осаждения. Для оценки генерации активных форм кислорода (АФК) использовали краситель 5(6)-хлорометил-2',7'-дихлордигидрофлуоресцеин диацетат (Invitrogen, США). Проведенные исследования свидетельствуют об общности механизмов генотоксического действия морфозола и цисплатина на лимфоциты крови здоровых доноров *in vitro*. Однако морфозол характеризуется значительно более высокой реакционной способностью и генотоксичностью по сравнению с цисплатином. Такое заключение сделано на основе результатов сравнительного изучения процесса образования сшивок ДНК-ДНК и ДНК-белок и индукции оксидативного стресса под действием морфозола и цисплатина. Линейное снижение доли ДНК в хвосте комет наблюдается при снижении дозы морфозола до 22 мкмоль/л, а для цисплатина – до 33 мкмоль/л. Морфозол снижает долю ДНК в хвосте комет в области «плато» при концентрации 22-33 мкмоль/л ~ в 6 раз, а цисплатин при концентрации 33-84 мкмоль/л – только в 2 раза. Морфозол также как и цисплатин индуцирует образование сшивок ДНК-белок и генерирует активные формы кислорода. Однако увеличение доли сшивок ДНК-белок при действии морфозола в концентрации 11-22 мкмоль/л превосходит эффект увеличения доли сшивок ДНК-белок при действии цисплатина в концентрации 334 мкмоль/л. По показателю «индукция АФК» морфозол эффективнее цисплатина примерно в 9 раз.

АКТИВНОСТЬ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ В ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА**The activity of myeloperoxidase in blood plasma of patients with ischemic heart disease**

Григорьева Д.В.¹, Горудко И.В.¹, Соколов А.В.², Костевич В.А.², Бичан О.Д.¹, Буко И.В.³, Полонецкий Л.З.³, Панасенко О.М.⁴, Черенкевич С.Н.¹

1 – Белорусский государственный университет, кафедра биофизики,
220030, Минск, просп. Независимости, 4;

2 – Республиканский научно-практический центр «Кардиология»,
Минск, ул. Фабрициуса, 13;

3 – ФГБУН «НИИ экспериментальной медицины» СЗО РАМН,
197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12;

4 – ФГБУН «НИИ физико-химической медицины» ФМБА России,
119435, Москва, ул. Малая Пироговская, 1а.

Тел.: (375-17) 209-5437; факс: (375-17) 209-5445; e-mail: irinagorudko@rambler.ru.

Миелопероксидаза (МПО) – основной гемсодержащий гликопротеид азурофильных гранул нейтрофилов, секретируемый клетками в очагах воспаления. С участием H_2O_2 фермент катализирует реакции образования гипогалоидных кислот – сильных окислителей. Концентрация МПО, как правило, повышается в крови при атеросклерозе, сахарном диабете, онкологических, нейродегенеративных и других заболеваниях. Известно также, что МПО является независимым маркером развития сердечно-сосудистых заболеваний, поэтому актуальной проблемой является разработка экспресс-методов определения активности и концентрации МПО в крови. С использованием разработанного ранее (Биоорг. химия, 2009. Т. 35. С. 628) спектрофотометрического метода в данной работе впервые исследована пероксидазная активность МПО (PA_{MPO}) в плазме крови пациентов со стабильной стенокардией и больных с острыми коронарными синдромами (ОКС).

В плазме крови больных с ОКС было выявлено достоверное ($p < 0,05$) увеличение PA_{MPO} ($0,13 \pm 0,01$ усл. ед.) по сравнению с группой больных со стабильной стенокардией ($0,08 \pm 0,01$ усл. ед.) и контрольной группой ($0,03 \pm 0,01$ усл. ед.). Также было установлено, что PA_{MPO} в плазме крови больных со стабильной стенокардией достоверно ($p < 0,05$) выше, чем в контрольной группе. Выявлено, что концентрация МПО в плазме крови пациентов как с ОКС, так и со стабильной стенокардией достоверно выше, чем данный показатель в контрольной группе.

При исследовании PA_{MPO} у пациентов с ОКС в процессе лечения на 3-и сутки наблюдалось достоверное снижение активности МПО в плазме крови как после проведения тромболитической терапии, так и после применения чрескожного коронарного вмешательства. Важно при этом отметить, что у пациентов с ОКС было выявлено достоверное ($p < 0,05$) снижение концентрации церулоплазмينا (ЦП) в сыворотке крови ($26,4 \pm 1,6$ мг %), естественного регулятора активности МПО, по сравнению с группой лиц со стабильной стенокардией ($35,4 \pm 2,5$ мг %), а в процессе лечения концентрация ЦП в сыворотке крови больных с ОКС увеличивалась.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что определение пероксидазной активности МПО в плазме крови является перспективным для прогнозирования риска развития осложнений у больных ИБС, а также для мониторинга эффективности проводимой терапии.

Работа поддержана РФФИ (12-04-90003) и БРФФИ (Б12Р-036).

**КРОСС-ПОЛЯРИЗАЦИОННАЯ ОПТИЧЕСКАЯ КОГЕРЕНТНАЯ ТОМОГРАФИЯ
В ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ КОЛЛАГЕНА АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОЙ БЛЯШКИ****Cross-polarization optical coherence tomography in the assessment of atherosclerotic
plaque collagen****Губарькова Е.В.¹, Гладкова Н.Д.¹, Шарабрин Е.Г.¹, Балалаева И.В.², Карабут М.М.^{1,2},
Киселева Е.Б.¹**

¹ – Нижегородская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития
России, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

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

Тел.: +7 (831) 439-09-43; факс: +7 (831) 439-09-43; e-mail: kgybarkova@mail.ru

Коллаген играет ключевую роль в определении стабильности атеросклеротической бляшки (АБ). Пространственная структура волокон коллагена позволяет им не только обратно рассеивать свет, но также изменять его поляризацию при прохождении через ткань (деполяризовать свет). Воспаление, наблюдающееся в стенке артериального сосуда при атеросклерозе, приводит к дезорганизации коллагена, поэтому оценка деполяризующих свойств может быть полезной для характеристики «уязвимости» АБ.

Цель исследования состояла в разработке прижизненных оптических критериев структуры стенки артериальных сосудов для диагностики АБ на основе метода кросс-поляризационной оптической когерентной томографии (КП ОКТ). В работе для оценки состояния коллагена «уязвимых» АБ впервые был использован КП ОКТ томограф «ОКТ 1300-У», разработанный в ИПФ РАН (г. Нижний Новгород) [4]. Прижизненное высокоразрешающее (10-15 мкм) изображение является результатом одновременного прямого и ортогонального рассеяния в ткани зондирующего инфракрасного излучения. Исследования проведены на 25 *post mortem* образцах артериальных сосудов пациентов, умерших от острой коронарной недостаточности. В качестве контрольного метода использованы гистологические окраски: гематоксилином-эозином и пикросириумом красным (для исследования коллагеновых волокон в поляризованном свете).

Продемонстрировано, что КП ОКТ способна отличать область здорового сосуда от АБ, а в ней дифференцировать компоненты – липидное ядро, фиброзную капсулу (ФК), участки кальциноза; различать тип коллагена в капсуле АБ по интенсивности ОКТ сигнала в ортогональном изображении. Применение численной оценки ОКТ сигнала в ортогональной поляризации показало, что метод дает возможность по глубине сигнала с большой точностью измерить толщину капсулы АБ и с высокой достоверностью ($p < 0.001$) обнаруживать бляшки с толщиной ФК менее 65 мкм (критерий «уязвимости» по *R. Virmani*). По совокупности оптических признаков КП ОКТ способна диагностировать стадию АБ и все признаки, указывающие на её «уязвимость».

Учитывая потенциал КП ОКТ для внутрисосудистого использования, мы рассчитываем, что эта технология, имеющая высокое пространственное разрешение и характеризующая поляризационные свойства ткани, станет неocenимой для прижизненного наблюдения естественного развития АБ, а также своевременного обнаружения нестабильных бляшек и предотвращения их разрыва.

Работа поддержана Государственным контрактом Российской Федерации №14.740.11.1188, грантом РФФИ №10-02-01175.

**ОБРАЗОВАНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В ВОДЕ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ
ВИДИМОГО И ИНФРАКРАСНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ В ПОЛОСАХ ПОГЛОЩЕНИЯ
МОЛЕКУЛЯРНОГО КИСЛОРОДА**

**Generation of reactive oxygen species in water under exposure of visible or infrared
irradiation at absorption band of molecular oxygen**

Гудков С.В., Черников А.В., Брусков В.И.

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

142290, Пущино, ул. Институтская, 3

Тел.: +7(4967) 73-94-49; факс: +7(4967) 33-05-53; e-mail: S_makariy@rambler.ru

Ранее в нашем коллективе показано, что под действием температур, близких к физиологическим в воде и водных растворах происходит образование активных форм кислорода (АФК). Детально исследован физико-химический механизм этого явления. В данной работе показано, что под действием видимого и ближнего ИК излучения в воде насыщенной атмосферными газами образуются АФК. Установлено наличие кислородного эффекта. С помощью ингибиторного анализа выявлено, что пусковым этапом образования АФК является переход кислорода из триплетного в синглетное состояние. Синглетный кислород восстанавливается до супероксид-анион радикала, протонированная форма которого дисмутирует с образованием перекиси водорода и синглетного кислорода. С помощью лазеров и видимого света показано, что образование АФК происходит при воздействии на воду излучений с длинами волн: 560-575, 625-635, 1230-1280 нм, которые соответствуют полосам поглощения молекулярного кислорода с переходом его в синглетное состояние. Кратковременное облучение с данными длинами волн после длительного латентного периода способно вызывать длительную люминесценцию воды имеющую колебательный характер. При воздействиях излучений вне полос поглощения кислорода, либо после дезоксигенации образца люминесценции не наблюдается.

Предполагается, что в основе биологических эффектов низкоинтенсивных излучений в видимой и инфракрасной области спектра может лежать их способность к образованию перекиси водорода и супероксиданион радикала, молекул играющих сигнально-регуляторную роль в клетках млекопитающих.

Работа поддержана грантами РФФИ (10-04-00949-а; 10-04-00800-а).

**СОСТОЯНИЕ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ КРОВИ У ЛИЦ
С НАСЛЕДСТВЕННЫМ ДЕФИЦИТОМ Г-6-ФД****State lipid peroxidation of people with hereditary G-6-PD deficient blood****Гулиева Р.Т.¹, Джафаров А.И.¹, Мамедова Т.А.², Джафарова С.А.²**

1 - Институт Физики, НАН Азербайджан, Баку, пр. Г. Джавида, 33 AZ-1143;

2 - Институт гематологии и переливания крови МЗ Азербайджанской Республики,
Баку, ул. Мирали Гашкая, 87, AZ1000

Тел.: +99450 373 14 30; e-mail: ruhiyya.guliyeva@yahoo.com

Нарушения в энзимных системах эритроцитов, в том числе и при дефиците глюкоза-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФД), могут обуславливать определенные модификационные изменения структуры мембран эритроцитов. Это может способствовать интенсификации перекисного окисления липидов (ПОЛ), приводящей к усугублению патологических процессов при дефиците Г-6-ФД. Поэтому для разработки эффективной коррекции ПОЛ при дефиците Г-6-ФД необходимо знать состояние ПОЛ. Состояние ПОЛ крови оценивалось по уровню содержания гидроперекисей, МДА, по уровню антиоксидантов – ингибиторов радикальной активности крови и по активности глутатионпероксидазы (ГПО).

Исследование уровня ПОЛ проведено в эритроцитах у лиц мужского пола в возрасте от 14-18 лет с наследственным дефицитом Г-6-ФД. Установлено, что в мембранах эритроцитов при дефиците Г-6-ФД уровень гидроперекисей 1,9 раз, МДА 1,6 раза превышал таковых у доноров.

В мембранах эритроцитов лиц с наследственным дефицитом Г-6-ФД активность ГПО и величина жирорастворимых антиоксидантов крови значительно ниже по сравнению с донорской. Кроме того, эритроцитарная мембрана лиц с дефицитом Г-6-ФД характеризуется меньшей устойчивостью к действию ультрафиолетового облучения. Ультрафиолетовое облучение таких эритроцитов вызывало значительное усиление образования МДА в мембранах эритроцитов и в плазме крови.

Полученные результаты по изучению состояния ПОЛ при дефиците Г-6-ФД могут быть полезными для рекомендаций для включения антиоксидантов в схему лечения лиц с указанной энзимопатией.

**ДЕЙСТВИЕ КАТИОНОВ Mn^{2+} И Al^{3+} НА СОСТОЯНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ
МЕМБРАНЫ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ *TRITICUM AESTIVUM* L. В БИОГЕНЕЗЕ****¹Гусейнзаде А.С., ²Курбанова И.М.**

¹Государственный Аграрный Университет,
Гянджа, Азербайджан, пр. Атаюрка, 262, AZ2000,
Тел.: (+99422)565733; Факс: (+99422)562408; E-mail:info@adau.edu.az

²Институт Ботаники Национальной Академии Наук,
Азербайджан, Баку, Патамдартское шоссе, 40, AZ 1073,
Тел.: +994 125398608; E-mail:inna.kurbanova@yahoo.com

Исследован характер деструктивных процессов, лежащих в основе повреждений фотосинтетической мембраны 7-и дневных проростков пшеницы сорта «Кавказ» в условиях подкисленной среды (рН 4,5) в присутствии ионов тяжелых металлов Mn^{2+} и Al^{3+} в концентрациях $10^{-3}M$ в течении 24ч. Электрофоретический анализ исследуемых объектов показал, что фотосинтетическая мембрана растений, выращенных в нормальных условиях представлена: хлорофилл-белковым комплексом (ХБК) реакционного центра (РЦ) фотосистемы I (ФС I) - CP I а с м.м. 110 кДа, олигомером светособирающего комплекса (ССК) с м.м. 94 кДа, мономером ХБК РЦ ФС I - CP I с м.м. 68 кДа, димером ССК – 59 кДа, ХБК РЦ ФС II – CPa м.м. 43 кДа, мономером ССК с м.м. 23 кДа [1, 2]. Этот этап формирования тилакоидной мембраны характеризуется гранообразованием, происходящим к 6-12ч зеленения, оптимизацией пула хлорофилла (Хл), образованием ССК и накоплением полипептидов с м.м. 36-39 кДа [3]. Действие катионов тяжелых металлов, в условиях кислой среды, на состояние ХБК тилакоидов в биогенезе показали изменения в характере их формирования. А именно, отмечается уменьшение пигментного фонда комплексов, временное запаздывание гранообразования (неранее 12ч) и формирования ССК. 24-х часовое воздействие металлов приводит к отсутствию олигомерных, димерных, но увеличению мономерных форм РЦ и ССК [4]. Вместе с тем при окрашивании электрофореграмм на апобелок они наблюдаются во всех трех основных комплексах, хотя и в меньшем количестве. Очевидно, что небольшое количество ССК все еще сохраняется в комплексах мембран тилакоидов, но последующего их синтеза не происходит. Возможно, эти металлы приводят к подавлению процесса формирования хлоропластных мембран, уменьшая формирование олигомерных и димерных форм комплексов, что тормозит кооперацию фотосистем, тем самым нарушая пигмент-пигментное, пигмент-белковое и белок-белковое взаимодействие в фотосинтетической мембране.

1. R.A. Gasanov, I.M. Kurbanova et al./ Inter. Simp. on plant mineral nutrition and photosynthesis. Sophia, Bulgaria, 1988, Pt 2, p. 5-14.

2. Курбанова И.М., Ганиева Р.А. и др./ Труды Института Ботаники НАНА, Баку, том. XXVI, 2006, 384-388.

3. Курбанова И.М., Ганиева Р.А./ «Цитология», 2003, т. 34, N 9, с. 862

4. Arif Gaziyez, Samira Aliyeva, Inna Kurbanova et al./ Metallomics, v. 3, N12, p. 1255-1386, 2011.

**РАСПРЕДЕЛЕНИЕ СЕЛЕНА И АКТИВНОСТИ ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗЫ
В СЕЛЕНСОДЕРЖАЩИХ ПРОТЕИНОВЫХ ФРАКЦИЯХ ЛИЗАТОВ ЭРИТОЦИТОВ
БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН**

**Distribution of selenium and glutathione peroxidase activity in selenium-containing
protein fractions of lysate erythrocytes of pregnant women**

Гусейнов Т.М.¹, Яхъяева Ф.Р.¹, Зейналлы Э.М.², Багирова Э.Д.³

1 – Институт Физики, НАН Азербайджан, г. Баку, AZ-1143, пр. Г. Джавида, 33;

2 – Институт Усовершенствования Врачей МЗ Азербайджанской Республики,
г. Баку, AZ-1012, пр. Тбилисский, квартал 3165;

3 – Институт акушерства и гинекологии МЗ Азербайджанской Республики,
г. Баку, AZ-1002, ул. Б. Агаев, 118.

Тел.: +99412 538 76 46; e-mail: thuseynov@physics.ab.az

Селен является важным компонентом антиокислительной системы организма, и ослабление его статуса отражается на его общей резистентности к различным неблагоприятным условиям внешней среды. Беременность является природной моделью селендефицитного состояния организма, позволяющая оценивать вклад селена в окислительную устойчивость к стрессорным воздействиям.

Исследовали кровь доноров-волонтеров (n=20) и в том числе кровь практически здоровых женщин детородного возраста (n=10) и женщин на различных сроках беременности (n=16), возраст варьировал от 20-45 лет.

Произведена оценка современного статуса селена Азербайджана, которая указывает на то, что в Азербайджанской республике имеет место значительное уменьшение обеспеченности селеном ее жителей по сравнению с 70 гг. прошлого столетия: ≈ 90 мкг/л против ≈ 120 мкг/л в крови.

Показано, что в течение беременности содержание селена в крови женщин уменьшается: в цельной крови на $\geq 30\%$, эритроцитах $\approx 20\%$, плазме $\geq 40\%$; а активность глутатионпероксидазы (ГП) в эритроцитах снижается не более, чем на 20% (в крови $\geq 30\%$).

Также проведено гель-хроматографическое разделение селенопротеиновых фракций в лизатах эритроцитов женщин на начальных и поздних сроках беременности. В ходе беременности содержание селена в ГП-протеиновых фракциях и активность ГП уменьшается незначительно (до 10%), а в гемоглибиновых фракциях лизатов эритроцитов содержание селена уменьшается в 2 раза, а пероксидазная активность гемоглобина в присутствии GSH («ГП» активность) падает на 50% . Таким образом можно заключить, что, несмотря на значительное уменьшение содержания селена в лизатах эритроцитов в ходе беременности, активность самого (истинного) ГП энзима падает незначительно, в то время как «ГП» активность гемоглобина угнетается существенно, что свидетельствует об определенной связи между обеспеченностью селеном гемоглобина и его пероксидазной активностью.

РОЛЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ГЛАЗА**The role of lipid peroxidation in the pathogenesis diseases of the eye****Гусейнова А.А.¹, Керимов К.Т.², Джафаров А.И.¹, Керимова Н.К.², Гахраманов Ф.С.²**

1 - Институт Физики, НАН Азербайджан, Баку, пр. Г. Джавида, 33 AZ-1143;

2 - Бакинская Научно-Исследовательская Клиника Глазных болезней, ул. А. Гулиева 6/15

Тел.: +994502230003; e-mail: farajovafarida@gmail.com

Ряд заболеваний глаза сопровождается активацией процессов свободнорадикального окисления биомолекул (белков, липидов). Изучение проблемы перекисного окисления липидов в организме показало участие продуктов этого процесса окисления липидов в развитии многих патологических состояний и заболеваний.

Исследованиями последних лет установлена интенсификация перекисного окисления липидов в тканях глаза при экспериментальном офтальмогерпесе. По мнению А.В.Владимирова, перекисное окисление липидов является пусковым механизмом для развития данного патологического процесса. По данным этого автора, в результате липоперексидации содержание малонового диальдегида в острый период заболевания в ткани роговицы возрастал в 7 раз, во влаге передней камеры – в 3,5 раза, а в радужной оболочке – в 2,8 раза.

Данные экспериментально-клинических исследований, свидетельствуют о том, что инстилляцией 10% альфа-токоферола (витамин Е) снижали содержание малонового диальдегида, повышала активность антиоксидантных ферментов, что, в конечном счете, способствовало уменьшению количества осложнений и неприятных последствий герпетического поражения глаз, сокращало длительность стационарного лечения больных офтальмогерпесом.

Авторами было установлено, что при интравитриальном кровоизлиянии существует определенный параллелизм между уровнем перекисного окисления липидов, в частности, содержанием малонового диальдегида и интенсивностью хемилюминесценции. Было установлено, что более высокий уровень свободнорадикального окисления наблюдается у больных гемофтальмом с диабетической этиологией. При этом уровень спонтанной и индуцированной хемилюминесценцией стекловидного тела превышал контрольный в 9,8 раза.

Наряду с кровью, сильное токсическое действие на сетчатку оказывают продукты липоперексидации, образованные в результате интенсификации перекисного окисления липидов в стекловидном теле при интравитриальных кровоизлияниях.

Таким образом, исходя из данных литературы, следует, что при многих заболеваниях глаза наблюдается интенсификация перекисного окисления липидов и нарушение структурно-функционального состояния тканей глаза, важную роль при этом играют радикальные интермедиаторы O_2 – супероксиданион радикалы, гидроксильные радикалы и ионы – металлов переменной валентности, соответственно генерация и концентрация которых резко увеличивается при различной патологии глаза.

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ И АНТИГИПОКСАНТОВ
НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ПАТОЛОГИЯХ ГЛАЗА****The efficiency of various antioxidants and antihypoxants to restore functional
impairment in pathologies eye****Гусейнова А.А.¹, Джафаров А.И.¹, Керимов К.Т.².**

1 - Институт Физики, НАН Азербайджан, Баку, пр. Г. Джавида, 33 AZ-1143;

2- Бакинская Научно-Исследовательская Клиника Глазных болезней, ул. А. Гулиева 6/15
Тел.: +994502230003; e-mail: farajovafarida@gmail.com

Изучено влияние антиоксидантов (фенозан калия, дибунол, токоферол ацетат, эмоксипин, оксипиридин (ЭМ), флавоноиды) и антигипоксантов (пиррацетам, бемитил, триофен, оксипиридин ОП-3) на восстановление функциональной активности роговой оболочки, стекловидного тела и сетчатой оболочки при химическом ожоге роговой оболочки, кровоизлиянии в стекловидное тело и при диабетической ретинопатии у кроликов.

В качестве показателей функциональной активности роговицы изучали прозрачность, стекловидного тела, вязкость, а сетчатой оболочки электрическую активность (ЭРГ).

Установлено, что использование антиоксиданты ускоряли эпителизацию роговой оболочки и восстановление прозрачности стекловидного теле и электрической активности сетчатки.

Из исследованных антиоксидантов в отношении восстановления роговой оболочки более высокую эффективность наблюдали у фенозана калия и альфа-токоферола.

Антиоксиданты при интравитреальном кровоизлиянии способствовали восстановлению прозрачности стекловидного тела, и в то же время не влияли на процесс нарушения вязкости-разжижение стекловидного тела. Антиоксиданты более отчётливый защитный эффект проявляли при диабетической ретинопатии, восстанавливая амплитуд "а" и "b" волн электроретинограмму сетчатки.

Было установлено, что сочетание действия антиоксидантов с антигипоксантами заметно улучшал эффект восстановления функциональной активности роговицы, стекловидного тела и сетчатой оболочки при названных патологиях.

Полученные результаты позволяют связать наблюдаемый эффект восстановления функциональной активности глаза с ингибированием свободнорадикального окисления липидов под действием антиоксидантов и антигипоксантов так как парабальбарное введение их приводили к заметному подавлению перекисного окисления липидов в роговице стекловидном теле и сетчатой оболочке.

ОСОБЕННОСТИ МОДЕЛИРОВАНИЯ ПОЧВЕННОЙ ЭКОСИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ТЕОРИИ КАТАСТРОФ

Давлетшина М.Р.

Башкирский государственный аграрный университет,
450001, Уфа, ул.50-летия Октября, 34,
Тел.: 8(347) 2282666, 8(347) 2304060, e-mail: davletshina@yandex.ru

В работе предлагается описание катастрофических изменений в почвенных экосистемах с помощью математической теории катастроф. Модель дает возможность качественного прогноза возможных равновесных состояний, почвенных экологических катастроф и описывает, к каким равновесным состоянием может переходить почва после катастрофы.

Почва представляет собой **сложную, открытую, самоорганизующуюся, саморегулирующуюся систему**, для описания которой необходимо множество параметров.

В данной работе ставится задача построения математической динамической модели смены равновесных состояний почвенной системы. С ее помощью можно было бы проводить прогнозирование экологических катастроф, при которых почва теряет равновесие и устремляется к новому равновесию. Полученная модель должна определить, каковы эти равновесия, при каких условиях они нарушаются, к каким равновесиям система перейдет и сколько новых равновесий может существовать.

Строится математическая модель почвенной экосистемы, основываясь на математической теории катастроф Рене Тома. Модель основывается на четырех управляющих внешних факторах, задающих среду экосистемы. Это влажность почвы w , содержание гумуса u ; наличие загрязнения l и антропогенное вмешательство v в почвенную экосистему. Модель может быть усложнена и дополнена за счет введения дополнительных управляющих внешних факторов, но при этом она становится менее наглядной и требует при ее использовании большей квалификации. Состояние почвы описываем функцией времени - интегральным показателем почвы

В работе рассмотрены следующие основные понятия, которые можно использовать для моделирования почвенных экосистем:

- понятие об экологическом риске и его минимизации для устойчивых экосистем;
- понятие о фазовых переходах первого и второго рода в экосистеме;
- понятие параметра порядка как макроскопической и термодинамической характеристики, описывающей поведение экосистемы;
- представления о флуктуациях в ходе экологических фазовых переходов;

Модель может описывать следующие экологические катастрофы: катастрофы при различных типах эрозии почв, катастрофы при загрязнении поллютантами, катастрофы при изменении климата и многие другие ситуации.

Литература

- 1) Брёкер Т., Ландер Л. Дифференцируемые ростки и катастрофы.- М.: Мир, 1977.- 207 с.
- 2) Постон Т., Стюарт И. Теория катастроф и ее приложения.- М.: Мир, 1980.- 543 с.
- 3) Пригожин И. Ведение в термодинамику необратимых процессов. – М.: Иностранная литература, 1960 г.

**ВЛИЯНИЕ ТЕПЛОЙ АККЛИМАЦИИ НА ТЕРМОТРОПНОЕ ПОВЕДЕНИЕ
И ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ГЛАВНЫХ МЕМБРАННЫХ ЛИПИДОВ
LAMINARIA JAPONICA И *ULVA FENESTRATA***

**Давыдова Л.А., Воробьева Н. С., Веланский П. В., Мазейка А. Н., Костецкий Э.Я.,
Санина Н.М.**

Дальневосточный федеральный университет, 690650 Владивосток, ул. Суханова 8.
Тел.: +7(423)2457779; факс: +7(423)249510; e-mail:lvorobushek@mail.ru

Морские макрофиты являются эктотермными организмами, рост и развитие которых зависят от температуры. Липидный бислой биологических мембран выполняет роль термосенсора, запускающего жизненно важный для этих организмов компенсаторный механизм поддержания оптимального для функционирования жидкокристаллического состояния липидов мембран. Ранее проведенные исследования зависимости физико-химических свойств полярных липидов морских макрофитов от таксономического положения и сезона выявили ряд важных закономерностей (1, 2).

Настоящая работа направлена на изучение скорости акклимационных изменений основных липидов мембран двух видов морских макрофитов *Laminaria japonica* (Phaeophyta) и *Ulva fenestrata* (Chlorophyceae). Растения собирали при 4°C в заливе Петра Великого Японского моря и акклимировали к 20°C в течение 1 и 8 суток.

Методами дифференциальной сканирующей калориметрии и ГЖХ-анализа показано, что механизмы адаптационных изменений в гликолипидах варьируют. В моногалактозилдиацилглицероле и дигалактозилдиацилглицероле *L. japonica* изменения насыщенности жирных кислот (ЖК), а также соотношения n-3/n-6 полиненасыщенных ЖК происходят односторонне при акклиматизации от зимы к лету и суточной тепловой акклимации в отличие от более длительной акклимации.

Изменения в составе ЖК гликолипидов и бетаинового липида ДГТС *U. fenestrata* в целом носят более адекватный характер, чем подобные изменения в гликолипидах *L. japonica*, что, вероятно, связано с адаптацией ульвы к более стрессовым условиям мелководной зоны.

Акклимационные изменения термотропного поведения гликолипидов *L. japonica* также имеют более сложный характер, чем в *U. fenestrata*. Наибольший эффект тепловой акклимации проявляется в термотропном поведении ДГТС ульвы, функционально замещающего фосфатидилхолин в мембранах зеленых водорослей. Результатом тепловой акклимации обеих водорослей является поддержание не только температуры фазовых переходов (T_{max}), но и фазового разделения гликолипидов. Увеличение периода акклимации приводит к большей подгонке профилей термограмм гликолипидов к таковому летних образцов.

Работа поддерживается грантами Министерства образования и науки РФ (Госзадание 4.583.2011, Госконтракт П340) и Правительства РФ (грант для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых в российских вузах, контракт 11.G34.31.0010).

1. Sanina N.M. et al. / Phytochemistry, 2004. V.65. P.721-730.
2. Sanina N.M. et al. / Phytochemistry, 2008. V.69. P.1517-1527.

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ПОЛЯ 50 ГЦ НА АКТИВНОСТЬ АЛЬФА-АМИЛАЗЫ ЧЕЛОВЕКА**Effect of 50 Hz electric field on the activity of the human alpha-amylase****Дадашов М.З., Гусейнова С.Я.**

*Институт Физики, НАН Азербайджана,
AZ-1143, Баку, пр. Г. Джавида 33. murseldadashov@hotmail.com*

В последние годы электромагнитные поля (ЭМП) различных частотных диапазонов становится широко распространенным неблагоприятным антропогенным фактором окружающей среды. Особое место занимает ЭМП 50 Гц, создаваемое высоковольтными линиями электропередач. Однако механизм воздействия на активность многих энзиматических систем изучена недостаточно.

Известно, что альфа-амилаза (КФ 3.2.1.1; 1,4-а-D-глюкан глюканогидролаза) является кальций-зависимым энзимом, катализирующим эндогидролиз а-1,4-глюкозидных связей полисахаридов до простых моно- и дисахаридов. Он широко распространен и легко доступен, имеет определенное диагностическое значение. В физиологических условиях в сыворотке крови представлен на 60% S-амилазой и 40% P-амилазой.

Изучено влияние электрического поля высокой напряженности (ЭПВН) промышленной частоты на активность S-тип амилазы человека, которую оценивали унифицированным амилотластическим методом. Амилазы слюны подвергли воздействию ЭПВН 15, 25, 35 кВ/м со временем экспозиции 1, 2, 3 часа и 1, 2, 3 сутки. Установлено, что под воздействием электрического поля напряженностью 15 кВ/м активность амилазы увеличивается в первый час инкубации, а по истечении последующих двух часов имеет место снижение. При напряженностях 25 кВ/м и 35 кВ/м, независимо от времени экспозиции, активность амилазы уменьшается, носящее дозависимый характер. Возможно, уменьшение активности энзима связано с его влиянием на степень ионизации биополимера, а также с изменением направления моментов квантовых переходов мономерных остатков биополимера, вызывающий изменение конформации белковой молекулы. Эти умозаключения основаны на наших результатах, полученных при изучении состояния оптической плотности в УФ области белкового препарата амилазы, подвергнутого воздействию ЭПВН 25 кВ/м, где имеет место значительное снижение величины оптического поглощения анализируемых образцов.

**ПРИМЕНЕНИЕ НИЗКОЧАСТОТНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВА
ПОВЫШЕНИЯ РАДИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА****The low-intensity magnetic field application as a mean of organism radio resistance
increasing****Девяткова Н.С., Лобкаева Е.П.**

ФГУП Российский Федеральный Ядерный Центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики,
607188, г.Саров, Нижегородская обл., пр. Мира 37
Тел. +7(83130) 2 25 99, факс +7(83130) 2 53 00, e-mail: nata@bfrnc.vniief.ru

Проблема защиты организма человека в условиях космического полета требует решения специальных задач по обеспечению радиационной безопасности экипажей летательных аппаратов.

В работе проведены результаты экспериментальных исследований радиозащитного действия низкочастотного магнитного поля (НМП) с максимальной магнитной индукцией до 3,5 мТл, выбор параметров которого базируется на закономерности флуктуаций ритмологических характеристик организма лабораторных животных. Рассматривались различные варианты воздействия НМП: за сутки до облучения, в течение шести суток после облучения и комбинированный режим (аналогично - до и после облучения).

На мелких лабораторных животных (крысы, мыши) показана безопасность и эффективность применения НМП при разных видах (тормозное, гамма – излучение ^{60}Co) и интенсивностях излучения (от 1 до 13 Гр), вызывающих различные формы лучевого поражения (костномозговую, кишечную и смешанную), причем результат защитной модификации проявлялся на организменном, системном, клеточном и субклеточном уровнях.

Возможный механизм противолучевого действия НМП, применяемого до облучения, осуществляется путем развития неспецифического адаптационного синдрома - реакции активации. В случае применения магнитного поля после облучения механизм его действия обусловлен проявлением биологических эффектов на структурно – метаболическом уровне клеток и тканей, вызванных прямым проникающим действием НМП.

Комбинированный режим позволяет использовать оба эти механизма для защиты от радиации и интенсификации процессов восстановления организма в пострadiационный период.

Полученные результаты являются подтверждением возможности применения НМП со специально выбранными режимами в качестве средства повышения радиорезистентности организма при разработке метода защиты от радиации в интересах космической и авиационной медицины.

МАТЕМАТИЧЕСКИЕ ЭЛЕМЕНТЫ ТЕОРИИ ПОДОБИЯ ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ

Mathematical elements of the theory of scaling water ecosystems

Дегерменджи Н.Н.

Красноярский государственный медицинский университет,
660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1
Тел.: +7(391)2217202; e-mail: nn1947@yandex.ru

Новым методом повышения адекватности моделей водных экосистем может стать теория подобия. Классический результат теории размерности и подобия заключен в П-теореме. Пусть физическая величина « a » зависит от определяющих параметров и переменных $a_{j, \dots, a_k}, a_{k+1, \dots, a_n}$; $a=f(a_{j, \dots, a_k}, a_{k+1, \dots, a_n})$. Если a_{j, \dots, a_k} - независимые переменные, т.е. размерность ни одной из величин a_{j, \dots, a_k} непредставима в виде степенного одночлена размерностей остальных величин, то зависимость a может быть сведена к связи безразмерных величин: $\Pi = \Phi(\Pi_1, \dots, \Pi_{k+1}, \dots, \Pi_n)$, где

$$\Pi = a/a_1^{h_1} \dots a_k^{q_k} \quad \Pi_j = a_j/a_1^{p_1} \dots a_k^{p_k}$$

$j=k+1, \dots, n$ или в сжатом виде: $\Pi = \Phi(\Pi_1, \dots, \Pi_n)$. Из этого следует, что реально зависимость Π имеет место не от n параметров, а на k параметров меньше. Приведем пример приложения П-теоремы к простейшей модели хемостата. Пусть популяция микроорганизмов с биомассой $x(t)$ развивается в системе с удельным протоком D , потребляет субстрат, фоновая концентрация которого $S(t)$, при входной - S_0 . Зависимость удельной скорости роста (УСР) биомассы (g) пусть имеет вид $g = \mu S/(K_s + S)$, где μ - максимальная УСР, K_s - константа полунасыщения по субстрату. Тогда $S = \varphi(x(0), S(0), S_0, t, \mu, K_s, D, y)$ и $x = f(x(0), S(0), S_0, t, \mu, K_s, D, y)$ - (1), где размерности следующие: $[x]=[S]=[x(0)]=[S(0)]=[S_0]=[K_s]=M/L^3$; $[t]=T$; $[D]=[\mu]=T^{-1}$; $[y]=1$. В качестве независимых переменных выберем K_s и μ . Тогда имеем безразмерные параметры: $F = x/K_s$, $W = S/K_s$, $\tau = t/\mu^{-1}$, $V = D/\mu$ и т.п. Зависимости (1) приобретут вид: $W = \varphi(x(0)/K_s, S(0)/K_s, S_0/K_s, t\mu, 1, 1, D/\mu, y)$ или $W = \varphi(\tau, V, y)$. Аналогично и $F = f(\tau, V, y)$. В отличие от эмпирического поиска зависимостей типа Π для описываемой системы известен механизм, определяющий динамику компонент W и F , который позволяет выписать явно безразмерные уравнения:

$$\dot{W}_\tau = (S_0/K_s - W)V - yWF/(1+W) \quad \dot{F}_\tau = (W/(1+W) - V)F$$

В стационарном состоянии $W=V/(1-V)$. Можно показать совпадение графика теоретической безразмерной зависимости остаточной концентрации лимитирующего субстрата $W(S_0/K_s)$ от безразмерной величины протока $V(=D/\mu)$ с соответствующими экспериментальными значениями: все «безразмерные» точки «лежат» на единой кривой $W=V/(1-V)$. Даже из этого простейшего примера следует, что условие подобия натурной (n) и лабораторной (l) экосистемы, заключающееся в равенстве всех безразмерных параметров подобия, $\tau_n = \tau_l$; $V_n = V_l$ и т.п. приводит к требованию определенной связи популяционной характеристики (μ) и проточности (D), как гидродинамической величины: $D_n/\mu_n = D_l/\mu_l$. Следовательно, можно в лабораторных опытах использовать популяцию с большей скоростью роста μ_n и, соответственно, задавать большую проточность D_n . При этом безразмерная «лабораторная» зависимость фоновой концентрации лимитирующего субстрата от D/μ будет совпадать с натурной. Поскольку $t_n \mu_n = t_l \mu_l$, то «лабораторное» время (t_l) идентичной лабораторной и натурной динамики компонент будет меньше натурального в μ_n/μ_l раз. В общем случае можно выписать совместные эколого-гидрофизические уравнения динамики состояния водной экосистемы в безразмерном виде. Это позволяет определить дополнительно к широко известным параметрам подобия (Рейнольдса, Фруда и др.) новые, в которых экологические «микрпараметры» выступают наравне с гидрофизическими.

**НОВЫЕ СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ АМИНОКИСЛОТ
ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НИЗКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ.****Novel spectroscopic features of amino acids induced by a low intense laser irradiation.****Дегтярева О. В.¹, Терпугова С. Е.², Савранский В. В.², Терпугов Е. Л.¹**

1- Институт биофизики клетки РАН,
142290, Московская область, . Пущино, ул. Институтская,3
Тел.: +7(4967)739393; факс: +7(4967)33-05-09; e-mail: olga_degt@mail.ru;
2- ЦЕНИ Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН,
119991, Москва, ул Вавилова 38

Известно, что пептиды и белки образуют агрегаты в жидкой фазе. Агрегация белков связана с несколькими нейродегенеративными заболеваниями, в том числе болезнью Паркинсона и Альцгеймера. Соответственно в последние годы исследование этих комплексов приобрело большое значение не только в фундаментальных исследованиях, но также в практических целях. Среди аминокислот в агрегации белков лизин, как полагают, имеет ключевое значение. Однако об агрегации лизина в жидкой фазе практически мало, что件 известно.

В нашей работе сообщается о результатах исследований растворов лизина и глицина с использованием техники флуоресцентной и адсорбционной спектроскопии в УФ-видимой области, которые свидетельствуют об агрегации аминокислот в жидкой фазе. Показано, что агрегация аминокислот может индуцироваться внешним лазерным излучением низкой интенсивности 5-10 мВт. В этом случае в спектрах поглощения появляются новые пики в области 260- 330 нм, которые также проявляются при увеличении концентрации образцов от 0,5М до 1,5М. Такие изменения наиболее заметны в растворе лизина и менее выражены в глицине.

Воздействие лазерным излучением на длине волны 532 нм в течение 30-60 минут приводит к заметным изменениям в спектрах флуоресценции, а также спектрах действия растворов обоих аминокислот. При возбуждении бесцветных растворов светом длиной волны 290 нм в спектрах флуоресценции регистрируется широкая полоса с максимумом возле 415 нм. Свечение в этой области трудно объяснить структурой молекулы аминокислоты лизина или глицина, в которой отсутствует ароматическое кольцо или система сопряженных связей, которые могли бы дать такой отклик среды, что, следовательно, указывает на наличие других структур в растворе. Возможность наличия чужеродных примесей в самой воде в данном случае исключена, поскольку для приготовления растворов использовалась деионизованная вода с высокой степенью очистки, а сами же приготовленные растворы непосредственно перед регистрацией пропускали через фильтры с диаметром пор 0, 22 мкм. Дополнительным свидетельством наличия гетерогенности в структуре аминокислоты, особенно в растворе лизина являлось наличие в спектрах возбуждения ряда одиночных пиков в области между 300-500 нм, которые не наблюдались в исходных растворах.

**ДИНАМИКА КРОСС-КОРРЕЛЯЦИОННЫХ ВЗАИМОСВЯЗЕЙ
ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАММ ЧЕЛОВЕКА В ДИАГНОСТИКЕ ПСИХИАТРИЧЕСКИХ
РАССТРОЙСТВ**

**Dynamics of cross-correlations in human electroencephalograms for diagnostics of
psychiatric disorders**

Дёмин С.А.¹, Панищев О.Ю.¹, Поляков Ю.С.², Каплан А.Я.³, Тимашев С.Ф.^{4,5}

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

2 – USPolyResearch, 906 Spruce St., Ashland, PA 17921, USA;

3 – Московский государственный университет, 119991, Москва, ул. Воробьевы Горы, 1/12;

4 – Научно-исследовательский физико-химический институт им. Л.Я. Карпова,
103064, Москва, ул. Воронцово поле, 10;

5 – Институт проблем лазерных и информационных технологий РАН,
142092, Троицк, ул. Пионерская, 2

Тел.: +7(843)233-77-37; e-mail: serge_demin@mail.ru

На основе анализа клинических электроэнцефалографических (ЭЭГ) данных, представляющих собой совокупность флуктуирующих значений электрических потенциалов, регистрируемых с кожной поверхности головы в различных областях скальпа, демонстрируются возможности диагностирования предрасположенности к шизофрении у детей/подростков 11-14 лет. Поиск диагностических признаков осуществляется на основе феноменологического анализа и параметризации сигналов, регистрируемых на отведениях F_3 и F_4 симметрично расположенных в левой и правой фронтальных областях скальпа, а также кросс-корреляционных взаимосвязей между указанными сигналами. Для извлечения высоко индивидуальной по своему характеру информации, заключенной в совокупности таких сигналов, используется фликкер-шумовая спектроскопия (ФШС). Принципиальное отличие ФШС от иных методов анализа временных рядов динамических переменных состоит во введении информационных параметров, характеризующих составляющие исследуемых хаотических сигналов в разных диапазонах частот. Обнаруженные особенности взаимной динамики ЭЭГ сигналов, фиксируемых на указанных отведениях, позволили установить важную роль частотно-фазовой синхронизации – проявления определенных соотношений между характерными частотами и фазами возбуждений в функционировании мозга как целостной системы [3, 4]. Были введены количественные меры частотно-фазовой синхронизации и проведена систематизация ФШС параметров. Сопоставление этой информации с врачебными диагнозами, установленными для 84 детей/подростков 11-14 лет в Национальном центре психического здоровья РАМН (г. Москва, Россия) традиционным образом на основе тестовых бесед врачей, позволило провести дифференциацию ЭЭГ сигналов по 4 категориям, характеризующим разную степень риска предрасположенности к развитию шизофрении. Расхождения с врачебными диагнозами при условном отнесении первой и второй групп к «здоровым», а третьей и четвертой групп к «склонным к психиатрическому расстройству» составило около 20 %.

ВИБРОАКУСТИЧЕСКИЙ ПРОГНОЗ В ЗАДАЧАХ ЭКОЛОГИИ ГОРОДА**Vibroacoustic forecast in the city ecology problems****Дергузов А.В., Махортых С.А.**

1 – Институт математических проблем биологии РАН, 142290, Пущино, ул. Институтская, 4
Тел.: +7(4967)318512; факс: +7(4967) 318504 ; e-mail: Arkadiid@list.ru

Линии метрополитена являются источником повышенной вибрации зданий, расположенных в зоне их влияния. В связи с этим возникает задача прогнозирования уровней вибрации в жилой застройке, прилегающей к проектируемым и строящимся линиям. Другой, не менее важной задачей является оценка эффективности различных мероприятий по защите зданий и сооружений как от проектируемых, так и существующих линий метрополитена.

Проблема расчета уровней вибрации в грунте в городских условиях представляется довольно сложной по нескольким причинам. Грунт является довольно сложной геофизической средой с присущими ему гетерогенностью, сложными поглощающими и упругими свойствами. Часто проблема осложняется также нехваткой данных о геометрических характеристиках и упругих свойствах слоев грунта. Данная проблема решается в рамках экспериментальной методики с последующим решением обратных задач томографии грунта с использованием спектрально-аналитических подходов [1].

Вследствие сложности вибрационного поля и отсутствия достаточно подробных данных о геометрических и физических свойствах слоев грунта в условиях нехватки геофизических данных используется однородная модель грунта, которая обеспечивает приемлемую точность и физическую прозрачность результатов, не приводя к избыточной математической сложности.

Проведены теоретические исследования колебаний обделок тоннелей метрополитена различного типа, рассматриваемых как упругие оболочки, создана математическая модель упругих волн в грунте, учитывающая распространение продольных, поперечных, а также поверхностных волн Рэлея. Учет последних в практике акустических расчетов, связанных с метрополитеном, производится впервые. Показана важность роли поверхностных волн при передаче энергии вибрации к жилой застройке.

Учитываются также особенности передачи вибрации по структуре здания. Предлагаемые в данном случае подходы адаптируются также к задачам метеорологического воздействия на высотные сооружения.

Достоверность полученных в работе результатов подтверждается натурными экспериментами на действующих линиях метрополитена, а также многочисленными расчетами и практикой применения разработанных методик в Москве, Санкт-Петербурге, Екатеринбурге, Нижнем Новгороде.

Работа поддержана грантами РФФИ 11-07-00519, 10-01-00609.

1. Рыбак С.А., Махортых С.А., Костарев С.А., Дергузов А.В. Методы оценки акустических параметров грунта. *Акустич. журнал*. 2004, т.50, №3, с. 1-9

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ РАСТВОРОВ СОЛЕЙ КАДМИЯ НА НАКОПЛЕНИЕ ПРОДУКТОВ ПОЛ В ИССЛЕДУЕМЫХ ОРГАНАХ РАСТЕНИЙ**Studies the effect of salt solutions of cadmium on the accumulation of lipid peroxidation products in the studied organs of plants****Джафарова С.А.¹, Джафаров А. И²**

1 – Институт гематологии и трансфизиологии МЗ Азербайджанской Республики, Баку, ул. Мирали Гашкая, 87, AZ1000

2- Институт Физики, НАН Азербайджан, Баку, пр. Г. Джавида, 33 AZ-1143; Тел.: +99450 373 14 30; e-mail: scafarova@yahoo.com

Исследовано влияние растворов солей кадмия на накопление продуктов ПОЛ в корнях, стеблях и листьях исследуемых растений. Опыты проводились на проростках растений гороха (*Pisum sativum* L), кукурузы (*Zea mays* L) и овса (*Avena saliva* L) выращенных в условиях лаборатории и на открытом грунте. Соли кадмия : $CdSO_4$ в концентрации $10^{-3}M$ и $CdCl_2$ в $10^{-4}M$ вводились в питательные смеси для лабораторных опытных растений. Для опыта на открытом грунте соли кадмия в количестве **10mg/kg-50mg/kg чернозема добавля**ли в землю при корневой системе и в виде аэрозоля опрыскивали листья и стебли . Соли кадмия ($CdSO_4$ и $CdCl_2$) в корнях, стеблях и листьях опытных растений увеличивали концентрацию ГП и МДА и интенсивность ХЛ, Следует отметить ,что соль $CdSO_4$ оказывала более сильное влияние на изменение интенсивности ПОЛ, чем соль $CdCl_2$. Это связано с тем, что $CdSO_4$ лучше всасывается корневой системой, чем $CdCl_2$. Кроме того, соли **Cd у** исследованных растений в тканях корневой системы и стеблей в большей степени увеличивали концентрацию ГП, МДА, и интенсивность ХЛ, чем в листьях.

Среди исследованных нами растений на влияние солей кадмия более чувствительным оказалось растение овса. Нами было выявлено, что по чувствительности на влияние солей кадмия после овса следовал горох, и наименее чувствительной была кукуруза, о чем судили по изменению интенсивности накопления продуктов ПОЛ в листьях, корнях и стеблях растений подвергшихся действию ионов кадмия.

**КОНСТРУИРОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ
И ИХ АНАЛОГОВ****Engineering of recombinant therapeutic antibodies and their analogs****Долгих Д.А.^{1,2}, Алиев Т.К.¹, Петровская Л.Е.¹, Кирпичников М.П.^{1,2}**

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

2 – Биологический факультет Московского государственного университета имени
М.В.Ломоносова, 119234, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12
Тел.: +7(495)336-80-11; факс: +7(495)335-28-88; e-mail: dolgikh@nmr.ru

Фармацевтические препараты на основе антител за последнее десятилетие обеспечили прорыв в лечении онкологических, аутоиммунных, вирусных заболеваний. В настоящее время в мире зарегистрировано более 30 препаратов-антител и на различных стадиях клинических исследований находится несколько сотен антител-кандидатов. Основными достоинствами данного класса соединений являются высокая специфичность и родство к антигенам, способность активировать защитные функции иммунной системы.

Важнейшей задачей при конструировании антител-кандидатов для терапевтического использования является биоинженерия антиген-связывающих доменов с целью увеличения аффинности и избирательности по отношению к выбранным терапевтическим мишеням при сохранении низкой иммуногенности. Широкое распространение получили различные способы гуманизации переменных доменов, методы рандомизации ключевых аминокислотных остатков, отвечающих за связывание с антигенами. В последнее время значительный научный и практический интерес вызывает также конструирование искусственных связывающих белков, получаемых с помощью методов белковой инженерии на основе каркасных полипептидов, в частности, 10 домена фибронектина. Такие искусственные белки отличаются небольшой молекулярной массой и, как следствие, лучшим проникновением в ткани, высокой стабильностью и растворимостью. Они могут быть получены в бактериальной системе экспрессии, что приводит к существенному удешевлению производства по сравнению с полноразмерными антителами.

В лаборатории инженерии белка ИБХ РАН и на кафедре биоинженерии Биологического факультета МГУ проводятся работы по созданию терапевтических антител для лечения аутоиммунных заболеваний и для борьбы с особо опасными инфекционными заболеваниями. Разработаны обладающие высокой биологической активностью гуманизированные антитела к интерферону-гамма человека, одному из основных медиаторов таких заболеваний, как псориаз и системная красная волчанка. Проводится получение и исследование рекомбинантных антител к протективному антигену и летальному фактору экзотоксина сибирской язвы для использования в качестве пост-инфекционных средств защиты. На основе домена фибронектина получены рекомбинантные белки, связывающие фактор некроза опухолей, который является основным провоспалительным цитокином и участвует в развитии болезни Крона, ревматоидного артрита и других заболеваний человека.

**БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА В АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ
К СТРЕССОВЫМ ФАКТОРАМ****Biologically active agents in plant adaptation to stress factors****Домаш В.И., Корзюк О.В., Шарпио Т.П., Забрейко С.А., Иванов О.А.**

Институт экспериментальной ботаники им.В.Ф.Купревича НАН Беларуси,
220072, Минск, ул. Академическая, 27.
Тел. (+375 17) 284 1660; E-mail: domash@biobel-bas-net.by

Состояние окружающей среды зависит от влияющих на нее природных и антропогенных факторов. Существующие технологии возделывания сельскохозяйственных культур на техногенно загрязненных территориях ориентированы, прежде всего, на предотвращение или, по меньшей мере, снижение поступления загрязняющих веществ в производимую продукцию. Увеличение продуктивности растениеводства при улучшении качества продукции возможно за счет применения физиологически или биологически активных веществ, влияющих на рост, развитие растений и их устойчивость к биотическим и абиотическим факторам внешней среды [1]. В настоящее время рекомендовано к применению большое число препаратов, оказывающих воздействие на физиолого-биохимические реакции в растениях, усвоение питательных элементов и их метаболизма, изменяющих интенсивность ростовых процессов, темп и характер развития, что в конечном итоге отражается на продуктивности сельскохозяйственных культур [2]. Нами показана способность регулятора роста растений «Тубелак», на основе аминокислот, углеводов, макро-и микроэлементов, полученного из побочных продуктов переработки картофеля и оксидата торфа, на основе гуминовых веществ нивелировать негативное действие ионов хлора и тяжелых металлов. Так, установлено, что ионы хлора снижали в среднем на 30 % рост и развитие 12-дневных растений люпина и озимой ржи. Замачивание семян в препаратах нивелировало отрицательное действие 0,15 М NaCl, которое сопровождалось активацией системы протеолиза, антиоксидантной активности, повышением содержания пролина. Подобный эффект наблюдался и при воздействии ионов меди и кадмия. Установлено, что длина и масса корней снижалась в 20-дневных растениях люпина под действием ионов меди ($2,0 \times 10^{-3}$ М CuSO_4) на 40%, действие же препаратов повышало морфометрические показатели в 2 раза. В листьях исследуемых видов растений при воздействии ионов меди протекторное действие биопрепаратов в отношении ферментов каталазы, пероксидазы и ингибиторов трипсина составляло около 20-25%. Стрессовое действие $2,5 \times 10^{-3}$ М CdCl_2 под действием препаратов снижалось в среднем на 25%.

Результаты исследований позволили показать существование комплекса физиологических ответов, лежащих в основе формирования устойчивости растений к действию стрессовых факторов, а также перспективность использования регуляторов роста растений на посевах сельскохозяйственных культур для снижения негативного действия абиотических факторов среды.

1. Шевелуха В.С. Рост растений и его регуляция в онтогенезе. М.: Колос, 1992. 599 с.

2. Шакирова Ф.М., Хлебникова Т.Д. Регуляторы роста в адаптивной стратегии растениеводства. Уфа: Гилем, 2009. 124 с.

ДЕЙСТВИЕ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ НА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И СОСТОЯНИЕ ИОН-ТРАНСПОРТНЫХ СИСТЕМ КЛЕТКИ РАСТЕНИЙ**Effect of stress factors on physiological and biochemical parameters and consisted of ion-transport systems of plant cell.**

Домаш В.И.¹, Соколик А.И.², Кабанова Н.В.², Шарпио Т.П.¹, Забрейко С.А.¹, Иванов О.А.¹

1- Институт экспериментальной ботаники им.В.Ф.Купревича НАН Беларуси, 220072, Минск, ул. Академическая, 27.

Тел. (+375 17) 284 1660; E-mail: domash@biobel-bas-net.by

2- Белорусский государственный университет, 220032, г. Минск, пр. Независимости, 4

В связи с ухудшением экологической обстановки растет интерес к действию стресс-факторов на растения. Среди них следует отметить действие фитопатогенов, засоление почв и загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами.

В ответ на действие стресса в растениях происходит активация различных систем защиты, направленных на поддержание жизнеспособности растительного организма. К сожалению, имеющиеся сведения о физиолого-биохимических изменениях, происходящих в растениях при действии биотических и абиотических факторов очень фрагментарны.

Наши исследования показали, что значительное стрессирующее действие метаболитов фитопатогенов связано со снижением активности нейтральных протеаз на 15%, повышением – щелочных протеаз и активности ингибиторов трипсина соответственно на 44 и 81%. Ответная реакция люпина на стресс-фактор выразилась и в повышении антиоксидантной активности. Наши исследования показали также, что набухание семян люпина и озимой ржи в условиях засоления и в присутствии тяжелых металлов приводит к изменению активности компонентов протеиназно-ингибиторной системы в 20-дневных растениях. Так, в этих условиях наблюдается повышение активности нейтральных и щелочных протеаз в среднем на 12-15% и снижение активности ингибиторов трипсина (на 10%), являющихся регуляторами ферментативной активности. Наблюдается также повышение содержания пролина в листьях исследованных культур. Так, ионы хлора вызывают повышение этого показателя у растений люпина на 40%, а у озимой ржи – на 51%. Под действием ионов меди и кадмия повышение составляет в среднем 20%. Действие стрессоров способствуют снижению общей антиоксидантной активности в среднем на 15%.

Установлено, что действие стресс-факторов по-разному влияет и на изменение состояния ион-транспортных систем плазматической мембраны клеток растений. Так, показано, что действие биотического стресса вызывает как стимуляцию процессов (более чем вдвое ускоряется поглощение калия при действии *Colletotrichum*), так и очень значительное ингибирование (в три с половиной раза) для ацидофицирующей активности при действии *Fusarium*. При действии абиотических стрессоров выделение протонов корнями (ацидофицирующая активность) наполовину подавляется кадмием и практически полностью – медью и хлоридом натрия. В то же время обработка кадмием вдвое увеличивает скорость поглощения калия, которая полностью подавляется медью и незначительно – предобработкой хлоридом натрия.

Полученные сведения представляют интерес для разработки способов защиты растений в условиях действия стрессоров.

Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (грант № Б11ОБ-75)

О ДИНАМИКЕ МЕЖМОЛЕКУЛЯРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В ВОДЕ

The dynamics of intermolecular interactions in water

А.В. Дроздов, Т.П. Нагорская

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт аналитического приборостроения Российской академии наук (ИАП РАН)
190103, Россия, Санкт-Петербург, Рижский проспект 26, **E-mail:** av@biophys.ru

Ритм (греч. *Rhythmos* от *rheo* – теку) – чередование каких-либо элементов, происходящее с определенной последовательностью, частотой; скорость протекания, совершения чего-либо. Биоритм – это периодическое изменение характера и интенсивности биологических процессов и явлений. Выяснение природы биоритмов, механизма их формирования и поддержания является актуальной задачей современной науки о живом.

Спектроскопия комбинационного рассеивания, ИК-спектроскопия, СВЧ-радиометрия и ЯМР на сегодняшний день общепризнанны как структурно-чувствительные методы для исследования свойств воды и водных растворов. В нашей работе исследовалась временная динамика интегральной интенсивности поглощения/излучения электромагнитной энергии водой и водными растворами.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что не зависимо от используемого метода исследования в динамике изменений интенсивности поглощения/испускания наблюдаются хорошо воспроизводимые периоды. Значение этих период составляет 2-5 мин, 6-10 мин., 12-18 мин., 20-30 мин., 40-50 минут. Иными словами в структурной динамике наблюдается упорядоченность структурных переходов, определяемых характером межмолекулярного взаимодействия молекул воды как друг с другом, так и с внешними электромагнитными полями. Полученные результаты хорошо совпадают с наблюдаемыми в работах [2-3] периодами колебаний физико-химических характеристик исследуемых водных систем.

Предлагаемый нами механизм возникновения периодичности связан в изменением соотношения *орто-/пара*-молекул воды в исследуемом образце, что приводит к изменению характера межмолекулярного взаимодействия. Возможно, что именно спиновая изомерия лежит в основе двухструктурной модели воды и связанной с ней структурной динамикой. Проведенные нами ЯМР эксперименты в магнитном поле Земли говорят в пользу этого предположения.

Обнаруженные колебательные процессы в воде могут «пролить свет» на понимание механизмов биоритмов. Полученные результаты позволили сделать предположение, что в основе биоритмов лежит периодичность физико-химических процессов, которая определяется колебательной природой межмолекулярных взаимодействий в воде, а так же изменениями проницаемости клеточных мембран за счет изменения соотношения *орто-/пара*-молекул, приводящее к изменению физических свойств внутриклеточной воды.

Литература

1. Самойлов О.Я./ Структура водных растворов электролитов и гидратация ионов. М. Изд-во АН СССР, 1957.
2. Черников Ф.Р./ Биофизика, 1986, т.31, №4, с.596.
3. Gudkov S.V., Bruskov I.I. et al / J. Chem. Phys. B 2011, 115, 7693–7698

ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ХЛОРИНОВЫХ И ФТАЛОЦИАНИНОВЫХ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ С РАКОВЫМИ И НОРМАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ ЧЕЛОВЕКА *IN VITRO***Interaction of chlorine and phtalocyanine photosensitizers with cancer and normal human cells in vitro**

**Дубасова Л.В.¹, Сергеева Е.И.¹, Брилкина А.А.¹, Балалаева И.В.¹, Сергеева Е.А.²
Шахова Н.М.²**

¹ – Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, 603950, Россия;

² – Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород, 603950, Россия
Тел.: 89159381433; E-mail: tlw-nn@yandex.ru

Для разработки эффективных фотосенсибилизаторов (ФС) необходимо изучать их действие на клеточном уровне. Цель работы заключалась в сравнительном анализе цитотоксичности, динамики накопления и внутриклеточного распределения ФС разных классов в культурах нормальных и опухолевых клеток. Работу проводили на нормальных гепатоцитах (Chang Liver), аденокарциноме печени (SK-HEP-1), карциноме мочевого пузыря (T-24). Использовали хлориновые («Фотодитазин», «Радахлорин», «Фотолон») и фталоцианиновые («Фотосенс», «Фталосенс», «Холосенс») соединения в диапазоне концентраций от 0,65 до 320 мкг/мл. Оценку темновой цитотоксичности ФС проводили с помощью МТТ-теста. Суточную динамику накопления в клетках исследовали на проточном цитофлуориметре FACSCalibur (BD, USA). Визуализацию внутриклеточного распределения осуществляли с использованием лазерного сканирующего микроскопа Carl Zeiss Axiovert 200 M (Carl Zeiss, Германия).

Наиболее токсичными при отсутствии облучения оказались хлориновые препараты, в особенности «Фотодитазин», для которого показано до 90% снижения жизнеспособности клеток при концентрации 320 мкг/мл. Напротив, для фталоцианиновых препаратов даже при такой концентрации цитотоксичность была незначительной, минимальной токсичностью обладал «Фотосенс».

Для всех исследованных фотосенсибилизаторов активное поглощение как нормальными так и опухолевыми клетками происходило до 4-8 часов инкубации, в дальнейшем накопление хлоринов немного снижалось, а фталоцианинов – выходило на плато. В этот период для хлорина «Фотодитазин» выявлена небольшая достоверная разница в его накоплении опухолевыми клетками по сравнению с нормальными. Для фталоцианинов интенсивность накопления не зависела от типа клеток.

Внутриклеточное распределение ФС в нормальных и опухолевых клетках было одинаково. Фотодитазин в разные периоды инкубации выявлялся в мембранах: плазматической, митохондрий, аппарата Гольджи и ЭПР. Кроме того для него отмечено уменьшение флуоресцентного сигнала при удалении препарата и промывании клеток. Фталоцианины Фотосенс и Холосенс аккумулируются в везикулах, в то время как Фталосенс распределяется по мембранам подобно Фотодитазину, за исключением митохондриальных.

Работа выполнена при поддержке Программы Президиума РАН «Фундаментальные науки медицине», гранта РФФИ (проект 11-02-00916-а) и Министерства образования и науки (ГК №11.G34.31.0017).

**НАНОЧАСТИЦЫ ПОЛИПЛЕКСОВ С ЛИГАНДОМ ДЛЯ ДОСТАВКИ ГЕНОВ
В РАКОВЫЕ КЛЕТКИ МЕЛАНОМЫ****Polyplex nanoparticles with a ligand for gene delivery into melanoma cells**

**Дурыманов М.О.^{1,2}, Уласов А.В.¹, Белецкая Е.А.², Родиченко Н.С.^{1,2}, Храпцов Ю.В.¹,
Розенкранц А.А.^{1,2}, Соболев А.С.^{1,2}**

1 – Институт биологии гена РАН, 119334, Москва, ул. Вавилова, д. 34/5.

2 – Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,
119991, Москва, Ленинские горы, д.1, стр.12.

Тел.: +7(499)135-99-02, e-mail: mdurymanov@gmail.com.

Для доставки генов в раковые клетки с целью генной терапии ведется разработка новых систем доставки ДНК с использованием катионных полимеров, обладающих широким спектром возможностей для варьирования физико-химических свойств комплексов поликатион/ДНК (или полиплексов).

В данной работе проводили исследование механизмов внутриклеточного транспорта, а также оценку эффективности доставки ДНК в раковые клетки меланомы с помощью полиплексов на основе сополимеров полиэтиленimina и полиэтиленгликоля (ПЭИ-ПЭГ) при включении в их состав пептидного лиганда MC1SP, специфичного к меланокортиновым рецепторам на поверхности клеток меланом.

Гидродинамические радиусы полиплексов, содержащих в своем составе лиганд (ПЭИ-ПЭГ-MC1SP/ДНК), а также нелигандированных аналогов (ПЭИ-ПЭГ/ДНК), измеренные методом динамического светорассеяния, составили 48.8 ± 4.3 и 55.9 ± 6.2 нм соответственно. Было показано, что эффективность доставки переносимой ДНК в ядра клеток меланомы в культуре полиплексами с лигандом была до двух раз выше по сравнению с нелигандированными. С помощью метода конфокальной лазерной сканирующей микроскопии с применением технологии резонансного переноса энергии по Фёрстеру (FRET) был проведен сравнительный анализ внутриклеточного транспорта и распаковки лигандированных и нелигандированных полиплексов на временах до 8 ч после их добавления к клеткам меланомы. Для оценки накопления полиплексов в клетке мы определяли количество поглощенных полиплексов как воксельный объем сигнала от квантовых точек QD605 (донор), которыми была помечена ДНК. Количество запакованных полиплексов, обладающих сигналом FRET, определяли как объем сигнала от красителя AlexaFluor647 (акцептор), которым был помечен полимер. Полиплексы считали распакованными, если наблюдался сигнал только от квантовых точек, т.е. отсутствовал безызлучательный перенос энергии. В результате экспериментов выяснилось, что полиплексы с лигандом сразу начинают накапливаться в клетках, в то время как полиплексы без лиганда поступают внутрь клеток с двухчасовой задержкой, что приводит к их распаковке на клеточной поверхности и обуславливает преимущественное накопление в распакованном состоянии, что существенно увеличивает вероятность деградации переносимой ДНК. Кроме того, лигандированные полиплексы быстрее накапливаются в клеточном ядре.

Таким образом, включение специфического лиганда в состав полиплексов приводит к их более быстрому накоплению в раковых клетках, что увеличивает эффективность доставки ДНК в ядро.

ТГц СПЕКТРЫ ПРОПУСКАНИЯ И ОТРАЖЕНИЯ ПАТОЛОГИЧЕСКИ ИЗМЕНЁННЫХ ХРУСТАЛИКА ГЛАЗА, ТВЁРДЫХ ТКАНЕЙ ЗУБА И КОЖИ ЧЕЛОВЕКА**THz transmission and reflection spectra of pathologic lens, hard tissues and skin of human.*****Езерская А.А.¹, Смолянская О.А.¹, Гончаренко А.О.², Романов И.В.³***

1 – НИУ ИТМО, 197101, Санкт-Петербург, пр. Кронверкский, д.49

2 – Краснодарский филиал ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н.Федорова», 350012, Краснодар, ул. Красных партизан, 6

3 – НИУ ТГУ, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36.

Тел.: +7(812) 323-64-37; e-mail: a.a.ezerskaya@gmail.com

Влияние терагерцового излучения на биологические объекты в целом, и на биополимеры в частности, является очень интересной и перспективной темой для исследования особенно в области диагностики.

На сегодняшний день диагностика таких патологий, как кариеса зубов человека, катаракта хрусталика глаза и различные дерматиты представлена недостаточно точными, безопасными и удобными методами. Терагерцовое излучение, как известно, обладает высокой проникающей способностью, разрешением порядка 100 мкм и оно безопасно для биотканей человека. Поэтому исследование возможности диагностики различных патологий тканей человека в ТГц диапазоне частот является актуальной задачей.

В ходе экспериментов были исследованы катарактально изменённые хрусталики, твёрдые ткани зуба человека и кожа человека. Измерения терагерцовых спектров пропускания и отражения объектов проводилось при помощи терагерцового спектрофотометра в диапазоне частот 0,1-2 ТГц.

Было установлено, что среднее пропускание в эмали, поражённой кариесом, составляет порядка 10%, для здорового дентина в среднем порядка 30%, а для здоровой эмали – порядка 40%. Для кариозных твёрдых тканей зуба были установлены характерные линии поглощения – 0,66 ТГц и 0,77 ТГц.

Также было выяснено, что отражение ТГц излучения диапазона частот от 0,6 до 0,9 ТГц от катарактально изменённого хрусталика с 4-й степенью плотности ядра составляет 20-30 %, в то время как отражение от катарактально изменённого хрусталика с 3-й степенью плотности ядра составляет порядка 5-15 %. Сигнал, формируемый ТГц импульсами, отраженными от образца хрусталика, отличается для образцов с разной степенью помутнения таким образом, что даёт возможность точно определить расположение плотности в хрусталике.

Терагерцовый спектр отражения здоровой кожи не имеет особенностей в диапазоне 0,1 – 2 ТГц. Однако важно отметить, что амплитуда характерной линии отражения около 1,87 ТГц для ожога кожи I степени в 7 раз больше, чем для здоровой, и в 2 раза больше, чем для ожога II степени. Получены спектры отражения как для кожи с перевязочным средством, так и без. Получены спектры отражения с характерными линиями для таких дерматитов, как крапивница (1,1 и 1,42 ТГц), гематома (1,62 ТГц), химический ожог (1,1 и 1,84 ТГц), пигментное пятно (1,43, 1, 62 и 1, 69 ТГц), папиллома (1, 62 и 1, 69 ТГц).

Очевидно что, используя методику терагерцовой диагностики можно отслеживать процесс заживления дерматитов в том числе через перевязочное средство, в частности и ожогов, in-vivo.

Исследования терагерцовых спектров пропускания катарактально изменённых хрусталиков различной степени плотности показали возможность применения такого излучения в офтальмологии и стоматологии для диагностических целей.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОНИКНОВЕНИЯ ЗОЛОТЫХ НАНОЧАСТИЦ С РАЗЛИЧНЫМ ПОКРЫТИЕМ В РАКОВЫЕ КЛЕТКИ**Study of penetration of gold nanoparticles with various coatings into cancer cells**

В.В. Елагин^{1,2}, Н.И. Евтеева², Е.А. Сергеева³, М.Л. Бугрова², Д.В. Южакова¹, В.А. Найточенко⁴, Е.В. Загайнова²

¹ Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород

² Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород

³ Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород

⁴ Институт химической физики РАН, Москва

Тел.: +7(831)465-41-13, факс: +7(831)465-42-23, e-mail: elagin.vadim@gmail.com

Благодаря своим уникальным оптическим свойствам золотые наночастицы являются перспективным инструментом для диагностики и терапии онкологических заболеваний. Однако особенности взаимодействия золотых наночастиц с опухолевыми клетками и механизмы их проникновения остаются изученными не до конца.

В связи с этим целью данной работы являлось исследование влияния типа покрытия наночастиц на их способность проникать в раковые клетки в условиях *in vitro*.

Исследование выполнено на клетках линии SKOV-3 (рак яичников человека). Золотые наночастицы представляли смесь наносфер и наностержней с пиком плазмонного резонанса на 820 нм. Частицы покрывали плуроником и хитозаном. Взаимодействие наночастиц с клетками исследовали методами трансмиссионной электронной (ТЭМ) и многофотонной флуоресцентной микроскопии (МФМ). Возбуждение нелинейной люминесценции осуществляли фемтосекундным лазером с длиной волны 800 нм, регистрацию люминесценции проводили в диапазоне 565-615 нм. Образцы исследовали через 1,5, 3 и 6 часов инкубации с наночастицами.

Методом МФМ было обнаружено, что через 1,5 часа инкубации наночастицы, покрытые плуроником, располагаются в виде крупных агрегатов на наружной поверхности мембраны и в цитоплазме клеток. Данные ТЭМ это подтвердили, а также показали, что частицы способны проникать в ядра клеток. В ряде образцов были обнаружены участки инвагинации мембран, содержащие наночастицы, и соответствующие поздним стадиям эндоцитоза. ТЭМ показала, что через 3 часа количество наночастиц в цитоплазме клеток снижается, а в кариоплазме, напротив – увеличивается. Наночастицы, покрытые хитозаном, через 1,5 часа инкубации в клетках практически отсутствовали. Однако ТЭМ показала, что наночастицы располагаются в цитоплазме и кариоплазме. Увеличение времени инкубации сопровождалось увеличением количества наночастиц как в цитоплазме, так и в кариоплазме.

Таким образом, в ходе исследования было установлено, что способность наночастиц проникать в опухолевые клетки *in vitro* и характер их внутриклеточного распределения зависит от типа покрытия.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (ГК №№ 02.740.11.0713, 16.512.11.2053, договор № 11.G34.31.0017), РФФИ (проект № 12-02-00914).

**ВОЗДЕЙСТВИЕ СЛАБЫХ ПЕРЕМЕННЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ
НА РЕГЕНЕРАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ ПЛАНАРИЙ****The effects of weak alternating magnetic fields on the regenerative process of
planarians****Ермаков А.М., Белова Н.А.**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук,
142290, Московская обл., ул. Институтская, д.3.

Тел.: +7(4967)739425; факс: +7(4967)33-05-53; e-mail: ao_ermakov@rambler.ru

К настоящему времени установлено, что низкочастотные переменные магнитные поля с амплитудой превышающей 10^{-4} Тл способны оказывать воздействие на биологические системы, в то время как даже принципиальная возможность биологического действия магнитных полей с более низкими амплитудами часто ставится под сомнение. Анализ имеющихся экспериментальных данных, накопленных в настоящее время, тормозится из-за отсутствия ясных представлений относительно соотношения между параметрами магнитных полей и их «биологической эффективностью», т.е., фактически, из-за отсутствия данных о механизмах взаимодействия таких полей с биосистемами. Особенно важным является вопрос о биологических механизмах подобного воздействия.

В данной работе мы исследовали биологические механизмы воздействия слабых комбинированных переменных магнитных полей (СКМП) настроенных на различные мишени в режиме магнитного параметрического резонанса В.В. Леднева. В качестве биологической модели использовали пресноводных плоских червей планарий, обладающих уникальной способностью к регенерации за счет соматических стволовых клеток.

В результате исследования показано, что СКМП, настроенные на ядерные спины биологически важных элементов, таких как ^{23}Na , ^{39}K , ^{31}P , ^{63}Cu , ^{55}Mn , ^{59}Co , ^{35}Cl на скорость регенерации планарий. Показано, что спины ядер этих атомов могут служить первичными мишенями действия СКМП, настроенных в режиме параметрического резонанса. В работе показано, что СКМП в диапазоне амплитуд 10^{-9} – 10^{-6} Тл оказывают существенное влияние (стимуляцию или ингибирование) на регенерацию планарий. При исследовании зависимости величины скорости регенерации планарий от амплитуды (при фиксированной частоте поля) и от частоты (при фиксированной амплитуде поля) получено, что величина биологического эффекта СКМП определяется не абсолютными значениями параметров поля, а соотношением амплитуда/частота. Получено экспериментальное подтверждение того, что первичными мишенями действия СКМП с амплитудами 10^{-9} – 10^{-6} Тл являются спины ядер атомов водорода и магнитные моменты, создаваемые орбитальным движением электронов в атомах. Также показано, что СКМП настроенные на резонанс для ионов Ca^{2+} способны существенно и быстро изменять у планарий экспрессию генов, отвечающих за клеточный цикл стволовых клеток.

Работа поддержана грантом РФФИ № 11-04-01649-а.

**НИЗКОТЕМПЕРАТУРНАЯ ГАЗОВАЯ ПЛАЗМА – КАК СТЕРИЛИЗАТОР И АКТИВАТОР
БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ**

**The low-temperature gas plasma – as sterilizator and activating agent of
biological process.**

**Ермаков А.М.¹, Маевский Е.И.¹, Селезнева И.И.¹, Ермакова О.Н.¹, Хижняк
Е.П.¹, Петров О.Ф.², Васильев М.М.², Дидковский Н.А.³, Малашенкова И.К.³,
Лаженицын А.И.⁴**

¹ - Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, 142290, Московская обл., ул. Институтская, д.3.

² - Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Объединенный институт высоких температур РАН, 125412, г. Москва, ул. Ижорская, д.13, стр.2

³ - НИИ Физико-химической медицины, 119992, г. Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а.

⁴ - НПЦ Плазменных технологий, 117049, г. Москва, ул. Крымский Вал, д.3, стр. 1.
Тел.: +7(4967)739425; факс: +7(4967)33-05-53; e-mail: ao_ermakov@rambler.ru

Исходно воздействие низкотемпературной газовой плазмы (НГП) предназначалось для уничтожения микроорганизмов в инфицированных ранах при минимизации повреждения клеток тканей самой раневой поверхности. Литературный анализ результатов воздействия НГП при изменении режимов облучения показывает, что он имеет три порога при развитии ответной реакции клеток тканей животных: а) при обработке низкой дозой плазмы все клетки выживают, б) средняя доза ведет к гибели части клеток, и при этом наблюдается терапевтический эффект в виде стерилизации (бактерицидное действие), в) высокая доза облучения НТАП может привести к гибели и микробных, и животных клеток. В наших исследованиях минимизация воздействия НГП привела к обнаружению на фоне стерилизующего эффекта стимуляции регенераторных процессов на уровне целостного организма, а также стимуляции иммунного ответа в условиях *in vitro*. **Возможно, НГП оказывает воздействие на биологические процессы посредством включения широкого спектра биологических механизмов.** Однако вероятность селективного, «точного» влияния НГП на строго определенные клеточные процессы никем не выяснена. Возможность реализации подобного воздействия представляет интерес для многих фундаментальных и прикладных областей биологии и медицины.

На примере биологической модели - пресноводных плоских червей планарий, обладающих уникальной способностью к регенерации за счет соматических стволовых клеток, а также на примере модельных трофических язв у крыс нам удалось обнаружить, что некоторые режимы обработки НГП, генерируемой различными плазмотронами, на фоне стерилизующего эффекта способны существенно активировать регенеративные процессы на уровне целостного организма. При этом эффект реализовывался как на уровне активации пролиферации соматических стволовых клеток у планарий и эпителиальных – у крыс, так и на уровне активации экспрессии генов, отвечающих за регуляцию и контроль клеточного цикла. Таким образом, НГП способна не только к киллерному действию на патогенные бактериальные клетки, но и стимуляции ранозаживляющих и регенераторных процессов, что успешно может быть применено в клинической практике.

Работа поддержана грантом ФНМ № 01201256032 и грантом МинОбрНауки № 16.740.11.0191.

НЕМОНОТОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ ГЕРБИЦИДА ГЛИФОСА**Nonmonotonic variation some physiological and biochemical parameters of wheat shoots under effect of herbicide Glyphosate****Ерофеева Е.А.**

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23
Тел.: +7(381)465-62-43; факс: +7(381)465-22-08; e-mail: ele77785674@yandex.ru

Известно, что реакция биосистем при возрастании силы воздействующего фактора может быть немонотонной, то есть зависимость, доза-эффект может иметь две и более фазы. Различные параметры растений широко используются в биоиндикации. Однако характер зависимости состояния растительного организма от дозы большинства поллютантов практически не изучен. Широко распространенными загрязнителями окружающей среды являются гербициды. В связи с этим нами было изучено изменение ряда показателей состояния проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.) при действии гербицида Глифоса (N-(фосфометил)глицин) в широком диапазоне концентраций (от сублетальных концентраций до в десятки раз меньших) в условиях эксперимента. У восьмидневных проростков пшеницы 13 опытных групп, выращенных на растворах гербицида с концентрациями от $2.44 \cdot 10^{-6}$ до 0.01 г/л (соседние концентрации различались в 2 раза), определяли интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) по содержанию малонового диальдегида (МДА), уровень фотосинтетических пигментов в первом листе, а также сухую биомассу корневой системы и побега. Кроме того, была изучена устойчивость проростков к дополнительному стресс-фактору на примере осмотического шока, вызванного погружением корневой системы растений в насыщенный раствор хлорида натрия.

При возрастании концентрации токсиканта в растворе было выявлено двухфазное (устойчивость к осмотическому шоку) или многофазное (интенсивность ПОЛ, содержание каротиноидов, сухая биомасса корневой системы и побега) изменение для большинства изученных показателей проростков ($p < 0.05$) и аналогичная четко выраженная тенденция для уровня хлорофиллов ($p > 0.05$). При повышении содержания гербицида в растворе наблюдалось чередование снижения содержания МДА и каротиноидов (по сравнению с контролем) с нормализацией данных показателей. При этом данные параметры были положительно взаимосвязаны (по Пирсону: $r = 0.60$; $p = 0.034$), что вероятно обусловлено антиоксидантной функцией каротиноидов. Зависимость сухой биомассы растений от концентрации токсиканта имела аналогичный характер. Гербицид вызывал двухфазное изменение доли проростков, не потерявших тургор в гиперосмотическом растворе хлорида натрия. В первую фазу этот показатель возрастал (до 2 раз по сравнению с контролем; $p < 0.05$), во вторую – нормализовался ($p > 0.05$). Таким образом, изменение большинства изученных показателей растений при действии гербицида Глифоса имело немонотонный характер, что следует учитывать при проведении фитоиндикации.

КИНЕТИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ РАЗВИТИЯ СПОНТАННОГО ЛЕЙКОЗА У МЫШЕЙ ЛИНИИ AKR И ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ.**Kinetic regularities in the development of spontaneous leucosis in AKR mice and the effect of different physico-chemical agents.****Ерохин В.Н., Кременцова А.В., Семенов В.А., Бурлакова Е.Б.**

- Институт биохимической физики им. Н.М.Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4
Тел.: +7(495)939-71-78; факс: +7(495)939-71-34; e-mail: valeri@sky.chph.ras.ru

В работе изучалось влияние γ -облучения в малых дозах на возникновение и развитие злокачественных новообразований – одного из основных отдаленных последствий биологического действия радиации, а также проводился поиск физико-химических агентов, снижающих лейкозогенное действие такого облучения. Исследовалось влияние γ -облучения в дозах 1,2 и 2,4 сГр на развитие спонтанного лейкоза у мышей линии AKR (1). Такие лейкозы по происхождению и течению заболевания наиболее близки лейкозам человека. Ранее нами было проведено подробное кинетическое исследование развития этого лейкоза. Получены кинетические кривые изменения гематологических показателей и спектры ЯМР лимфоцитов на разных стадиях их дифференцировки (2). Оценивалась продолжительность жизни и частота возникновения заболеваний в контрольных и опытных (действие облучения) группах. Получены кривые выживаемости (доля живых животных – возраст). Низкоинтенсивное γ -облучение привело к достоверному ускорению лейкозного процесса (в 1,3 раза), уменьшению средней (примерно на 20 суток) и максимальной (на 120 суток) продолжительности жизни животных, увеличению процента возникновения лейкоза. В связи с проблемой поиска препаратов, снижающих лейкозогенное действие низкоинтенсивного облучения, было исследовано влияние на развитие лейкоза AKR антиоксиданта фенозана - β -(4гидрокси-3,5-дитретбутилфенил)пропионовой кислоты в терапевтической (10^{-4} моль/кг) и сверхмалой (10^{-14} моль/кг) дозах при четырехкратном введении с интервалом в одни сутки (3). Данный препарат вызвал достоверное увеличение средней продолжительности жизни (на 37 суток в дозе 10^{-4} моль/кг и более чем на 40 суток в дозе 10^{-14} моль/кг). Также снизился процент возникновения лейкозов (примерно на 6 %). Полученные данные свидетельствуют о том, что антиоксиданты в малых и сверхмалых дозах могут выступать как перспективные агенты при длительном применении в профилактических целях для защиты от канцерогенных факторов окружающей среды.

1. Бурлакова Е.Б., Ерохин В.Н. / Радиационная Биология. Радиозэкология, 2001. Т.41. Вып. 4. С.385-388.
2. Ерохин В.Н., Бурлакова Е.Б. / Радиационная Биология. Радиозэкология, 2003. Т.43. Вып. 2. С.237-241.
3. Ерохин В.Н., Кременцова А.В. и др. Известия РАН, сер. биол., 2007. №5. С.583-590.

НОВЫЙ ЭФФЕКТИВНЫЙ ФОТО- И НЕЙТРОНОСЕНСИБИЛИЗАТОР НА ОСНОВЕ КОНЬЮГАТА ХЛОРИНА E₆ С БИС(ДИКАРБОЛЛИДОМ)КОБАЛЬТА**New efficient photo- and neutronsensitizer based on the conjugate of chlorin e₆ with cobalt bis(dicarbollide)****А. В. Ефременко^{1,2}, Д. Э. Ермакова^{3,2}, М. А. Грин², А. Ф. Миронов², И. Б. Сиваев⁴, В. И. Брегадзе⁴, А. В. Феофанов^{1,2}**

¹ – Биологический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова,
119234, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12;

² – Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10;

³ – МГУ тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова,
119571 Москва, пр-т Вернадского, 86;

⁴ – Институт элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова РАН,
Москва, 119991 Москва, ул. Вавилова. 28

Тел.: +7(495)336-64-55; e-mail: avfeofanov@yandex.ru

Поиск эффективных способов лечения онкологических заболеваний является одной из приоритетных задач современной медицины. Новые щадящие методы лечения рака, такие как фотодинамическая и бор-нейтронозахватная терапии (соответственно ФДТ и БНЗТ), находят все более широкое применение в клинической практике. Безусловными преимуществами ФДТ и БНЗТ являются: локальность воздействия (здоровые ткани оказываются не затронутыми); возможность амбулаторного лечения; отсутствие послеоперационных швов и сохранение эстетики, структур и функции органа без применения пластики; отсутствие или снижение системного неблагоприятного воздействия на организм (тошнота, рвота, стоматит, выпадение волос, угнетение кроветворения и т.д.). Успешное развитие ФДТ и БНЗТ требует разработки фотосенсибилизаторов (ФС) и нейтроносенсибилизаторов (НС) нового поколения с высоким избирательным накоплением в раковых клетках.

Мы представляем результаты разработки конъюгатов природного хлорина e₆ с наночастицами бора в качестве агентов для ФДТ и БНЗТ. В результате оптимизации структуры нанокластеров бора и линкера, соединяющего их с хлорином e₆, нами получен новый бор-содержащий конъюгат, способный наиболее эффективно проникать и накапливаться в клетках аденокарциномы легкого человека А549. Конъюгат диффузно распределяется по цитоплазме и концентрируется в лизосомах. Внутриклеточная концентрация 10⁹ атомов бора на клетку, необходимая для эффективной БНЗТ, достигается уже при внеклеточной концентрации конъюгата 0,5 мкМ. Конъюгат сохраняет способность хлорина e₆ к фотоиндуцированной генерации синглетного кислорода с квантовым выходом $\phi(^1O_2)=0,72$, но не образует гидроксил-радикалов. В согласии с высоким $\phi(^1O_2)$ и значительной способностью накапливаться в раковых клетках конъюгат проявляет фотоиндуцированную цитотоксичность в наномолярных концентрациях (LD₅₀=55 нМ, LD₉₀=85 нМ), что делает его привлекательным фотосенсибилизатором для ФДТ. Без активирующего воздействия (нейтроны, свет) конъюгат не токсичен для клеток в широком диапазоне концентраций. Благодаря собственной флуоресценции и высокому накоплению в раковых клетках конъюгат применим для флуоресцентной диагностики рака.

Новый конъюгат является перспективным полифункциональным агентом для БНЗТ, ФДТ и флуоресцентной диагностики рака.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 10-04-01436.

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ДИНАМИКИ
ЛИЗИСА ФИБРИНОВОГО СГУСТКА IN VITRO****Experimental investigation of spatial dynamics of fibrinolysis in-vitro in the presence of
urokinase and streptokinase**

***Жалялов А. С.*¹, *Атауллаханов Ф.И.*^{1,2}, *Пантелеев М.А.*^{1,2}**

¹ – Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, физический факультет, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2

² – Гематологический научный центр РАМН, 125167, Москва,
Новый Зыковский проезд, д.4а

Тел. +7(495)7061838; e-mail: ansaril3g@gmail.com

Система фибринолиза, представляющая собой каскад протеолитических ферментов, является одной из жизненно необходимых ферментативных систем нашего организма. Её основная задача – разрушение фибриновых сгустков, образующихся в нашей крови - по своей сути является принципиально пространственно-неоднородной. Патологии в работе системы фибринолиза могут приводить как к тромбозам сосудов, так и тяжелейшим кровотечениям. Используемые на данный момент в клинической практике фибринолиз-тесты не учитывают пространственную динамику фибринолиза. Задачей данного исследования было изучение процесса фибринолиза в диффузно-реакционной системе.

Тканевый фактор иммобилизованный на поверхность активировал систему свертывания в плазме, содержащей тромболитические препараты (стрептокиназа, урокиназа), которые запускали систему фибринолиза. Рост и лизис сгустка наблюдали при помощи видеомикроскопии. Замерялись кинетические параметры распространения волн коагуляции и лизиса.

Рост сгустка начинался на активаторе. Через некоторое время лизис сгустка, причем в зависимости от типа препаратов и их концентраций динамика лизиса качественно различалась.

Были выявлены следующие факты:

1) Добавление тромболитического препарата ускоряет процесс свертывания (начальная скорость распространения волны коагуляции в присутствии СК составляет 65±5 мкм/мин, без СК 51±3 мкм/мин, исследование проведено на плазмах 15 здоровых доноров).

2) При наличии тромболитического препарата, в плазме наблюдаются спонтанная активация свертывания по всему объему плазмы (без препарата, данного эффекта не наблюдается). Выявлена дозозависимость активации протромбина урокиназой.

3) Обнаружено, что пространственная динамика лизиса качественно различается для различных типов активаторов и их концентраций. В одних случаях волна лизиса начинается на активаторе и бежит от активатора за волной коагуляции, в других - волна лизиса начинается внутри сгустка и движется в 2 стороны (к активатору и вслед за волной коагуляции).

**FLIM FRET ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ:
ОТ КЛЕТКИ К ОРГАНИЗМУ****FLIM-FRET of proteolysis: from a cell to a body****Жердева В.В., Горященко А.С., Лапшин Г.Д., Савицкий А.П.**

Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, 119071, Москва, Ленинский пр., 33, стр.2
Тел. +7(495)954-87-25, +7(495)954-65-12, e-mail: apsavitsky@inbi.ras.ru

Визуализация и количественная оценка ферментативной активности на уровне клетки и живого организма являются актуальными задачами современного биоимиджинга. Использование метода FLIM FRET, в основе которой лежит получение изображений с распределением времен жизни флуорофора (FLIM) и флуоресцентный резонансный перенос энергии (FRET), обеспечивает высокое пространственное (нанометры) и временное разрешение (наносекунды) сигнала, что позволяет улавливать молекулярные события. Данный подход является высокоинформативным и не зависит от концентрации флуорофора и фоновой флуоресценции [1].

В нашей работе была осуществлена регистрация протеолитической активности каспазы-3, ключевого фермента апоптоза, в живых клетках с использованием конфокального микроскопа с временным разрешением MicroTime-2000 (Picoquant, Германия) и на опухолевых моделях животных на конфокальной сканирующей FLIM системе DSC-120 (Becker & Hickl GmbH).

Объектом исследований являлась трансдуцированная клеточная опухолевая линия A549-(TagRFP-23-KFP), экспрессирующая субстрат каспазы-3 (TagRFP-23-KFP) на основе цветных флуоресцирующих белков TagRFP (584нм) и KFP(595 нм). Полученные опухолевые клетки A549-(TagRFP-23-KFP) инокулировали подкожно мышам линии *nude*. Имиджинг протеолитической активности каспазы-3 был получен как распределение усредненного времени жизни молекулы TagRFP (донора), которое изменялось от 1.8-2.1 нс для нерасщепленного субстрата и до 2.4-2.6 нс для расщепленного субстрата после индукции апоптоза. Появление долгоживущей компоненты при расщеплении соответствовало времени жизни TagRFP в несвязанном состоянии [2].

Таким образом, показано, что метод FLIM FRET обладает высоким пространственно-временным разрешением и позволяет разделять флуорофоры с близлежащими максимумами флуоресценции по времени жизни как на клетках, так и на животных моделях.

Работа выполнена при поддержке ГК № 16.512.11.2137 Министерства образования и науки в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России».

1. W.Becker. Fluorescence life-time imaging – techniques and applications. J. Microscopy, 2012, Doi: 10.1111/j.1365-2818.2012.03618.

2. A.P. Savitsky, A.L. Rusanov, V.V. Zherdeva, T.V. Gorodnicheva, M.G. Khrenova and A. V. Nemukhin. FLIM-FRET Imaging of Caspase-3 Activity in Live Cells Using Pair of Red Fluorescent Proteins. Theranostic, 2012, v. 2, №2, pp.215-226. doi:10.7150/thno.3885

**ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ
ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ****Different agents influence on Photodynamic effect efficiency****Жорина Л.В., Змиевской Г.Н**

Московский государственный технический университет им. Н.Э. Баумана,
105005, Москва, 2^{ая} Бауманская ул., д.5,
Тел.: (499) 263-61-13, факс (499) 263-62-52, e-mail: larisa7777@li.ru

Несмотря на успехи применения фотодинамической терапии (ФДТ) различных патологий, всё ещё актуальным остаётся поиск способов повышения её эффективности при разработке и внедрении новых фотосенсибилизаторов (ФС). Уменьшение периода накопления ФС в патологии весьма актуально, поскольку все ныне используемые для ФДТ реагенты в той или иной степени токсичны для организма. Вместе с тем весьма важно снижение побочных воздействий при одновременном уменьшении удельной энергии деструкции, т.е. дозы облучения, приходящейся на единицу массы уничтоженных патологий.

Нами было исследовано влияние различных факторов на эффективность фотодинамического действия (ФДД): изменение режима облучения клеток с ФС, модифицирование ФДД с помощью коллоидных золота и серебра и фосфолипидных мицелл. В качестве ФС был выбран Радахлорин. Эксперименты проводились на суспензии эритроцитов, стабилизированных гепарин-натрием. Облучение проводилось светодиодной матрицей сферической формы с максимумом спектральной плотности на длине волны 665 нм.

В первой серии экспериментов проводилось сравнение ФДД непрерывного и импульсного режима облучения. Импульсный режим реализовывался на частотах 1, 2, 5, 10, 24, 50, 100, 1000 Гц со скважностью 50 и 75%. Смесь суспензии эритроцитов с ФС облучалась в течение времени, соответствующего порогу ФДД, определенному ранее. После этого проводилось измерение динамики гибели эритроцитов. Обнаружено, что в пределах ошибки измерений эта динамика для различных режимов не различается.

В другой серии экспериментов к инкубированным с ФС клеткам добавлялись коллоидное золото или серебро с дальнейшим продолжением инкубации в течение 10 минут, после чего строилась кривая зависимости доза-эффект при непрерывном режиме облучения. Обнаружено, что добавление коллоидного золота снижало пороговую дозу ФДД, а коллоидное серебро либо не меняло, либо увеличивало её. Результаты показывают, что коллоидное золото может быть использовано в качестве катализатора ФДД ФС.

Проводились также эксперименты по изучению ФДД на взвеси эритроцитов с добавлением липидных мицелл. Обнаружено, что повышенное содержание липидов в смеси существенно увеличивает дозу начала ФДД. Измерение спектров поглощения сенсibilизированной суспензии эритроцитов с добавлением мицелл до и после облучения при летальной дозе выявило отсутствие пика облучения пика в районе 320 нм. Этот пик, вероятно, принадлежит липидам, и факт его отсутствия после облучения приписывается нами окислению липидов в процессе ФДД.

ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ В РЕАКЦИИ АНТИГЕН-АНТИТЕЛО**Журавлев А.И., Ярош О.Г.**

Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И.Скрябина,
109472, Москва, ул. Акад.Скрябина, д.23, Тел. 8(495)377-77-16, 451-70-84;
e-mail:mitinki@mail.ru

Wentworth A., Jones L., Landa K. (PHAS,2000,vol 97,№20,p10930-10935) обнаружили, что все изученные ими антитела, содержащие триптофан и -S~H группы – иммуноглобулины G-JgG, в реакции антиген-антитела сенсibilизированных животных образуют супероксиданион радикал $\overset{\ominus}{\text{O}}_2$ с последующим его превращением в перекись водорода и синглетный кислород - $^1\text{O}_2$. Авторы утверждают, что иммуноглобулины могут не только узнавать, связывать и транспортировать антиген, но и «убивать» - уничтожать антигены. Авторы показали, что одно электронное восстановление кислорода антителами происходит без участия металл промежуточных окислительных процессов.

О.Г. Ярош и А.И. Журавлев обнаружили Спонтанное Сверхслабое Свечение-ССС в реакции сыворотки крови крыс, сенсibilизированных антигеном – альбумином человека + антиген.

Показано, что при взаимодействии сенсibilизированной сыворотки+антиген интенсивность СССР, равная 131 ± 12 имп/10с значительно превышает интенсивность СССР при взаимодействии антиген+сыворотка несенсibilизированных животных, равная всего 49 ± 19 имп/10с. Усиление свечения начинается сразу после сливания реагентов и начинает снижаться через 15-20 минут. При хранении реагентов эффект сохраняется 2-3 суток. Такое длительное свечение может определяться активацией свободно-радикального окисления липидов.

Возможность JgG – регулировать свободно-радикальное окисление показывает его антиокислительная активность за счет наличия сульфгидрильных - S~H групп.

**ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ КРОЛИКОВ
ПРИ ДЕЙСТВИИ НЕТЕПЛОВЫХ ЭМИ СВЧ****Functional state of the rabbits under influence of non-thermal electromagnetic radiation****Журавлев Г.И.**

Институт биофизики клетки РАН, 142290, Пущино, ул. Институтская, 3
Тел.: +7(4967)73-91-17; факс: +7(4967)33-05-09; e-mail: genzhur1@rambler.ru

В хронических экспериментах на 20 кроликах исследовалась динамика реакций ЦНС при действии нетепловых ЭМИ с различными временными режимами облучения и частотой модуляции. В каждом опыте проводили полиграфическую регистрацию электрографических коррелятов функционального состояния животных: электроэнцефалограммы (ЭЭГ), электрокардиограммы и пневмограммы. Кроликов облучали микроволнами 800 МГц с импульсной модуляцией 2-5, 8 и 16-32 Гц при скважности 30, средней ППЭ 0.5 мВт/см² в непрерывном режиме (5 мин) и прерывистом циклами (ЭМИ + пауза): 5 x (60 + 60) с, 10 x (30+30) с. В каждой серии из 4-5 опытов использовалась одна комбинация параметров ЭМИ. Анализировали реакции каждого кролика в фоне до ЭМИ, на включение, действие и выключение ЭМИ и в последствии.

Немодулированные ЭМИ при непрерывной экспозиции и ППЭ до 5 мВт/см² не изменяли физиологические параметры функционального состояния и поведение животных, а в прерывистом режиме - достоверно увеличивали время тормозных состояний. На включение модулированного ЭМИ в периоды переходных состояний (дремота, поверхностный сон, пробуждение) у животных регистрировали реакции активации в виде задержки дыхания на вдохе (апноэ) и реакции десинхронизации в ЭЭГ. При ЭМИ с модуляцией 2-5 Гц латентный период реакций активации варьировал в пределах 1-2 с, а при 16-32 Гц – 2-5 с. При модуляции 2-5 Гц у 30% животных в ряде повторных опытов ЭМИ вызывало сильное возбуждение в ЦНС вплоть до оборонительной реакции. Продолжающееся облучение после реакций активации на включение ЭМИ. формировало реакции адаптации тормозного типа, при этом происходил сдвиг доминирующих частот ЭЭГ в нижнюю часть спектра, усиливались медленные составляющие ЭЭГ, снижались частота дыхания и сердцебиений. Значительно сильнее эффекты ЭМИ проявлялись при прерывистом режиме облучения, когда увеличивалась вероятность совпадений экспозиций поля с периодами переходных состояний и возникали условия для квазирезонансного действия на ЦНС. При совпадении моментов включения и выключения ЭМИ с переходными состояниями ЦНС, ритм смены состояний покоя и активности перестраивался под ритм прерывания ЭМИ, и реакции активации возникали в последствии через периоды, равные паузам в экспозиции ЭМИ. Длительность паузы заметно влияла на функциональное состояние кроликов.

Предполагается, что прерывистое импульсно-модулированное ЭМИ может обладать квазирезонансными свойствами за счет системных механизмов адаптационных реакций организма животных к внешним воздействиям.

ВЛИЯНИЕ ПРЕПОСЕВНОГО Г-ОБЛУЧЕНИЯ СЕМЯН АМАРАНТА [AMARANTHUS L.] НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И ЦИТОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СЕМЕННОГО ПОТОМСТВА**Effect of pre γ -irradiation of amaranth seeds [*Amaranthus L.*] on the physiological, cytological and biochemical characteristics of seed progeny****Журавская А.Н., Воронов И.В., Поскачина Е.Р.**

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, 677980, Якутск, пр. Ленина, 41.
Тел.:8(4112)33-55-79; факс: 8(4112)33-58-12; e-mail: jan43@mail.ru

Рассмотрены особенности влияние предпосевного острого облучения γ -квантами ^{60}Co семян амаранта сорта «Чергинский» в диапазоне доз от 0.5 до 1000 Гр на физиологические и цитолого-биохимические характеристики родителей (Р) и семенное потомство первого (F1) и второго (F2) поколений. Установлено, что острое радиационное воздействие по-разному повлияло на физиологические и цитолого-биохимические характеристики, как на Р, так и на F1 и F2. Показано, что стресс, полученный Р, вызвал разбалансирование биохимических процессов в потомстве. В F1 произошло немонокотонно увеличение массы семян и изменение выживаемости 30-ти дневных проростков по всей кривой «доза-эффект», начиная с варианта 50 Гр. F2 статистически достоверно снизило массу семян и выживаемость проростков, относительно Р. В клетках проростков F1 и F2 наблюдалось статистически достоверное снижение активности пероксидазы при всех вариантах острого облучения. Активность супероксиддисмутазы (СОД) в клетках проростков F1 в зависимости от увеличения дозовой нагрузки Р оставалась на одном уровне с контролем, когда как у F2 отмечалось резкое повышение (в 10÷60 раз) активности фермента и увеличение (в 10÷38 раз) содержания низкомолекулярных антиоксидантов (НМАО) во всем диапазоне доз облучения Р. Антиоксидантная защита у F2 возросла за счет активности СОД и увеличения содержания НМАО. Показано, что эффективности работы ДНК и белоксинтезирующих систем клеток при всех дозах облучения Р у потомства F1 и F2 изменялись немонокотонно. Общей тенденцией для обоих поколений явилось повышение геномной активности относительно родителей за счет увеличения включений ^3H -тимидина и ^{14}C -лейцина. Особое внимание привлекает вариант 700 Гр, где значительно увеличена общая активность генома клеток, как у F1, так и у F2. Репаративная способность клеток F1 не имела прямой зависимости от дозы облучения Р, когда как у F2 статистически достоверно была выше, относительно контроля. Скорость деления клеток у F1 и F2 также изменялась нелинейно с общей тенденцией замедления клеточного деления в зависимости от возрастания дозы облучения. Подобные отдаленные последствия действия радиации описаны у многих видов растений. Это связывают с тем, что геном растений вводится в состояние нестабильности за счет стресса, полученного родителями, способного возникнуть в клеточных системах в ответ на действие любых факторов определенной силы, при генетической предрасположенности или спонтанно. Одновременно фиксируется стимуляция или ингибирование биохимических процессов. Механизм этого явления до конца не изучен, но это позволяет найти и вычленить растения по признакам с особенными качествами, необходимыми для дальнейшего отбора. На данном этапе исследований выделено семенное потомство F2 (вариант 700 Гр), где сочетаются достаточно высокие значения общей устойчивости генома (42,7), антиоксидантной защиты (6,8) и репаративной возможности клеток (5,4).

МЕТОДЫ УЛЬТРАБЫСТРОЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ ТОМОГРАФИИ ДЛЯ КОГНИТИВНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**В.В. Завьялова, В.Л. Ушаков, С.И. Карташов, Н.С. Марченков**Национальный Исследовательский Центр «Курчатowskiй Институт»
123182 Россия, Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1, z1315@mail.ru

В работе представлены теоретические исследования в области методов ультрабыстрой функциональной магнитно-резонансной томографии (фМРТ) для исследования когнитивных процессов головного мозга человека, проанализированы стандартные методы для фМРТ и ультрабыстрые последовательности. Показаны экспериментальные данные по различным методам ультрабыстрых последовательностей фМРТ, полученные в НИЦ «Курчатowskiй институт». Данные методы представляют интерес при верификации зон активности нейронов головного мозга человека.

Для более точного и быстрого определения локализации зон активности нейронов головного мозга человека используют методы ультрабыстрой функциональной МРТ, стараясь не ухудшить пространственное разрешение, в тоже время, увеличивая временное разрешение с 2-3 секунд до 500 мсек, что позволяет получать более достоверные результаты, точно узнать какие области мозга ответственны за различные виды когнитивной деятельности и определенные типы функциональных раздражителей (например, звук, свет, тактильное раздражение), построить функциональные сети нейрональной активности [1,2,3]. Таким образом, ультрабыстрые методы фМРТ дают возможность:

- однозначно определять соответствие зон активности головного мозга тем или иным видам когнитивной деятельности;
- верифицировать результаты нейрофизиологического исследования.

В данной работе для исследования когнитивных процессов был использован метод фМРТ с пространственным разрешением 1 мм и временным разрешением 0,8 – 3,0 секунды. В докладе будут приведены результаты экспериментов по визуализации формирования функциональных систем головного мозга на основе применения стандартных методов и методов ультрабыстрой фМРТ. Все данные получены на томографе MAGNETOM Verio 3 Тл на базе НИЦ «Курчатowskiй институт». Для построения развернутых карт головного мозга человека с областями нейрональной активности функциональные и анатомические МРТ-данные были обработаны с помощью программ SPM8 и Caret 5.62.

1. David A. Feinberg, Steen Moeller, Stephen M. Smith, Edward Auerbach et al. Multiplexed Echo Planar Imaging for Sub-Second Whole Brain fMRI and Fast Diffusion Imaging, 2010.
2. Sebastiaan F. W. Neggers, Emo J. Hermans, Nick F. Ramsey. Enhanced sensitivity with fast three-dimensional blood-oxygen-level-dependent functional MRI: comparison of SENSE-PRESTO and 2D-EPI at 3T, 2008.
3. Xavier Golay, Klaas P. Pruessmann, Markus Weiger, Gerard R. Grelier et al. PRESTO-SENSE: An ultrafast whole-brain fMRI technique, 2000.

СВЯЗЬ МИКРОСТРУКТУРЫ ВОДЫ С ФЛУКТУАЦИЯМИ ЕЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ

Coupling the microstructure of water with fluctuations of its physicochemical parameters

Захаров С.Д.

Федеральное государственное учреждение науки
Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН,
119991, Россия, Москва, Ленинский проспект, 53, e-mail: stzakhar@sci.lebedev.ru

Применение малоуглового рентгеновского рассеяния и других прецизионных рентгеновских методов позволило недавно получить свидетельства структурной неоднородности воды на масштабах 1-2 нм [1, 2]. Эти представления вошли в противоречие с концепцией гомогенной воды, сложившейся по результатам моделирования методами молекулярной динамики, и подверглись жесткой критике [3,4]. Тем не менее, имеются доказательства долговременного влияния на воду некоторых физических факторов, необъяснимые в рамках однородной водной структуры, что оправдывают серьезное отношение к новым экспериментальным данным.

В докладе поставлен вопрос о фундаментальной причине спонтанного разбиения воды на два сорта неоднородностей: компоненту с нарушенными водородными связями и флуктуирующие ассоциаты или кластеры с тетраэдрической координацией. Возникает вопрос – как обосновать присутствие в воде структур первого типа? Пространственное распределение электронной плотности в молекуле H_2O не предполагает какой-либо асимметрии в межмолекулярных взаимодействиях, если только игнорировать свойство спиновой изомерии молекулы, влияние которой в энергетическом отношении ничтожно. Пара и орто спин-изомеры молекулы H_2O имеют различную способность формировать ассоциаты, что обусловлено симметричными свойствами их волновых функций. Тетраэдрические ассоциаты из пара-молекул более устойчивы, т.к. последние имеют возможность сбросить избыток энергии в окружение вплоть до полного прекращения вращения благодаря тому, что в основном состоянии их вращательное квантовое число $J = 0$. Орто-молекулы имеют нечетные значения J и такой возможностью не обладают, поэтому с большей вероятностью присутствуют в альтернативных структурах с нарушенными водородными связями.

Будет показано, что требованию тетраэдрической координации отвечают ассоциаты двух различных модификаций, одной из которых является решетка обычного (гексагонального) льда, а другой – структуры из универсальных молекулярных блоков или модулей, участвующих в образовании гидратных оболочек биомолекул. Поскольку их свободные энергии оказываются близкими, эти две формы могут сосуществовать и, следовательно, между ними возможны переходы или осцилляции через структурно неупорядоченную фазу. Такие автоколебания имеют квазипериодический ритм, слабо зависящий от температуры, тогда как их интенсивность по мере охлаждения увеличивается. Структурные автоколебания могут быть источником флуктуаций термодинамических параметров, характеризующих макроскопическое состояние воды, а также активным агентом, синхронизирующим биологические процессы [5].

1. Huang C. et al. / PNAS, 2009, v.106, p.15218.
2. Nilsson A., Pettersson L.G.M. / Chem.Phys., 2011, v.389, p.1.
3. Soper A.K., Teixeira J., Head-Gordon T. / PNAS, 2010, v.107, p.E44.
4. Clark G.N.I., Hura G.L., Teixeira J., Soper A.K., Head-Gordon T. / PNAS, 2010, v.107, p.14003.
5. Захаров С.Д. //Биофизика, 2012, в печати.

**ТЕРМОФЛУКТУАЦИИ В ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯХ
ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ****Fluctuations of temperature in the tumors of laboratory animals****Зиновьев С.В.**ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН» РАМН,
Москва, Каширское шоссе, 24

Тел. +7(499)612-98-94; факс+7(495)324-22-44; e-mail: s777z@yandex.ru

Экспресс-анализ параметров, отражающих функциональное состояние злокачественных новообразований имеет прогностическую ценность, как для проведения исследований в экспериментальной онкологии, так и для онколога-клинициста. Очевидна, так же, необходимость развития технологий динамического контроля *in vivo* чувствительности различных типов опухолей к проводимой терапии.

В отношении новообразований одной из интегральных характеристик их функционального состояния являются термодинамические изменения в опухоли (меняется соотношение интенсивностей процессов термогенерации и термодиссипации на молекулярном, клеточном и тканевом уровне). Флуктуации регистрируемого электромагнитного излучения биообъекта в микроволновом диапазоне происходят вследствие данных термодинамических изменений в биообъекте и могут служить, как диагностическим маркером развития опухолевого процесса, так и эффективности его терапевтической коррекции.

Радиояркая температура в диапазоне 3,0-3,8 ГГц отражает интегрально соотношение теплопродукции и теплодиссипации в злокачественных новообразованиях. Основной вклад в этот баланс вносят процессы метаболизма клеток опухоли и микроциркуляции крови в зоне опухолевого роста. В определённых временных точках развития опухоли происходят кооперативные процессы изменения метаболизма, пролиферации, деструкции (по типу некроза или апоптоза) клеток, изменение характера кровоснабжения опухоли и её взаимодействия с иммунной системой организма.

Оптимизированы режимы регистрации интенсивности теплового излучения внутренних тканей лабораторных животных в микроволновом диапазоне длин волн.

Создана база данных временных последовательностей данного параметра для различных экспериментальных модельных систем и видов терапевтического воздействия на них. На основе методов нелинейной динамики (вычисление фрактально-топологических характеристик исследуемого сигнала, нормированной энтропии временного ряда, анализа спектра высших гармоник и д.р.) определены закономерности изменения радиояркой температуры злокачественных новообразований в режиме реального времени на действие различных терапевтических агентов.

Полученные данные позволяют исследовать взаимосвязь процессов с различными собственными характерными временами (например, процессов метаболизма и микроциркуляции). Причём, что особенно важно, в сравнительном аспекте в нормальных тканях и злокачественных новообразованиях

1. Зиновьев С.В. Нелинейные взаимодействия слабого электромагнитного излучения с биообъектами : физические механизмы. / В кн. «Интеллектуальный форум-Открытая дверь». Материалы научно-творческой встречи, 2007г., стр33-38.

2. С.В.Зиновьев, С.Г. Веснин Метод микроволновой динамической топографии первичного очага злокачественных новообразований. / Сибирский онкологический журнал. 2009 г., Приложение №2, С. 80

ИЗМЕНЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ХЛОРОПЛАСТАХ ГОРОХА ПОД ДЕЙСТВИЕМ КРАЙНЕ СЛАБЫХ ПЕРЕМЕННЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ.**The variation of the lipid peroxidation generation in pea chloroplasts under the influence extremely weak alternation magnetic fields.****Знобищева А.В., Сребницкая Л.К., Гомов Е.Е., Скавуляк А.Н., Белова Н.А.**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук (ИТЭБ РАН),
142290, Россия, Московская обл., г. Пущино ул. Институтская д.3
Тел. (4967)73-94-75, факс (4967)330053, e-mail: kli-kli-magic@rambler.ru

Введение. Ранее было показано, что величина биоэффектов крайне слабых переменных магнитных полей (КС ПеМП) в диапазоне амплитуд от 10 до 500 нТл при $f=1000$ Гц имеет полиэкстермальный характер и зависит от параметра $\gamma B_{AC}/f$, где $\gamma=14000$ Гц/мкТл. С использованием в качестве тест-системы гравитропической реакции растений мы показали, что при $f=1000$ Гц максимальные значения биоэффектов наблюдаются при $B_{AC}=64$ и 192 нТл, эффект отсутствует при $B_{AC}=128$ нТл.

Цель работы. Выявление изменений в образовании перекисного окисления липидов (ПОЛ) в хлоропластах гороха, выделенных из растений, экспонированных в КС ПеМП.

Методы. В работе использовали комбинированные КС ПеМП со следующими параметрами: $B_{DC}=42.0$ мкТл, $B_{AC}=64, 128$ и 192 нТл; $f=1000$ Гц. В качестве постоянной компоненты, B_{DC} использовали локальное поле Земли, а переменную компоненту B_{AC} создавали с помощью катушечной пары Гельмгольца. Тест-система: продукты перекисного окисления липидов – диеновые конъюгаты (ДК) и основания Шиффа (ОШ), определялись в суспензиях хлоропластов, выделенных из 14 дневных проростков гороха, экспонированных в КС ПеМП. В одной серии экспериментов в поле помещали срезанные из растительности и помещенные в воду растения. В другой серии – в поле помещали целые растения. Время экспозиции составляло 15, 30 и 60 минут. В качестве контроля использовали растения, находившихся в локальном геомагнитном поле.

Результаты. Экспонирование срезанных проростков гороха в КС ПеМП с амплитудами равными 64 нТл и 192 нТл в течение 15 минут приводит к статистически достоверному снижению ДК и ОШ по сравнению с контрольным уровнем. В результате 30 – минутного экспонирования в КС ПеМП с амплитудами 64 нТл и 192 нТл эффект поля ослабевает, однако остается статистически значимым. В результате 60 – минутного экспонирования срезанных проростков гороха – количество ДК и ОШ в хлоропластах гороха не отличилось от контрольных значений. Экспонирование как срезанных так и целых проростков гороха в течение 15, 30 и 60 минут в КС ПеМП с амплитудой $B_{AC}=128$ нТл не привело к значительному изменению количества ДК и ОШ в хлоропластах гороха.

Показано, что образование продуктов перекисного окисления липидов в хлоропластах гороха, зависит от амплитуды КС ПеМП и времени экспонирования проростков гороха в поле.

ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА КОМПЛЕКСОВ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПОЛУПРОВОДНИКОВЫХ НАНОКРИСТАЛЛОВ CDSE/ZNS И ИХ КОМПЛЕКСОВ С ХЛОРИНОМ Е6 И МЕТА-ТЕТРАГИДРОКСИФЕНИЛХЛОРИНОМ

Photosensitizing properties of water soluble semiconductor nanocrystals complexes with chlorin e6 and meta-tetrahydroxyphenylchlorin

Зорина Т. Е.¹, Кравченко И. Е.¹, Артемьев М.В.², Зорин В.П.¹

¹ – Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, Минск, Беларусь тел.+375172265947 e-mail:vpzorin@mail.ru

² – НИИ ФХП Белорусского государственного университета, г. Минск, Беларусь

Конъюгация полупроводниковых нанокристаллов (НК) с традиционно используемыми в фотодинамической терапии сенсibilизаторами рассматривается как возможный методический подход к созданию новых фотосенсибилизирующих агентов с улучшенными фотофизическими характеристиками. Повышение активности фотосенсибилизаторов в таких комплексах обусловлено процессами переноса энергии с интенсивно поглощающих НК на классический сенсibilизатор с последующим запуском фотохимических реакций с образованием цитотоксических соединений.

Целью нашей работы являлось сравнение спектральных и фотосенсибилизирующих свойств ряда водорастворимых НК и их комплексов с хлорином е₆ (Хл) и с мета-тетрагидроксифенилхлорином (мТГФХ). В работе использовали НК CdSe/ZnS (диаметр ядра 2,6 нм), модифицированные полиэтиленгликолем, меркаптоундекановой кислотой и глутатионом.

Все исследованные НК имеют практически идентичные спектрально-люминесцентные характеристики, стабильность которых зависит от свойств среды. Связывание НК с сывороточным альбумином приводит к значительному увеличению стабильности их фотолюминесцентных свойств. Предполагается, что молекулы белка обволакивают НК, приводя к образованию дополнительного слоя, защищающего нанокристаллы от взаимодействия с компонентами среды и препятствующего агрегации НК в течение длительного времени.

Результаты анализа спектральных характеристик растворов НК при титровании Хл и мТГФХ свидетельствуют об образовании комплексов, что обеспечивает условия для переноса энергии возбуждения между нанокристаллами и порфирином. Эффективность данного процесса, выражающегося в снижении люминесценции донора (НК) и разгорании флуоресценции акцептора (Хл и мТГФХ) зависит от типа пассивации НК.

С использованием ряда флуоресцентных индикаторов синглетного кислорода показано, что характеристики фотоактивности НК существенно зависят от полярности среды и типа гидрофильной оболочки. Связывание НК с Хл и мТГФХ приводит к значительному ускорению сенсibilизированного окисления флуоресцентных индикаторов, при этом величина фотоактивности различных комплексов значительно превышает активность растворов чистых хлориновых фотосенсибилизаторов и коррелирует с интенсивностью процессов переноса энергии возбуждения.

Полученные результаты позволяют предположить, что отличия фотосенсибилизирующих свойств комплексов могут быть обусловлены как влиянием типа поверхностных лигандов на процессы связывания тетрапиррольных фотосенсибилизаторов, так и особенностями релаксационных процессов, влияющих на процессы диссипации энергии в исследуемых комплексах.

**ИЗМЕНЕНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА
МЕТА-ТЕТРА(ГИДРОКСИФЕНИЛ)ХЛОРИНА МЕТИЛ- β -ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ****Alteration of meta-tetra(hydroxyphenyl)chlorin pharmacokinetics by methyl- β -cyclodextrin****Зорин В.П., Кравченко И.Е., Хлудеев И.И., Решетов В.А**

Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, Минск,
Беларусь тел.+375172265947 e-mail:vpzorin@mail.ru

Представлены результаты исследования характеристик комплексов включения фотосенсибилизатора *мета*-тетра(гидроксифенил)хлорина (МТГФХ) с *метил*- β -циклодекстрином ($\text{m}\beta\text{CD}$) в водной среде. Проанализировано влияние $\text{m}\beta\text{CD}$ на процессы распределения молекул фотосенсибилизатора в биологических системах.

Исследования зависимости относительного квантового выхода флуоресценции МТГФХ или величины индуцированного кругового дихроизма от концентрации $\text{m}\beta\text{CD}$ позволяют оценить величину константы ассоциации для исследуемого комплекса включения. В случае рассмотрения модели бимолекулярного комплекса значение данного параметра для разбавленных растворов МТГФХ составляет $3 \cdot 10^6$ моль⁻¹л. Увеличение концентрации МТГФХ сопровождается снижением кажущейся константы ассоциации, что связано с влиянием процессов самоагрегации молекул фотосенсибилизатора. Высокое сродство МТГФХ к $\text{m}\beta\text{CD}$ позволяет рассматривать данное соединение как модификатор процессов распределения фотосенсибилизатора в биологических системах. Действительно, в плазме крови введение даже относительно небольших количеств $\text{m}\beta\text{CD}$ (10^{-5} моль/л) полностью мономеризирует МТГФХ. Возможность предотвращения с помощью $\text{m}\beta\text{CD}$ агрегации фотосенсибилизатора в крови подтверждают также результаты исследования прижизненной флуоресценции мышечной ткани после внутривенного введения фотосенсибилизатора экспериментальным животным. При введении раствора МТГФХ значительная часть фотосенсибилизатора в крови образует агрегаты, по мере их разрушения наблюдается медленный рост интенсивности флуоресценции ткани на протяжении 3-4 часов. В случае использования МТГФХ в смеси с $\text{m}\beta\text{CD}$ максимальное значение интенсивности флуоресценции ткани в полосе испускания МТГФХ достигается уже спустя несколько минут после введения.

$\text{m}\beta\text{CD}$ модифицирует процессы равновесного распределения МТГФХ в сыворотке крови. В контрольных образцах сыворотки МТГФХ практически полностью связывается с основными транспортными белками, при этом около 90 % находится в составе ЛНП и ЛВП. Добавление в сыворотку крови $\text{m}\beta\text{CD}$ приводит к появлению фракции несвязанного с белками МТГФХ. Относительный вес этой фракции увеличивается с ростом концентрации циклодекстрина. Если при концентрации $\text{m}\beta\text{CD}$ в сыворотке крови 10^{-5} моль/л не связаны с белками менее 5 % МТГФХ, то при концентрации 10^{-4} моль/л большая часть молекул фотосенсибилизатора находится в составе комплексов включения с циклодекстрином.

$\text{m}\beta\text{CD}$ ускоряет процессы диффузионной миграции молекул МТГФХ между различными биологическими структурами, включая белки сыворотки крови, биологические мембраны, клетки. Значительное (3-5 раз) увеличение средней скорости перераспределения молекул МТГФХ между белками сыворотки и биологическими мембранами регистрируется при концентрациях циклодекстрина не превышающих 10^{-6} моль/л.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что $\text{m}\beta\text{CD}$ способен образовывать комплексы включения с фотосенсибилизатором МТГФХ как в растворах, так и в различных биологических системах. Высокая эффективность комплексобразования позволяет использовать $\text{m}\beta\text{CD}$ для регуляции агрегационного состояния и процессов биораспределения фотосенсибилизатора при проведении фотодинамической терапии с МТГФХ.

**ИЗМЕНЕНИЕ КОНФОРМАЦИОННОГО СОСТОЯНИЯ ХРОМАТИНА
И ЕГО РЕАКТИВНОСТИ ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ ГАММА-ИЗЛУЧЕНИЯ ^{60}Co** **Conformation chromatin state and chromatin reactivity modification after exposure
to ^{60}Co gamma-radiation****Иванов К.Ю., Хаймович Т.И., Паточка Г.Л., Никанорова Е.А.**

ФГУП Российский Федеральный Ядерный Центр – всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики,
607188, г.Саров, Нижегородская обл., пр.Мира 37
Тел. (83130) 2 52 99, факс (83130) 2 53 00, e-mail: tatiana@orb2.vniief.ru

Представлены результаты исследования изменения конформационного состояния хроматина клеток крови человека и его реактивности после действия гамма-излучения ^{60}Co *in vitro* в течение первых трех часов после облучения.

Образцы крови здоровых доноров подвергали действию γ -излучения ^{60}Co в дозах от 0,5 до 500 сГр с мощностью дозы 0,0327 и 0,1803 Гр/мин. Конформационное состояние хроматина оценивали с помощью метода аномальной временной зависимости вязкости в лизатах клеток крови. Реактивность хроматина определяли по изменению конформационного состояния после теплового шока – предварительного выдерживания образцов крови при температуре 46 С в течение 30 минут.

Установлено, что действие γ -излучения ^{60}Co в диапазоне доз от 0,5 до 500 сГр на клетки крови человека *in vitro* приводило к релаксации ядерного хроматина и к снижению его реактивности, причем, природа этих изменений в разных диапазонах доз различна. В диапазоне доз до 2,5 сГр незначительная релаксация хроматина и слабое снижение его реактивности вызваны формированием неспецифической внутриклеточной реакции на низкоинтенсивные воздействия. В диапазоне доз от 5,0 до 500 сГр дозо-зависимая релаксация хроматина, а также снижение его реактивности обусловлены радиационно-индуцированным повреждением генома.

Выявлено уменьшение радиационно-индуцированных изменений конформационного состояния хроматина и его реактивности в течение первых двух часов после облучения, что объясняется процессами репарации повреждений ДНК. При этом возвращение к норме показателей реактивности хроматина после облучения происходит медленнее, чем показателей его конформационного состояния.

ИССЛЕДОВАНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ИНФРАКРАСНОГО СВЕТА, МОДУЛИРОВАННОГО ЧАСТОТОЙ 101 ГЦ И РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА УРОВЕНЬ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ В КОСТНОМ МОЗГЕ МЫШЕЙ**Study of combined action infrared light modulated at frequency 101 Hz and X-rays on the level of cytogenetic damage in mouse bone marrow****Ивлев Е. Д.**

ННГУ им. Лобачевского, 603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23
Тел.: 8087266475 e-mail: egorivlev@gmail.com

В настоящее время среди агентов, действующих на организм человека и животных, ионизирующее излучение занимает важное место, что связано с особенностями его действия на вещество: оно приводит к мутациям, хромосомным aberrациям, что в конечном итоге приводит к возникновению опухолей, клеточной гибели и соматическим болезням. Наибольший интерес у исследователей в последнее время вызывает феномен адаптивного ответа. Суть радиационного адаптивного ответа заключается в том, что предварительное облучение в низких дозах приводит к повышению устойчивости объекта к последующему воздействию радиации в больших, повреждающих дозах. Если адаптирующая и выявляющая доза являются агентами разной природы, то такой феномен называется перекрестным адаптивным ответом. Целью данной работы являлось: изучение комбинированного действия инфракрасного света, модулированного частотой 101 Гц, и ионизирующей радиации на индукцию перекрестного адаптивного ответа в костном мозге. В исследовании использовались самцы белых беспородных мышей линии SHK в количестве 106 штук. Животные содержались на общем рационе вивария. При проведении исследований мыши были разделены на 7 групп.

Первая группа, в количестве 14 мышей – интактная. Вторая группа была подвергнута облучению ИКС в течение 10 минут. Третья - облучению рентгеновским излучением дозой 1,5 Гр - контрольная. Четвертая - облучению ИКС в течение 10 мин. и через сутки облучению рентгеновским излучением дозой 1,5 Гр. Пятая - предварительному облучению рентгеновским излучением дозой 10 сГр и через сутки 1,5 Гр. Шестая - двум последовательным облучениям дозой 10 сГр и через сутки дозой 1,5 Гр. Седьмая - последовательному облучению ИКС и рентгеновским излучением дозой 10 сГр, и через сутки дозой 1,5 Гр. После облучения у всех животных проводилась оценка цитогенетического повреждения с применением микроядерного теста.

Данные полученные в ходе исследования показали что:

1. Облучение мышей инфракрасным светом, модулированным частотой 101 Гц, не влияло на уровень спонтанных цитогенетических повреждений в костном мозге.
2. Комбинированное воздействие инфракрасным светом и рентгеновским излучением в дозе 1,5 Гр уменьшало уровень цитогенетических повреждений по сравнению с таковым при облучении мышей только одной дозой 1,5 Гр, т.е. наблюдался перекрестный адаптивный ответ.
3. Последовательное адаптирующее воздействие инфракрасным светом и рентгеновским излучением в дозе 10 сГр не влияло на величину перекрестного адаптивного ответа у мышей.

**ВОЛНОВЫЕ ФЛУКТУАЦИИ ГЕОПЛАЗМЫ – БИОФИЗИЧЕСКИЕ ПРЕДВЕСТНИКИ
ЗЕМЛЕТРЯСЕНИЙ И ЭКОКАТАСТРОФ.****Geoplasma's wave fluctuations – biophysical signals of earthquakes and
ecocatastrophes****Инюшин В.М., Мамирова Г.Н.**

Казахский национальный университет им. аль-Фараби
050000, Республика Казахстан, г. Алматы, пр. аль-Фараби, 71, «Биофизика»
Телефон: 8-701-414-79-94, e-mail: g_mamirova@mail.ru

Многолетние исследования с помощью биофизических индикаторов [1] показали, что геоплазма на обширных территориях поверхности земной коры не является изотропной структурой, а имеет многочисленные разветвлённые каналы, в которых плотность частиц может различаться на несколько порядков от фона, а при определённых условиях, например, напряжение земной коры перед сейсмическими событиями, сливаться с фоном. С другой стороны каналы являются проводниками плазменных волн различных частот, которые обладают неповторимой структурой, что отражается на показателях биофизических индикаторов. Особый интерес биофизики представляет изучение распространения одинокой многогранной волны, которая получила название «солитон». Миграция энергии с помощью солитона обоснована в работах известного академика Давыдова (г. Киев). Д.С.Рассел установил основные свойства солитона: постоянство скорости, неизменность формы уединённой волны, зависимость скорости от массы, например, воды.

Сейчас становится ясно, что солитоны могут иметь различные структуры как пирамидальные, так и спиральные и могут возникать в процессе развития сейсмической активности [2]. Для распространения солитонов необходима сплошная среда, каналы геоплазмы как раз являются идеальным субстратом для миграции солитонов огромной разрушительной силы, что произошло при аварии на Саяно-Шушенской ГЭС. О солитонах вспомнили в связи с необходимостью объяснения переноса разрушительной энергии при наступлении торнадо (смерчей) в западных штатах США. Сейчас становится ясно, что солитоны могут иметь различные структуры как пирамидальные, так и спиральные. Для распространения солитонов необходима сплошная среда, каналы геоплазмы как раз являются идеальным субстратом для миграции солитонов огромной разрушительной силы [3].

Биофизическая регистрация солитонов может стать самым надёжным предвестником будущих землетрясений, что позволит формировать оперативные сейсмические прогнозы. Такое утверждение подтверждается многолетним опытом использования биофизических предвестников землетрясений для безопасности г. Алматы.

1. Инюшин В.М. Биоплазменный генератор электричества. ж. Вестник электроэнергетики. М., 1998, № 3, с. 31-32.
2. Инюшин В.М. Биофизические предвестники землетрясений, перспективы антисейсмической защиты. Вестник КазНУ №3 (48). Алматы, 2011. – с. 6-12.
3. Мамирова Г.Н. Биоиндикация геоаномалий в экосистеме. Автореферат кандидатской диссертации. – Алматы: Копитек, 2010. – С. 21.

МОДУЛЯЦИЯ ТРАНСМЕМБРАННОГО ПЕРЕНОСА ВОДЫ ЧЕРЕЗ АКВАПОРИНЫ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК ОСМОТИЧЕСКИМ И ГИДРОСТАТИЧЕСКИМ ДАВЛЕНИЕМ**Modulation of water transmembrane transfer through plant aquaporins by osmotic and hydrostatic pressure**

Ионенко И.Ф., Абдрахимов Ф.А., Суслов М.А., Анисимов А.В.

Институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН,
420111, Казань, ул. Лобачевского 2/31
Тел.: (843)231-90-19; факс: (843)292-73-47; e-mail: ionenko@mail.knc.ru

Первичной мишенью воздействия давления на живые организмы являются клеточные мембраны. Эффекты давления на мембраны связываются в первую очередь с фазовыми переходами липидов [1], которые вторично могут влиять на функции мембранных белков. Несмотря на причастность давления к ростовым и транспортным процессам у растений, очень мало данных по влиянию давления в диапазоне физиологических значений. Большой интерес представляют исследования эффектов давления в связи с выявлением механизмов регуляции водопроводящей активности аквапоринов [2], их роли как сенсоров осмотического и тургорного давления [3]. Целью данной работы было исследовать динамику диффузионного транспорта воды в корнях кукурузы импульсным методом ЯМР после действия давления различной природы (осмотического, гидростатического) и выявить вклад трансмембранного переноса воды через аквапорины в ответной реакции на воздействия.

Показано, что временная реакция гидродинамической системы корня на действие осмотического стресса, создаваемого раствором ПЭГ-6000 (-0.5 МПа), представляет переходный процесс из трех фаз: 1 - быстрой, связываемой с прохождением волны гидродинамического давления (секунды); 2 - перехода к новому равновесному уровню проницаемости плазмалеммы и тонопласта (минуты); 3 - выхода к положению равновесия (свыше 1 часа) с новым повышенным уровнем переноса. Обнаружена зависимость эффекта гидростатического давления (5 – 50 атм) от интенсивности и количества циклов воздействия и снятия давления. Эффект гидродинамического давления, возникающего при действии центробежной силы (до 5 атм), зависел как от приложенной силы, так и от времени и направления измерения диффузии. Предполагается, что ответная реакция корней на действие давления заключается в неодинаковом изменении водопроницаемости тонопласта и плазмалеммы, обусловленном изменением активности аквапоринов. Рост интенсивности диффузионного переноса воды при увеличении гидростатического давления (свыше 20 атм) связывается с деструкцией мембран, и прежде всего, тонопласта, что подтверждается электронномикроскопическими наблюдениями. Оценивается роль изменений водной проницаемости мембран под действием давления в регуляции и перераспределении потоков воды вдоль разных транспортных путей в растениях.

1. Kato M., and Hayashi R. /Biosci. Biotechnol. Biochem., 1999. V.63. P.1321-1328.
2. Wan X., Steudle E., Hartung W. /J. Exp. Botany, 2004. V.55. P.411-422.
3. Hill A.E., Shachar-Hill B., and Shachar-Hill Y. /J. Membr. Biol., 2004. V.97. P.1-32.

О ВОЗМОЖНОСТЯХ ПРИМЕНЕНИЯ ИЗЛУЧЕНИЯ КРАЙНЕЙ ВЫСОКОЙ ЧАСТОТЫ И ХИМИЧЕСКИХ ФУНГИЦИДНЫХ ФАКТОРОВ В ДЕЗИНФЕКЦИИ**About possibilities of application of radiation of extreme high frequency and chemical fungicidal factors in disinfection****Ичеткина А.А., Кряжев Д.В., Смирнов В.Ф.**

ФГБОУ ВПО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»,
603950, г.Нижний Новгород, проспект Гагарина, 23
Тел: 8-904-064-04-74, e-mail:depechelady@mail.ru

В настоящее время повышенную опасность для экологии представляют синтетические вещества, используемые в качестве средств защиты от микробных повреждений. Биоповреждениям подвергается практически все, что сооружает человек, поэтому масштабы загрязнения среды химическими веществами столь велики [1]. Ученые многих стран считают возможным снизить расход используемых фунгицидов за счет повышения их эффективности или создания более эффективных, чем известные. Однако создание новых фунгицидов является процессом очень длительным и дорогостоящим.

В связи с вышеизложенным, целью настоящего исследования являлось изучение эффективности комбинированного фунгицидного действия излучения крайне высокой частоты (КВЧ) в дозе 0,018 мДж/см², характеризующейся оптимальным фунгицидным эффектом [2] с химическими биоцидными препаратами в их субфунгицидных концентрациях на тест-культуры микромицетов: *Aspergillus niger van Tieghem*, *Alternaria alternata (Fries) Keissler*, *Chaetomium globosum Kunze*, *Fusarium moniliforme Sheldon*, *Penicillium chrysogenum Thom*. Источником КВЧ-волн служил аппарат КВЧ-ИК терапии СЕМ-TECH (производитель ООО «Спинор», г. Томск), излучателем в аппарате является диод Ганна, выполненный на основе нанокристаллов арсенида галлия. В работе использовались дезинфицирующее средство «Авансепт» с моющим эффектом.

При действии фунгицидного препарата «Авансепт» в концентрации 0,5% наблюдалось ингибирование титра КОЕ от 50% у *A.alternata* и до 96% у *F.moniliforme*. при совместном применении КВЧ-излучения и фунгицидных препаратов (даже в предельно малых концентрациях) фунгицидное действие данного вида излучения существенно усиливается (в среднем на 30% у *A.niger* и *A.alternata*); вплоть до полной инактивации жизнеспособности пропагул ряда тест-культур: *Ch. globosum*, *F. moniliforme* и *P. chrysogenum* в сочетании с препаратом «Авансепт».

Таким образом, сочетая дезинфекцию в помещениях путем облучения КВЧ с обработкой биоцидными препаратами в низких экологически безопасных концентрациях можно существенно повысить качество проводимых дезинфекционных мероприятий, при этом снизив их экологическую нагрузку.

Список литературы

1. Сухаревич В.И., Кузикова И.Л., Медведева Н.Г. Защита от биоповреждений, вызываемых грибами. СПб: «ЭЛБИ-СПб», 2009. 206 с.
2. Кряжев Д.В., Смирнов В.Ф. Новые аспекты применения низкоинтенсивных излучений (КВЧ) в экобиотехнологии // Вестник ННГУ им. Н.И. Лобачевского. 2010. № 2 (2). С. 418–422.

**УЧАСТИЕ МЕМБРАННЫХ ПРОЦЕССОВ В МЕХАНИЗМАХ ДЕЙСТВИЯ
ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ****Participation of membrane processes in mechanisms of electromagnetic fields action
on biological objects****Казаринов К.Д.**

ФИРЭ им. В.А. Котельникова РАН, Фрязино Моск. обл, пл. акад. Б.А.Введенского, д. 1
Тел.: +7(496)565-26-85, факс +7(496)565-24-07, e-mail: kazarinov@ms.ire.rssi.ru

Важность исследований механизмов биологического действия электромагнитного излучения (ЭМИ) определяется в настоящее время его широким использованием в промышленности, быту и медицине и, в связи с этим, необходимостью обеспечения безопасности населения в условиях все нарастающего фона ЭМИ. Важное значение имеет также выработка стратегии использования ЭМИ в медицинской практике.

В ФИРЭ им. В.А.Котельникова РАН совместно с НИИ ФХМ ФМБА и РНИМУ им. Н.И.Пирогова были выполнены экспериментальные исследования с целью определения первичного звена рецепции ЭМП биологическими объектами в широком диапазоне частот (от постоянных электрических полей до видимого диапазона).

Стимуляцию иммунных клеток микросекундными импульсами постоянного электрического поля мы изучали с помощью регистрации хемилюминесценции - сверхслабого свечения, которое сопровождает некоторые биохимические реакции во вне или внутриклеточном пространстве. Результаты проведенной экспериментальной работы показали, что действие электрического поля приводит к увеличению селективной проницаемости мембран клеток в результате пробоя и образованию пор с ограниченным временем жизни. За это время из внеклеточной среды в цитоплазму попадают ионы кальция, включающие стереотипные физиологические реакции клетки, повышающие ее иммунную активность.

Действие микроволнового излучения низкой интенсивности может иметь тепловой характер при незначительном повышении температуры биообъекта, которое не всегда обнаруживается техническими средствами. В наших экспериментах при микроволновом облучении наблюдались термотропные фазовые переходы (гель – жидкий кристалл) в модельных мембранных системах и конвекция у границы раздела фаз (мембрана – вода). Эти эффекты ускоряют перенос ионов и других важных биологических веществ через мембраны и повышают скорость биохимических реакций в гетерогенных системах с соответствующими физиологическими последствиями.

Под действием лазерного излучения могут распадаться нитрозильные комплексы гем-содержащего белка цитохрома *c*, присутствующие в мембранах митохондрий, с освобождением важного регулятора дыхательных процессов в клетке – монооксида азота (NO), способствующего при определенных условиях запрограммированной смерти клеток (апоптозу).

Таким образом, результаты наших исследований действия ЭМП на биологические объекты в различных частотных диапазонах (от постоянных до диапазона видимого света) указывают на определяющее участие клеточных мембранных систем в рецепции ЭМП биологическими объектами.

**БЛИЧИНГ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ
В ПРОЦЕССЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ.****Bleaching of photosensitizers during photodynamic therapy of tumors.****¹Казачкина Н.И., ¹Меерович И.Г., ²Дудкин С.В., ²Коган Б.Я.**

1 – Институт биохимии им.А.Н.Баха РАН; 119071, Москва, Ленинский пр., д.33, стр.1,
тел.(495)6603430*194, e-mail: nkazachkina@inbi.ras.ru

2 – ФГУП ГНЦ РФ «НИОПИК, 123995, Москва, ГСП-5, ул. Б.Садовая, д.1, корп. 4

Фотодинамическая терапии (ФДТ) рака основан на взаимодействии опухолетропных фотосенсибилизаторов с оптическим излучением. В результате фотофизических реакций образуются активные формы кислорода (АФК), которые проявляют цитотоксическое действие в отношении клеточных элементов опухоли. При взаимодействии с АФК происходит также бlichинг фотосенсибилизаторов. Таким образом, характер бlichинга в процессе ФДТ может быть напрямую связан с ее противоопухолевой эффективностью.

Цель настоящей работы: оценить характер фотобlichинга протопорфирина IX, индуцированного 5-аминолевулиновой кислотой (АЛК) и тозилного производного бактериохлорина (БхТ) в процессе ФДТ.

Материалы и методы. Работа проведена на мышах BDF₁ и C57Bl с перевиваемыми опухолями: Эрлиха, саркомой-37, лейкемией Р-388 и меланомой В-16.

АЛК вводили мышам *per os* в дозах 0,5 – 1,0 мг/кг. ФДТ ($\lambda=640\pm 10$ нм) проводили через 2 часа после введения профотосенсибилизатора.

БхТ вводили *v/v* в дозах от 1 до 25 мг/кг. ФДТ ($\lambda=775$ нм) проводили через 0,5 – 24 часа после введения сенсibilизатора.

Флуоресценцию фотосенсибилизаторов в тканях зоны облучения и вне ее измеряли контактным способом на лазерной диагностической установке "Спектр" (ООО "Кластер", Россия). Длина волны возбуждения флуоресценции - 532 нм.

Результаты. АЛК-индуцированный протопорфирин IX в процессе ФДТ сначала выгорал, а затем наблюдалось восстановление его флуоресценции. В более устойчивой к действию АЛК-ФДТ опухоли – лейкемии Р-388 – пигмент выгорал в меньшей степени и восстанавливался лучше, чем в чувствительных опухолях Эрлиха и S-37.

С уменьшением плотности мощности терапевтического излучения противоопухолевый эффект АЛК-ФДТ возрастал, скорость фотобlichинга ППХ также увеличивалась.

Эксперименты с экзогенным фотосенсибилизатором БхТ проведены *in vitro* и *in vivo*.

В опытах *in vitro* показано, что БхТ является фототабильным соединением.

In vivo с увеличением интервала между введением БхТ и облучением скорость фотобlichинга БхТ замедлялась, а противоопухолевый эффект снижался.

Заключение. Характер бlichинга фотосенсибилизаторов коррелирует с лечебным эффектом ФДТ и его изучение может оказаться полезным при выборе моделей для доклинической разработки эффективных режимов ФДТ злокачественных опухолей.

Работа выполнена при поддержке грантов Правительства г. Москвы.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ СИСТЕМ РЕПАРАЦИИ ДНК И КОНФОРМАЦИОННОЕ СОСТОЯНИЕ ХРОМАТИНА В КЛЕТКАХ КРОВИ ПРОФЕССИОНАЛОВ-АТОМЩИКОВ, РАБОТАВШИХ С БЕТА-ИЗЛУЧЕНИЕМ ТРИТИЯ**DNA reparation system effectiveness and chromatin conformation state in blood cells of nuclear specialists having dealt with beta-irradiation of tritium****Калиновская О.В., Нагиба В.И., Никанорова Е.А., Паточка Г.Л. Хаймович Т.И.**

ФГУП «Российский Федеральный Ядерный Центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики»,
607188, г.Саров, Нижегородская обл., пр. Мира 37,
Тел. +7(83130) 2 52 99, факс +7(83130) 2-53-00, e-mail: gane@orb2.vniief.ru

В докладе представлены результаты оценки эффективности систем репарации ДНК в группе профессионалов, работавших с бета-излучением трития (25 человек, средний возраст 64 года). **Большая часть профессионалов начали работу во вредных условиях труда в 50-60-е годы, до начала проведения регулярного индивидуального дозиметрического контроля.** Средний стаж работы во вредных условиях труда составил 28 лет, средняя поглощенная доза 15,9 сЗв. В первую контрольную группу («комет-контроль») вошли 20 жителей г.Саров (средний возраст 63 года), в течение всей жизни не имевшие контакта с ионизирующими излучениями. Во вторую контрольную группу («АВЗВ-контроль») вошли 23 супруга профессионалов-атомщиков (средний возраст 64 года), имеющие сходный социально-экономический статус и не работавшие во вредных условиях труда. Эффективность системы репарации ДНК определяли с помощью щелочной версии метода «комет». Оценивали спонтанный уровень повреждений ДНК и эффективность репарации ДНК после воздействия на клетки крови импульсным рентгеновским излучением в дозе 3 Гр. Конформационное состояние хроматина и его реактивность на тепловой шок (46° в течение 30 минут) определяли методом аномальной временной зависимости вязкости лизатов клеток крови (АВЗВ).

Показано, что вариабельность индивидуальных показателей скорости репарации ДНК в клетках крови профессионалов-атомщиков была достоверно выше, чем в контрольной группе. Наблюдала отрицательную зависимость скорости репарации радиационно-индуцированных повреждений ДНК от спонтанного уровня повреждений ДНК в основной группе. В подгруппе наиболее облученных лиц, выбранной из группы профессионалов-атомщиков (лаборанты-физики и слесари-сборщики), спонтанный уровень повреждений ДНК был в 1,16 раза выше, а скорость репарации радиационно-индуцированных повреждений ДНК - в 1,30 раза ниже ($p \leq 0,05$), чем в контрольной группе. Выявлен ряд значимых корреляционных зависимостей между показателями, определяемыми с помощью разных методов.

**ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГОРОХА
PISUM SATIVUM В СВЯЗИ С ДЕЙСТВИЕМ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ИМПУЛЬСНОГО
МАГНИТНОГО ПОЛЯ**

**Alteration in some indicators of photosynthetic activity of *Pisum sativum* in the
connection with influence of low-intensity impulse magnetic field**

Кальясова Е.А., Половинкина Е.О., Корпусов Е.В., Сеницына Ю.В., Веселов А.П.

ГОУ ВПО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»,
603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина-23, биологический факультет, каф. биохимии и
физиологии растений

Тел.: (831)465-61-12; факс: (831)465-97-58; e-mail: e_polvinkina@gmail.com

Не смотря на то, что эволюция живых организмов происходила в условиях магнитных полей разных характеристик, до настоящего времени не выявлены специфические сенсоры магнитных полей в растительной клетке. Известно, что в растениях в основе ответа на разнообразные внешние воздействия лежат изменения функционирования фотосинтетической электрон-транспортной цепи (ФЭТЦ), в результате чего происходит изменение генерации всех основных активных форм кислорода, которые, в свою очередь способны регулировать практически все важнейшие процессы жизнедеятельности клетки. Это позволило выдвинуть хлоропласты на роль сенсоров растительной клетки.

Объектом исследования служили 2-х недельные растения гороха *Pisum sativum* L., сорта «Альбумен», выращенные в лабораторных условиях. Для генерации импульсного магнитного поля (ИМП) использовалась магнитотерапевтическая установка фирмы Electro-Biology Inc. (поле создавалось пачками из 20 импульсов длительностью 227 мкс с амплитудой 1,5 мТл, следующих с частотой 15 Гц). Длительность обработки 15, 30, 60 и 120 мин. Контролем служили растения, выдержанные в условиях нормального геомагнитного поля. Определение фотосинтетической активности проводили на целых растениях с использованием импульсного флуориметра Dual-PAM-100 (Walz, Германия). Определяли квантовые выходы обеих фотосистем, а также рассчитывали для фотосистемы II (ФС II) - коэффициенты фотохимического и нефотохимического тушения; для фотосистемы I (ФС I) - нефотохимическую диссипацию энергии, обусловленную ограниченностью донорной и акцепторной стороны.

15-минутная обработка растений ИМП не приводила к достоверным изменениям в фотосинтетической активности. После 30- минутной экспозиции в ИМП наблюдали увеличение квантового выхода ФС I, что связано с уменьшением нефотохимического тушения на донорной стороне реакционных центров и увеличением квантового выхода ФС II, т.е. происходила активация всей электрон-транспортной цепи, по-видимому, из-за увеличения продуктивности цикла Кальвина и синтеза макроэргов.

И 30- и 60-минутная экспозиции в поле приводили к более быстрой световой адаптации обеих фотосистем, но после 60-минутного воздействия не наблюдались изменения их квантовых выходов. 120-минутная обработка полем приводила к достоверному снижению квантового выхода ФС I, так же наблюдалась тенденция к снижению продуктивности ФС II, что в совокупности с другими параметрами может говорить о начале ингибирования фотосинтетических процессов и быть связанным с нарушением функционирования мембран. Т.о. зависимость изменений показателей световой фазы фотосинтеза от времени экспозиции в ИМП носило немонотонный характер.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект № 11-04-97101р

КАДМИЙ-ИНДУЦИРОВАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ АЗОТФИКСИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЫ ЛЮПИНА: РОЛЬ ЛЕКТИНОВ В МЕХАНИЗМАХ АДАПТАЦИИ

Cadmium-induced modification of functional status of lupine nitrogen-fixing system: the role of lectins in adaptative mechanisms

Канделинская О.Л.¹, Грищенко Е.Р.¹, Картыжова Л.Е.², Космачевская О.В.³, Насыбуллина Э.И.³, Зотов В.С.³, Шумаев К.Б.³, Топунов А.Ф.³

1 - Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф.Купревича НАН Беларуси, 220072, Минск, ул.Академическая, 27;

Тел.: +37517284-16-60; факс: +37517284-18-53; e-mail: okandy@biobel.bas-net.by

2 – Институт микробиологии НАН Беларуси, 220141, Минск, ул. В.Ф. Купревича, 2,

3 – Институт биохимии им.А.Н.Баха РАН, Москва, 119071, Ленинский проспект, 33

Эффективное функционирование азотфиксирующей системы бобовых растений при действии неблагоприятных факторов среды, в частности, тяжелых металлов, является одним из важнейших условий высокой продуктивности. Известно, что результатом подобного воздействия является окислительный стресс, снижающий эффективность нитрогеназного комплекса, и, как следствие, устойчивость, урожай и его качество. В связи с этим, особую актуальность приобретает разработка приемов регуляции продукционного процесса, основанных на механизмах взаимоотношений бобовых растений с клубеньковыми бактериями в контексте использования одного из существенных факторов симбиоза – белков лектинов. Последние, обладая свойством специфично и обратимо связывать углеводные лиганды биополимеров, играют важную роль в становлении симбиоза, – от адгезии бактерий к корневой поверхности растений, инфицирования корневых волосков до процессов нодуляции. Целью данной работы являлось выяснение роли лектинов в формировании устойчивости нитрогеназного комплекса люпина узколистного (*Lupinus angustifolius* L., с.Миртан) к негативному воздействию кадмия, который является одним из наиболее распространенных и токсичных тяжелых металлов. Исследовали влияние предпосевной обработки растений люпина лектинами сои и люпина на функциональное состояние леглобина, активность метлеглобинредуктазы (MLbR), уровень азотфиксации, активность эндогенных лектинов корней и клубеньков, распределение и аккумуляцию кадмия в органах, морфометрические показатели растений в онтогенезе при различных уровнях загрязнения почвы кадмием. Установлено, что лектины оказывали на растения адаптогенный эффект различной степени: лектин сои < лектина люпина. При этом наблюдалось уменьшение амплитуды индуцируемых поллютантом колебаний спектральных характеристик леглобина, показателей азотфиксирующей активности в клубеньках и метаболизма эндогенных лектинов корней и клубеньков. Показатель активности MLbR существенно не изменялся. Ослабление токсического действия поллютанта на ростовые процессы сопровождалось ограничением поступления кадмия в корни и листья. Обсуждается роль лектинов в регуляции активности азотфиксирующей системы бобовых и формировании устойчивости растений при избытке тяжелых металлов в среде.

**ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ФРАКЦИОННОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА
СЛИЗИстую ОБОЛОЧКУ ПОЛОСТИ РТА МЕТОДОМ КРОСС-ПОЛЯРИЗАЦИОННОЙ
ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ**

**Assessment of fractional laser radiation on oral mucosa by cross-polarization optical
coherence tomography**

**Карабут М.М.^{1,2}, Киселева Е.Б.², Гладкова Н.Д.², Балалаева И.В.¹, Островская Ю.В.²,
Губарькова Е.В.², Фельдштейн Ф.И.**

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

² - Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава России,
603005, Нижний Новгород, пл. Минина, 10/1;

³ - Дентал Фотоникс, США, МА 02081, Уолпол, 1600 Boston-Providence Highway
Тел.: +7 (831) 465-41-13; e-mail: maria.karabut@gmail.com

Метод фракционного лазерного фототермолиза (ФЛФ) заключается в создании микроскопических термических ран в виде островков повреждения, окруженных нормальной жизнеспособной тканью. ФЛФ приводит к микротравмам эпителия и подлежащей соединительнотканной стромы, что немедленно отражается на их оптических (рассеивающих и деполаризующих) свойствах. Метод КП ОКТ с высоким разрешением визуализирует структуру ткани и позволяет оценить толщину и степень ороговения эпителия, плотность и толщину соединительнотканной стромы, судить о наличии и расположении в ней желез и сосудов, т.е. тех структур, которые влияют на глубину и характер лазерного воздействия на ткань. В данной работе ФЛФ впервые применен для изучения восстановительной реакции мягких тканей полости рта [1]. Эксперименты проводились на 18 кроликах. Использовалась оригинальная лазерная система компании «Dental Photonics Inc» на основе диодного лазера с длиной волны 980 нм, генерирующего излучение мощностью 20 Вт с продолжительностью единичного импульса 80, 120 и 150 мс. Каждая колонка создавалась при контакте сапфирового наконечника диаметром 400 мкм с тканью. Лазерные колонки нанесли на слизистую оболочку верхней челюсти животных в области резцов.

В ходе исследования были выделены черты КП ОКТ изображений колонок после лазерного воздействия и в динамике их заживления. Показано, что через 1 сутки после ФЛФ в прямой поляризации КП ОКТ изображения наблюдается нарушение слоистой структуры, которая восстанавливается на 28 сутки; в ортогональной поляризации – отсутствие или резкое ослабление интенсивности ОКТ сигнала в области колонки, которое на 28 сутки после ФЛФ едва различимо глазу. Полное восстановление структуры ткани происходит на 90 сутки [2]. По измерению среднеквадратичного отклонения ОКТ сигнала в ортогональной поляризации установлено, что на 28 сутки интенсивность сигнала в области колонки еще восстанавливается не полностью ($p=0.001$ по сравнению с исходным уровнем) и достигает исходного значения к 90 суткам ($p=0.31$ по сравнению с исходным).

Таким образом, КП ОКТ может быть использован в качестве прижизненного метода контроля регенерации мягких тканей полости рта после фракционного лазерного фототермолиза.

Работа поддержана Государственным контрактом Российской Федерации № 14.740.11.1188, грантом РФФИ №10-02-01175.

1. Карабут М.М., Гладкова Н.Д. и др. / Современные технологии в медицине, 2010. № 4, С. 115-121.

2. Romanos G.E., ND Gladkova N.D. et al. / Lasers in Medical Science, online 12.02. 2012.

**РОЛЬ СВЕТА И МЕХАНИЧЕСКОГО СТРЕССА В МОРФОГЕНЕЗЕ
ПРОРОСТКА ПШЕНИЦЫ****Role of light and mechanical stress in morphogenesis wheat seedling*****Касаткин М.Ю., Степанов С.А.***

Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского, г. Саратов
Тел: 8(8453)954364, e-mail: hanin-hariton@yandex.ru

Изучались реакции проростков пшеницы (яровая мягкая пшеница *Tr. aestivum* сорта Саратовская 29) на механический стресс и направленный световой поток. Проростки в возрасте 48 часов с прозрачными грузиками из органического стекла весом 2 и 4 г каждый помещались на поверхность почвы и накрывались перевёрнутыми пробирками для создания влажной ростовой камеры.

Обнаружено, что метамеры проростка и колеоптиль по-разному чувствительны к механическому стрессу и освещению всего растения. В условиях отсутствия света происходит торможение ростовых процессов в почке главного побега пшеницы. При этом основным информативным фактором внешней среды становятся механические нагрузки, возникающие в процессе роста проростков в почве. Создаваемое в процессе роста проростков в почве механическое давление влияет на перераспределение внутренних нагрузок в колеоптиле. Реакция колеоптиля связана, главным образом, с изменением поперечных размеров parenхимных клеток, примыкающих к проводящим пучкам.

В ходе экспериментов было выявлено, что как на свету, так и при его отсутствии создаваемое грузом механическое давление не оказывало влияние на рост эпикотилия, однако если в темноте его длина составляла 1,27 мм, то при наличии света ростовая реакция этого органа была выражена слабо.

Реакция листьев зависит от их возраста, что позволяет предположить возможную регуляцию нагрузкой последовательности заложения очередных листьев и их роста. Не менее важна и интенсивность воздействия факторов. Так, при сильном направленном освещении проростков свет полностью снимает ингибирующее действие механического давления груза на развитие колеоптиля, тогда как при рассеянном свете малой интенсивности прослеживается небольшой ингибирующий эффект на рост этого органа. Особенности соотношения светового фактора различной интенсивности и механического давления груза разной массы позволяют выделить несколько отдельных типов ответных реакций элементов метамера проростков пшеницы.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ВТОРИЧНОЙ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ЛИСТЬЕВ ДРЕВЕСНЫХ ВИДОВ, ИНДУЦИРОВАННОЙ УЛЬТРАФИОЛОТОМ**Physiological activity of UV induced, secondary luminescence in arboreal species foliage****Кашулин П.А., Калачёва Н.В.**

Полярно-альпийский ботанический сад-институт, Кольский НЦ РАН, ул. Ферсмана, 18-А,
184209 Апатиты, Мурманская обл.

Тел.: + 7(815)55-79-239; факс: + 7(815)55-79-448; e-mail: falconet1@yandex.ru

Ультрафиолетовая радиация является важным экологическим фактором для фотосинтезирующих организмов. Защитные физиолого-биохимические механизмы растения позволяют минимизировать его потенциальную опасность. Однако их эффективность зависит от скорости активации после получения соответствующего сигнала. В работе [1] и др. показано, что жесткий ультрафиолет влияет на интегральную, сверхслабую люминесценцию листьев древесных видов и на флуоресценцию хлорофилла. Независимо от типа УФ, основной вклад вторичной эмиссии листьев *Hibiscus*, приходился на диапазон 600 нм и выше. Полученные нами данные показывают, что индуцированное излучение может быть не только побочным продуктом УФ-спровоцированных биохимических реакций, но и активно использовано растениями в качестве сигнала для биохимического запуска адаптивных механизмов, изменения типа фотосинтетических процессов. Опытные растения *Ficus benjamina*, сорт "Danielli" подвергали 2 час УФ-А экспозиции («Camelion» WL3016, 18 Вт, $\lambda = 354$ нм), затем в течение суток использовали в качестве источника вторичного излучения для облучения соседних образцов. В контроле использовали экранированные растения. Дозу УФ радиации контролировали «ТКА-ПКМ» при мощности 1250 мВт/м². Для анализа состояния фотосинтетического аппарата листьев использовали систему измерения импульсно-модулированной флуоресценции хлорофилла «Dual-PAM-100» производства "Heinz Walz GmbH", ФРГ. Записывали индукционные световые кривые импульсно-модулированной флуоресценции при скорости считывания 1000 точек/с. Каждые 20 с подавали световые импульсы (600 мс) для светового насыщения фотосистем. F_m и F_o определяли после 30 мин темновой адаптации. Через 40 с включали активирующий красный свет, 126 μ Е на 4 мин. Интенсивность измеряющего света - 5 μ Е, эффективная ФАР в период индукции - 131 μ Е. На основе записи находили кв. выходы фотосистемы II (ФС II), соответствующие фотохимической утилизации световой энергии $Y(II)$, её регулируемой доле $Y(NPO)$, нерегулируемой диссипации $Y(NQ)$, параметры тушения. УФ облучение растений фикуса вызвало дозозависимое перераспределение поглощенной световой энергии, снижение $Y(II)$ и рост $Y(NPO)$, а также появление вторичной люминесценции, которая обеспечивала дистанционное влияние активированных растений на контрольные. Оно выражалось в устойчивом снижении фотохимической утилизации, росте F_m и интенсивности регулируемых, нефотохимических процессов в ФС II.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТОВ НЕКОТОРЫХ РАСТЕНИЙ**Comparison of antioxidant activity of some plant extracts**

**Кирилина И.В.¹, Носикова И.Н.¹, Ибрагимова Л.Г.¹, Богданов И.В.¹, Любичкий О.Б.¹,
Ильина С.Е.¹, Теселкин Ю.О.¹, Береза Н.С.², Павлова Л.А.²**

1 – ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздравсоцразвития России,
117997, Москва, ул. Островитянова, 1;

Тел.: +7(495) 434-81-92; факс: +7(495) 434-81-92; e-mail: teselkin-box@mail.ru

2 – ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздравсоцразвития России,
119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2.

Известно, что развитие оксидативного стресса играет важную роль в патогенезе многих заболеваний человека. В связи с этим важной задачей является разработка новых антиоксидантных препаратов. Применение в качестве антиоксидантов биологически активных веществ растительного происхождения имеет большие перспективы, поскольку природные антиоксиданты обладают меньшей токсичностью, чем синтетические.

Цель исследования - изучить антиоксидантную активность (АОА) экстрактов листьев березы карликовой (*Betula nana*), березы бородавчатой (*Betula verrucosa*), побегов эфедры (*Ephedra equisetina* Bunge), листьев и побегов падуба парагвайского (*Ilex paraguariensis*) и травы зизифоры (*Ziziphora clinopodioides*).

Сырье, за исключением листьев и побегов падуба парагвайского, произрастающего в Андах, заготавливали на территории Тувы, на высоте около 2000 м над уровнем моря. АОА экстрактов растений исследовали с помощью различных модельных систем: по торможению ими иницированного ионами двухвалентного железа процесса пероксидного окисления яичного фосфатидилхолина в мицеллах тритона X-100 (система 1); по ингибированию окисления люминола, индуцированного 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлоридом (система 2), а также гемоглобином и пероксидом водорода (система 3); по восстановлению катион-радикала 2,2'-азинобис(3-этилбензотиазолин-6-сульфокислоты) (АБТС⁺) (система 4). За процессом окисления яичного фосфатидилхолина и люминола наблюдали с помощью метода хемилюминесценции. Восстановление АБТС⁺ изучали по уменьшению оптической плотности раствора при 734 нм.

Обнаружено, что добавление экстрактов растений к модельным системам сопровождалось дозозависимым торможением окисления яичного фосфатидилхолина и люминола, а также обесцвечиванием раствора АБТС⁺. В системах 1, 2 и 3 уменьшение АОА экстрактов растений происходило в следующей последовательности: падуб парагвайский ≥ береза карликовая > береза бородавчатая > эфедра ≥ зизифора, тогда как в системе 4 она была несколько иной: береза карликовая > падуб парагвайский > береза бородавчатая > зизифора > эфедра.

Применение различных модельных систем позволяет более детально исследовать механизм антиоксидантного действия экстрактов растений. Предполагается, что АОА изученных экстрактов растений определяется входящими в их состав соединениями флавоноидной природы. Растительные экстракты, обладающие высокой АОА, могут быть использованы в медицине для профилактики и лечения заболеваний, сопровождающихся развитием оксидативного стресса.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СИНХРОНИЗАЦИИ КОЛЕБАНИЙ КРОВОТОКА КОЖИ У ЧЕЛОВЕКА**The study of spatial synchronization of skin blood flow oscillations in human****Кирилина Т.В.¹, Красников Г.В.¹, Пискунова Г.М.¹, Танканаг А.В.², Чемерис Н.К.^{1,2}**

¹ – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н.Толстого», 300026, г. Тула, пр. Ленина, д. 125

² – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биофизики клетки Российской академии наук, 142290, Московская обл., г. Пущино, ул. Институтская, д. 3

Тел.: +7(4872)357813; факс: +7 (4872)357807; e-mail: physiology@tspu.tula.ru

Цель исследования – оценка степени пространственной синхронизации колебаний кровотока как показателя баланса модулирующего воздействия со стороны центральных и местных регуляторных механизмов в системе гемомикроциркуляции кожи.

Методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛАКК-02, НПП «ЛАЗМА», Россия) в симметричных участках кожи предплечья обеих рук регистрировали динамику показателя микроциркуляции у 25 практически здоровых девушек 18-20 лет. Сигналы подвергали цифровой полосовой фильтрации на базе непрерывного адаптивного вейвлет-преобразования. Фильтрацию осуществляли в 5 неперекрывающихся частотных диапазонах, колебания в которых обусловлены известными физиологическими процессами: пульсовой волной, респираторной, миогенной, нейрогенной и эндотелий-зависимой активностью. Степень пространственной синхронизации осцилляций кровотока в указанных частотных диапазонах оценивали по значениям взаимно-корреляционной функции (ВКФ) для нативного состояния и при одностороннем проведении локальной тепловой пробы (нагрев от 32 до 38 °С со скоростью 4 °С/мин, затем постоянный нагрев 38 °С до конца регистрации).

Показана высокая степень синхронизации в диапазонах миогенной активности и пульсовых колебаний (медианы значений ВКФ – 0.81 и 0.70 соответственно). Колебания в диапазоне эндотелий-зависимой и нейрогенной активности синхронны в меньшей степени (ВКФ – 0.54 и 0.62 соответственно). Для колебаний в диапазоне дыхательного ритма синхронизация выражена слабо (ВКФ = 0.27). Преимущественного направления фазового сдвига в отношении левой или правой руки в условиях наших исследований не выявлено. Величина фазовой задержки была незначительной составляла порядка 1-3% по отношению к усредненной величине периода колебаний соответствующих ритмов. В условиях тепловой пробы, по сравнению с нативным состоянием, показано достоверное снижение значений ВКФ для колебаний в диапазонах нейрогенной и миогенной активности (медианы ВКФ – 0.36 и 0.45 соответственно). Для пульсовых, дыхательных и эндотелий-зависимых колебаний значимых изменений синхронизации не обнаружено. Таким образом, существенной особенностью формирования спонтанных осцилляций кровотока, регистрируемых на уровне системы микроциркуляции кожи, является взаимодействие ритмов локальной (местной) и центральной гемодинамической природы.

Работа поддержана грантом РФФИ № 12-04-01378.

**ФОРМИРОВАНИЕ ОКТ-ИЗОБРАЖЕНИЙ КОЖИ IN VIVO
В УСЛОВИЯХ МЕХАНИЧЕСКОЙ КОМПРЕССИИ****Formation of OCT-images of human skin in vivo under mechanical compression****Кириллин М.Ю.¹, Агрба П.Д.^{1,2}, Бакшаева Е.А.,^{1,2} Каменский В.А.¹**

1 – Институт прикладной физики РАН, 603950, Н.Новгород, ул. Ульянова, 46;

2 – Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
Тел.: +7(831) 4164619; факс: +7(831) 4363792; e-mail: mkirillin@yandex.ru

Оптическая когерентная томография (ОКТ) - современный метод визуализации внутренней структуры биологических тканей с пространственным разрешением до единиц мкм на глубинах до единиц мм, основанный на низкокогерентной интерферометрии. Основной областью применения ОКТ является биомедицинская диагностика. ОКТ-изображение представляет собой интерферограмму, показывающую пространственное распределение коэффициента обратного рассеяния внутри исследуемого объекта, которое в свою очередь обусловлено пространственным распределением показателя преломления.

Применение при диагностике биотканей контактных волоконно-оптических ОКТ-зондов может приводить к обратимым структурным изменениям исследуемых биотканей, ведущих к изменению распределения показателя преломления. В частности, это эффект может наблюдаться при исследовании слоистых биотканей с различными механико-эластическими свойствами слоев. Более долговременные эффекты могут быть связаны с изменением характера капиллярного кровотока, связанным с давлением поверхности ОКТ-зонда на биоткань, перераспределением внутритканевой жидкости и формированием отека. Эти эффекты необходимо учитывать при интерпретации ОКТ-изображений при диагностике с применением контактных ОКТ-зондов. Целью настоящей работы является исследование особенностей формирования ОКТ-изображений тонкой кожи человека *in vivo* в условиях механической компрессии.

Исследования проводились на группе из 12 волонтеров в возрасте 20-50 лет. ОКТ-зонд прижимался к поверхности кожи с усилием равным 0.35 ± 0.04 Н/мм², что контролировалось с помощью сопряженного с зондом динамометра. Усилие сохранялось на протяжении 7 минут, в течение которых ОКТ-изображения ткани получались каждые 5 секунд. Эволюция ОКТ-изображений, полученных как в параллельной, так и в перпендикулярной поляризации относительно поляризации зондирующего излучения, была проанализирована для каждого волонтера.

Показано, что с течением времени в условиях механической компрессии контраст границы между слоями эпидермиса и дермы возрастает в среднем на 9 и 7 дБ для ОКТ-изображений, полученных в параллельной и перпендикулярной поляризациях соответственно. Для анализа механизмов формирования ОКТ-изображений было проведено Монте-Карло моделирование, учитывающее сжатие различных слоев кожи и пропорциональное изменение их коэффициентов рассеяния и поглощения. Полученные результаты согласуются с экспериментальными данными.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (проект 10-02-00744-а) и проекта ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 - 2013 годы (контракт 02.740.11.0839).

**ОТВЕТ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ НА УМЕНЬШЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ
ДЕЙТЕРИЯ В ВОДЕ****The biological answer on decreasing deuterium concentration in water****Киркина А.А.¹, Лобышев В.И.¹, Доронин Ю.К.², Кириенко К.В.³, Яковенко С.А.³**¹ – Физический факультет МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 2;² – Биологический факультет МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12;³ – клиника ЭКО «АльтраВита», 117186, Москва, ул.Нагорная, 4АТел.: +7(495)939-16-87, +7(916)6555542; e-mail: mayin@yandex.ru

Дейтерий является неотъемлемым элементом природной воды. При изучении его действия наблюдается монотонное усиление ингибирования биологических систем при повышении концентрации дейтерия [1-2]. В области природных вариаций содержания дейтерия в воде изотопные эффекты нелинейны и могут сменяться активацией [3].

Целью настоящей работы является изучение воды с уменьшенной концентрацией дейтерия на ферментативную активность и выживаемость половых клеток.

Объектами исследования стали белок Na, K – АТФ-аза, икра вьюна *Misgurnus fossilis*, сперматозоиды человека.

Гидролитическая активность белка Na, K – АТФ-азы в области содержания дейтерия в среде 25-100 ppm снижается на 15-20 % относительно контроля. При 4-25 ppm активность фермента совпадает с контрольным значением. Полученные результаты качественно одинаковы для препаратов, полученных из солевых желез утки и почек кролика.

Опыты с оплодотворенной икрой вьюна показали, что число выживших и развивающихся мальков в 2 раза больше в среде, приготовленной на воде с содержанием дейтерия 2,9 ppm, по сравнению со средой, приготовленной на обычной дистиллированной воде. Динамика гибели активированной неоплодотворенной икры не выявила изотопного эффекта облегченной по дейтерию воды.

Культивирование сперматозоидов человека проводили в течение 4-5 дней. В качестве критерия гибели использовался тест «мертвый-живой» с использованием набора Vital Screen. При содержании дейтерия 37-50 ppm наблюдается достоверное уменьшение скорости гибели клеток. Как уменьшение концентрации дейтерия до 80 ppm, так и её увеличение до 0,5% (5000 ppm) не приводит к значимым изменениям в скорости гибели клеток. Увеличение скорости гибели клеток наблюдается при 5% содержании дейтерия.

Таким образом, при уменьшении концентрации дейтерия могут наблюдаться качественно разные немонотонные эффекты, что не согласуется с широко распространенной точкой зрения о максимальной активации биологических систем при минимальном содержании дейтерия [4].

1. Лобышев В.И., Калининченко Л.П. Изотопные эффекты D₂O в биологических системах, М., Наука, 1978.

2. Денько Е.И. / Успехи соврем. биол., 1970. № 70. Вып. 1(4). С. 41-64.

3. Лобышев В.И., Мельников И.А., Есиков А.Д., Нечаев В.В. / Биофизика № 5, 1984, С.835-839.

4. Somlyai G., G. Laskay, S. A. Kiss / Journal of Oncology, 1998, 30, 4, p.91-94.

**ВЛИЯНИЕ ВОДЫ С УМЕНЬШЕННОЙ КОНЦЕНТРАЦИЕЙ ДЕЙТЕРИЯ
НА ПОДВИЖНОСТЬ СПЕРМАТОЗОИДОВ.****The influence of deuterium-depleted water on sperm motility****Киркина А.А.¹, Лобышев В.И.¹, Доронин Ю.К.²**¹ – Физический факультет МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 2;² – Биологический факультет МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12.
Тел.: +7(495)939-16-87, +7(916)6555542; e-mail: mayin@vandex.ru

К настоящему времени проведено множество опытов по влиянию тяжелой воды на биологические системы [1,2]. Изучение биологического действия сильно облегченной по дейтерию воды началось относительно недавно [3].

Целью работы стало изучение временной зависимости подвижности сперматозоидов, полученных от разных классов животных, от изотопного состава среды.

Объектами исследования стали замороженная сперма быка, нативная сперма человека, нативные семенники вьюна *Misgurnus fossilis* и лягушки *Hylarana temporalis*. Во всех сериях опытов применялся метод регистрации подвижности с помощью спермпаанализатора. Долговременная процедура измерений даёт информацию не только о мгновенном численном значении подвижности сперматозоидов, но и о динамике их гибели

Сперматозоиды быка менее активны в средах с содержанием дейтерия от 13 до 50 ppm. В средах с облегченной водой начальные абсолютные значения были более чем в 2 раза меньше контроля. При содержании дейтерия от 50 ppm до 90 ppm результат зависел от образца и мог не отличаться от контроля. Характер зависимости подвижности клеток от времени меняется от логарифмической (13-50 ppm) до экспоненциальной (≥ 90 ppm).

Регистрация подвижности сперматозоидов человека в течение суток показывает увеличенную подвижность в среде, приготовленной на воде 4 ppm, по сравнению с контролем. Подвижность увеличивалась на 20-40% в зависимости от образца. При концентрации дейтерия 90-110 ppm подвижность возрастала всего на 10 %, что статистически совпадает с контролем. При содержании дейтерия 0,5% и 1% (10⁴ ppm) изменения в подвижности не обнаруживаются. В зависимости от образца в области 60 ppm наблюдается как активирование на 30±5%, так и ингибирование на 25±5%.

Подвижность сперматозоидов лягушки и вьюна в среде, приготовленной на легкой воде 2,9 ppm, не отличалась от контроля. При концентрации дейтерия 370 ppm наблюдалось 3-х кратное увеличение подвижности сперматозоидов вьюна.

Таким образом, уменьшение содержания дейтерия в среде может приводить как к активации, так и к ингибированию подвижности. В то время как значительная добавка дейтерия к воде не приводит к значимому изотопному эффекту.

1. Лобышев В.И., Калининко Л.П. Изотопные эффекты D₂O в биологических системах, М., Наука, 1978.

2. Денко Е.И. / Успехи соврем. биол., 1970. No. 70. Вып. 1(4). С. 41-64.

3. Тимаков А.А. / 8-ая Всероссийская (международная) научная конференция «Физико-химические процессы при селекции атомов и молекул», Звенигород, 2003, ноябрь.

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МЕТАЛЛОВ НА РАДИОЛИЗ ФЕНОЛА**Effects of metal ions on the radiolysis of phenol****Кирьяк Е.Ю., Антропова И.Г.**

РХТУ имени Д.И. Менделеева, 125047, г. Москва, Миусская пл., д.9
Тел.: +7(495)948-54-64; antropovai@inbox.ru

Ионы металлов входят в состав большого числа активных центров клетки, и без них существование клетки не представляется возможным [1], и поэтому их возможное влияние на активность фенола необходимо учитывать. В комплексообразовании участвуют те же гидроксильные группы, что участвуют во взаимодействии со свободными радикалами. Таким образом, ионы металлов могут изменять антирадикальную активность. Следовательно, является актуальным исследование влияния ионов металлов на протекторную активность фенола, что и легло в основу данной работы.

В данной работе поставлена цель в исследовании влияния микроэлементов в реакционной среде для определения антиоксидантной активности фенола методом радиационно-химического моделирования окислительно-восстановительных реакций в водных растворах, определить радиационную чувствительность фенола в присутствии ионов металлов – меди(II) и цинка(II).

Исследования проводились спектрофотометрически на СФ-2000 в ультрафиолетовой и области спектра, длина оптического пути 1 мм и 10 мм. Концентрацию продуктов радиационно-химических превращений анализировали хроматографически на приборе Миллихром-6. Облучение ампул проведено на установке РХМ-γ-20 с источником ионизирующего излучения Со-60 [2] в РХТУ имени Д.И. Менделеева.

Показано, что условия облучения и насыщения системой инертным газом влияет на радиационно-химические превращения фенола. Радиационно-химический выход расщепления фенола в присутствии кислорода воздуха составил 2,4 молекулы/100эВ, при введении в систему ионов цинка в соотношении 1:1 – 4,7 молекул/100эВ, а при введении в систему ионов меди в соотношении 1:1 – 5,7 молекул/100эВ. Это указывает на увеличение реакционной способности фенола в присутствии кислорода воздуха и ионов металлов с цинком на 49%, а с медью на 58%.

Обнаружено, что радиационно-химический выход расщепления фенола в присутствии кислорода воздуха по сравнению с такой же системой, но в которую введен спирт, составил 2,9 молекул/100эВ. Это указывает на увеличение реакционной способности фенола в присутствии кислорода воздуха и наличия в системе этанола (1% об.) на 17%.

Введение небольшого количества спирта в систему (1% об.) с ионами металлов уменьшило радиационно-химический выход с ионом цинка на 21%, а с ионом меди – на 26%, причем выходы в системах с этанолом довольно близки по значениям: для цинка – 3,7 молекул/100эВ, для меди – 4,2 молекулы/100эВ.

Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А. Окислительный стресс. Антиоксиданты и прооксиданты. М.: Слово, 2006. – 556 с.

Пикаев А.К. Современная радиационная химия. Радиолиты газов и жидкостей. М., 1985

ПРИЖИЗНЕННАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ КОЛЛАГЕНА СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ КРОСС-ПОЛЯРИЗАЦИОННОЙ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ**In vivo evaluation of mucosa collagen condition with cross-polarization optical coherence tomography**

Киселева Е.Б.¹, Гладкова Н.Д.¹, Робакидзе Н.С.², Стрельцова О.С.¹, Балалаева И.В.³, Карабут М.М.^{1,3}, Губарькова Е.В.¹ и Фельдштейн Ф.И.⁴

- 1 - Нижегородская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития России, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина, 10/1;
- 2 - Северо-западный государственный медицинский Университет, 195067, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., д. 47;
- 3 - Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр.Гагарина, 23;
- 4 - Дентал Фотоникс, США, МА 02081, Уолполл, 1600 Boston-Providence Highway.
Тел.: +7 (831) 439-09-43; факс: +7 (831) 439-09-43; e-mail: kiseleva84@gmail.com

Коллагеновые волокна, составляющие основу матрикса соединительной ткани, неизбежно вовлекаются во все протекающие в ней патофизиологические процессы. Цель работы состояла в изучении поляризационных свойств коллагена слизистых оболочек человека методом кросс-поляризационной ОКТ (КП ОКТ) и их изменении при различных патофизиологических состояниях. Использован КП ОКТ томограф «ОКТ 1300-У», разработанный в ИПФ РАН (г. Нижний Новгород). Прижизненное высокоразрешающее (10-15 мкм) изображение является результатом одновременного прямого и ортогонального рассеяния в ткани исходно поляризованного зондирующего излучения. Для оценки коллагеновых волокон на гистологическом уровне использована окраска пикросириусом красным. В норме коллагеновые волокна деполаризуют зондирующее излучение, что обусловлено их структурой и упорядоченным расположением в ткани. Активное воспаление и неоплазия дезорганизуют коллагеновые волокна, что приводит к уменьшению их деполаризующих свойств, следовательно, к изменению интенсивности сигнала в ортогональном изображении.

В настоящей работе предложен оригинальный способ численной оценки состояния коллагена слизистых оболочек по среднеквадратичному отклонению (СО) ОКТ сигнала от средней величины в ортогональной поляризации (ОП). Оценка влияния степени активности воспалительного процесса на дезорганизацию коллагеновых волокон стромы проведена на примере слизистой оболочки щеки. Установлено, что СО ОКТ сигнала в ОП при фиброзе (исходе активного воспаления) составляет $6,35 \pm 0,10$ дБ, что достоверно выше ($p < 0,005$), чем при неактивном хроническом воспалении $5,69 \pm 0,20$ дБ или активной фазе воспаления $3,69 \pm 0,08$ дБ. Последние также различаются достоверно ($p < 0,001$).

Проведена оценка КП ОКТ изображений при воспалительном и неопластическом процессе на примере слизистой оболочки мочевого пузыря. Установлено, что при подозрении на неоплазию в анализ КП ОКТ изображений необходимо включать два параметра: контраст на границе эпителиального и соединительнотканного слоев в прямой поляризации и СО ОКТ сигнала в ОП. Показано, что диагностическим критерием для выявления неоплазии методом КП ОКТ является снижение контраста тканевых слоев в прямой поляризации в сочетании с низким СО ОКТ сигнала в ОП. Диагностическая эффективность КП ОКТ составляет 0.85, 95% доверительный интервал 0.83-0.88 с чувствительностью/специфичностью 94%/84% для порогового значения 2,8 дБ.

Работа поддержана Государственным контрактом Российской Федерации №14.740.11.1188, грантом РФФИ №10-02-01175.

СОВМЕЩЕНИЕ МЕТОДОВ ЭЭГ И ФМРТ ДЛЯ КОГНИТИВНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**Князев А.В., Ушаков В.Л., Вартанов А.В., Карташов С.И., Марченков Н.С.**

Национальный Исследовательский Центр «Курчатовский Институт» 123182 Россия,
Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1, alexander.knyazev@mail.ru

В данной работе приводится алгоритм совмещения двух не инвазивных методов исследования головного мозга: электроэнцефалографии (ЭЭГ) и функциональной магнитно-резонансной томографии (фМРТ). Особо актуальным совмещение данных ЭЭГ и МРТ-исследований становится вследствие того, что метод фМРТ не даёт нужного временного разрешения для изучения электрической активности нейронов, а метод ЭЭГ, имея хорошее временное разрешение, даёт неоднозначное пространственное. Таким образом, разработка подобного алгоритма даст возможность:

- однозначно верифицировать по регистрации метаболических изменений пространственную локализацию источников электрической активности, рассчитываемых с помощью метода ЭЭГ;
- повысить информативность методов;
- придать большую достоверность результатам нейрофизиологического исследования систем нейронов головного мозга.

В работе для обработки ЭЭГ данных был предложен новый метод разделения многоканально регистрируемой электрической активности мозга на корковую и глубинную составляющие, который использует многофакторный анализ с целью раздельной и поэтому более надёжной локализации источников данной электрической активности как в глубине мозга (на основе дипольной модели), так и на поверхности коры.

По распределению электрической активности на коре головного мозга человека, полученному методом локализации электрических диполей, и по зонам активности, полученным на фМРТ данных, можно визуализировать функциональные нейрональные сети головного мозга человека.

В перспективе метод может быть применен для определения зон эпилептической активности, в нейрохирургии, для разработки мозг-компьютерных интерфейсов.

ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ОСНОВ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ КОМПЛЕКСОВ БЕЛКОВ С ОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТОЙ**The study of molecular basis of cytotoxicity of protein-oleic acid complexes**

Князева Е.Л.¹, Пермяков С.Е.^{1,2}, Хасанова Л.М.^{1,2}, Леонтьева М.В.^{1,2}, Фадеев Р.С.³, Жадан А.П.¹, Roche-Nakansson H.⁴, Nakansson A.P.^{4,5}, Акатов В.С.³, Пермяков Е.А.^{1,2}

¹ - Институт биологического приборостроения РАН, 142290, Пущино, ул. Институтская, 7;

² - Пущинский государственный естественно-научный институт, 142290, Пущино, пр-т Науки, 3;

³ - Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290, Пущино, ул. Институтская, 3;

⁴ - Department of Microbiology and Immunology, University at Buffalo, Buffalo, NY 14214, USA;

⁵ - Witebsky Center for Microbial Pathogenesis and Immunology, University at Buffalo, Buffalo, NY 14214, USA.

Тел. +7(4967) 31-89-65; факс: +7(4967) 33-05-22; e-mail: elknyazeva@rambler.ru

Известно, что олеиновая кислота способна выполнять множество физиологически важных функций посредством взаимодействия с белками [1]. Специфический комплекс олеиновой кислоты (ОК) и α -лактальбумина (α -ЛА), названный HAMLET (*human alpha-lactalbumin made lethal to tumor cells*), селективным образом индуцирует гибель широкого спектра опухолевых клеток, а также штаммов *Streptococcus pneumoniae* [2]. Ранее было показано, что олеиновая кислота является фактором, необходимым для образования активного цитотоксического комплекса с α -ЛА, в то же время, роль белковой компоненты в реализации цитотоксического действия HAMLET-подобных комплексов до сих пор не ясна. Для изучения вклада белковой компоненты в цитотоксичность HAMLET-подобных комплексов разработан оригинальный метод приготовления комплексов с ОК произвольных белков, структурно и функционально отличных от α -ЛА. Связывание ОК проводится в экстремально щелочных условиях раствора, что существенно повышает ее растворимость [3], а также способствует щелочной денатурации белков, тем самым обеспечивая их максимальное насыщение ОК. Полученные с помощью разработанной методики комплексы с ОК коровьего β -лактоглобулина и α -парвальбумина щуки (ЛГ-ОК-45 и ПА-ОК-45, соответственно) обладают цитотоксической активностью по отношению к клеткам *S. pneumoniae* D39, превышающей таковую для HAMLET. Эксперименты по ингибированию транспорта кальция через плазматическую мембрану показывают, что начальные стадии механизма гибели бактериальных клеток, индуцируемой ЛГ-ОК-45 или ПА-ОК-45, аналогичны таковым для HAMLET. Показано, что цитотоксичность комплексов белок-ОК растет с увеличением содержания ОК в образце. Концентрация белка, необходимая для гибели 50% клеток эпидермоидной карциномы гортани человека (*Her-2*), линейно снижается с ростом содержания ОК в препарате, а концентрация ОК в комплексе, вызывающая гибель 50% клеток *Her-2* (IC_{50}), близка к величине IC_{50} олеиновой кислоты. Полученные данные свидетельствуют о ключевой роли ОК в реализации цитотоксического действия HAMLET-подобных комплексов. Наличие специфического белкового компонента в составе HAMLET-подобного комплекса не является необходимым условием его цитотоксичности. Разработанная методика приготовления комплексов белков с ОК может быть использована для инкапсуляции других низкомолекулярных гидрофобных веществ в белковое окружение, независимо от структурных и функциональных свойств белка.

1. Kogteva, G.S. and V.V. Bezuglov / *Biochemistry* (Mosc.), 1998. V. 63. P. 4-12.
2. Mok, K.H., et al. / *Biochem.Biophys.Res.Comm.*, 2007. V. 354. P. 1-7.
3. Kanicky, J. and D. Shah/ *J.Colloid Interface Sci.*, 2002. V. 256. P. 201-207.

**ВЗАИМОСВЯЗЬ ИЗМЕНЕНИЙ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ
ФАГОЦИТОВ И ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА****Interrelation between the changes of phagocyte and erythrocyte structure functional
properties during ischemic heart disease**

Коваленко Е.И.¹, Ковш Е.В.²

1 – БГУ, физический факультет, Беларусь, 220030, Минск, пр. Независимости, 4,
2 – РНПЦ «Кардиология», Беларусь, 220036, Минск, ул. Р. Люксембург, 110,
Тел.: +375(17)209-50-81; факс: +375(17)209-54-45; e-mail: kavalenka@bsu.by

Развитие атеросклероза и ишемической болезни сердца (ИБС) сопряжено с изменением иммунного статуса организма и морфо-функциональных характеристик клеток крови. Среди гуморальных и клеточных факторов, ассоциированных с повышенным риском неблагоприятных событий при ИБС, отмечают повышенные уровни провоспалительных цитокинов, усиленную миграцию и накопление нейтрофилов и моноцитов в атеросклеротических бляшках, активацию фагоцитов и секрецию ими миелопероксидазы (МПО), повышенные уровни продуктов перекисного окисления липидов, нарушенную деформируемость эритроцитов. При ИБС подавляется синтез NO эндотелиальной NO-синтазой и повышается генерация NO индуцибельными NO-синтазами (iNOS). Целью данной работы было исследование взаимосвязи изменений структурно-функциональных свойств фагоцитов и эритроцитов, определение роли NO и iNOS в прогрессии ИБС. Нами было обнаружено, что у пациентов с ИБС при стенокардии напряжения функционального класса III **имеет место тесная корреляция между увеличением уровней ИЛ-1 β , ИЛ-6, С-реактивного белка, фибронектина в плазме крови и повышением секреторной и кислород-активирующей способности фагоцитов относительно нормы.** При прогрессирующем течении ИБС значения этих параметров в 1,5–3 раза выше, чем при стабильном. С использованием перехватчика NO РТЮ и ингибиторов iNOS показано, что механизмы изменений включают генерацию NO iNOS и изменение функционирования элементов цитоскелета в фагоцитах. В экспериментах *in vitro* выявлено, что при инкубировании эритроцитов в присутствии фагоцитов, активированных fMLP или форбол-миристал ацетатом, наблюдается изменение структуры эритроцитов (клетки становятся более плотными, теряют дискоидную форму), изменяется кинетика кислотного гемолиза, выявляется образование метгемоглобина. Влияние фагоцитов на эритроциты значительно уменьшается в присутствии перехватчика NO РТЮ и ингибиторов iNOS и не выявляется без добавления индукторов активации редокс-систем фагоцитов. Полученные в работе данные свидетельствуют о том, что праймированные провоспалительными цитокинами фагоциты синтезируют NO с участием iNOS, что приводит к изменению функционирования микрофиламентов, ингибированию образования фаголизосом и усилению секреции во внеклеточную среду МПО и активных форм кислорода и азота. Это может приводить к окислительной модификации мембран эритроцитов и ухудшению их деформационных свойств, образованию метгемоглобина, и, таким образом, обуславливать снижение способности эритроцитов снабжать ткани кислородом.

АНТИОКСИДАНТНЫЙ И ПРОТОНОФОРНЫЙ МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МЕХАНИЗМ РАДИОЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ**Antioxidant and protonophore molecular mechanism of radioprotective action of phenol compounds****Кожокару А.Ф.**

Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение Науки
Институт биофизики клетки РАН, Московская область, г. Пущино, ул. Институтская, 3
Тел. (4967)73-93-81(раб.); факс (4967)33-05-09(адм.); E-mail aurelium@inbox.ru

Исследовалась связь разобщающей, протонофорной активности в митохондриях и антиоксидантной активности (АОА) на липосомах у препаратов разных классов соединений: двухосновных кислот (ДОК), замещенных салициланилидов (ЗСА) и природных фенольных соединений (ПФС). Для исследования перекисного окисления липидов (ПОЛ) использовали липосомы из общих фосфолипидов печени крыс, взятых в концентрации 1 мг/мл, в качестве среды - 20 mM трис-HCl, pH 7,5. Исследование АОА препаратов проводилось по хемилюминесценции Fe^{2+} . Препараты из классов ДОК (под шифром ТХСД, СД, МБСН, МХСД) и ЗСА (Г-882, Г-992, Г-1057), большинство ПФС (рутин, кверцетин, дикумарол, дигидрокверцетин, оротовая кислота) при концентрациях $10^8 - 10^4 M$ удлиняли латентный период, амплитуда вспышки равнялась нулю. Классический антиоксидант (АО) ионол показал сходные результаты. Менее эффективными или неэффективными АО оказались другие препараты: Г-933, Г-1079, Г-1024, БХСД, БХСО, ДНФ и др. Отсутствие корреляции между эффективностью действия препаратов как разобщителей окислительного фосфорилирования на митохондриях и как АО при их влиянии на ПОЛ в липосомах мы объясняем особенностями химической структуры препаратов, а именно, наличием или отсутствием галогенных заместителей в бензольных кольцах этих соединений (Cl, F, Br, I). Отсутствие галогенных заместителей и экранирование OH-группы метильными заместителями или изменение положения OH-группы в мета-, пара-положение ведет к снижению протонофорного действия и увеличению АОА препаратов. Наличие галогенных заместителей способствует диссоциации OH-группы, увеличению протонофорной активности и снижению АОА препарата. Радиозащита может осуществляться как по разобщающему, так и по антиоксидантному молекулярному механизму. Радиозащиту (до 70-80%) от γ -радиации в дозах 7-10 Гр в случае профилактического действия протонофоров (например, Г-882, Г-992, ТХСД) в концентрациях $10^{-7} - 10^{-5} M$ мы объясняем снижением концентрации свободных радикалов, сопровождающим временное торможение пролиферации при снижении концентрации O_2 и образования энергии в клетке, а терапевтического действия ПФС – АОА и активацией адаптивных реакций, направленных на поддержание ионного гомеостаза и энергетики клетки. ПФС являются фармакологическими препаратами с радиозащитным и терапевтическим действием при различных патологиях. У ряда фенольных соединений показана и их радиосенсибилизирующая активность, проявляющаяся у иодсодержащих препаратов (Г-988, Г-1024 и др.) и хлорсодержащих препаратов при высоких концентрациях 5 и $8 \cdot 10^{-4} M$ в том, что они увеличивают гибель животных, обусловленную γ -радиацией (до 85-90%). Действие указанных соединений, так же как индолилуксусной кислоты и иодацетамида, взятых в высоких концентрациях, может быть обусловлено продуктами радиоллиза самих соединений. Промежуточным продуктом радиоллиза иодацетамида, как и соединений Г-988 и Г-1024, является атомарный иод (I⁰), который возникает при взаимодействии с OH-радикалами облучаемого объекта. Их высокореакционный радикал I⁰ усиливает, по-видимому, радиационное повреждение жизненно важных молекул путем блокирования или снижения содержания внутриклеточных тиолов. Усиление поражающего действия γ -радиации зависит от количества токсических хинонов. Из облученных растений другими авторами выделены полифенолы с радиосенсибилизирующими свойствами, названные радиотоксинами.

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ЛОКАЛЬНОГО РАДИАЦИОННОГО ФАКТОРА АДРОНОВ
ВЫСОКИХ ЭНЕРГИЙ СЕРПУХОВСКОГО УСКОРИТЕЛЯ ПРОТОНОВ****Biological effects of local radiation factor of Serpukhov proton accelerator high
energy hadrons****Кожокару А.Ф., Юров С.С.**

Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение Науки Институт биофизики
клетки РАН, Московская область, г. Пущино, ул. Институтская, 3
Тел. (4967)73-93-81(раб.); факс (4967)33-05-09(адм.); E-mail aurelium@inbox.ru

Представлены результаты по исследованию морфо-генетических эффектов у семян кукурузы *Zea mays* L. в первом поколении (F_1) при хроническом воздействии вторичного излучения адронов высоких энергий (АВЭ) - ядерных частиц Серпуховского ускорителя протонов (коллайдера) как модели изучения жесткого космического излучения. Для биоэффектов излучений АВЭ, имеющих вторичное ЭМИ, характерны множественные макролокальные мутации, регистрируемые с низкой частотой, микромутации и эффекты сильного воздействия локального радиационного фактора (ЛРФ). Для ЛРФ, вызванного адронным взаимодействием, характерны множественная генерация вторичных частиц, малое угловое распределение треков образующихся частиц, возможность расщепления ядра любого элемента биологических молекул. При изучении влияния АВЭ относительно малых доз 10-40 Гр ускорителя в течение 5-25 суток на прорастание семян впервые обнаружены локальные адронные биологические эффекты (ЛАБЭ) воздействия ЛРФ. Они проявлялись в виде отклонений величин длины корневой системы и гипокотила, веса проростков на куполообразной кривой зависимости их от дозы облучения и придавали ей «пилообразный» характер. Меньшие дозы оказывали стимулирующее действие, а более высокие дозы – ингибирующее. Получены мутационные изменения у проростков, вызванные продуктами ионизации биологических молекул и радиолиза воды. Впервые был обнаружен гипокотельно-корневой ЛАБЭ. В лабораторных условиях при облучении АВЭ в дозе 75 Гр получен ЛАБЭ, связанный с действием ЛРФ и проявляющийся в виде 100%-ной гибели 10^{10} культуры фагочастиц в двух из 100 ампул. В полевом опыте в F_1 поколении *Zea mays* L. при ингибирующих высоких дозах ($8 \cdot 10^1 - 10^3$ Гр) хронического излучения АВЭ ускорителя на семена в течение 20-35 суток на дозовых зависимостях морфо-генетических признаков растений кукурузы также наблюдался ряд «выбросных» точек, соответствующих значениям ЛАБЭ, которые по критерию относительной биологической эффективности достигали величины 10. Обнаружена дозовая корреляционная зависимость по трем морфо-генетическим признакам и куполообразная - по 2 признакам, связанным с ГК, поскольку, как и в лабораторных опытах, ГК обладает большей чувствительностью к меньшим дозам облучения из-за того, что он образовался из завязи, непосредственно подвергнутой адронному облучению. О первичном воздействии АВЭ на ГК свидетельствовало также уменьшение чувствительности роста межулковых сегментов к облучению по мере удаления их от ГК. Как проявление специфических ЛАБЭ, не наблюдаемых в контроле и при γ -облучении, у некоторых растений вне дозовой зависимости отмечается появление мощных, разветвленных ярусных корней и перепутанных, смешанных корневых ярусов гипокотила, появление двух необычных, эмбрионально не развитых, новых карликовых растений высотой 20 см и 30 см, растущих в районе вторичных корней ГК. Ингибирующие дозы АВЭ приводят к уменьшению репарационной активности ДНК, энергетики клетки, ионного гомеостаза, пролиферативной активности, увеличению количества мутаций, при хроническом облучении АВЭ и при γ -облучении эти изменения меньше. Более высокая биологическая активность АВЭ по сравнению с γ -облучением обусловлена наличием анизотропных радикалов и их большей спектральной плотностью.

**АВТОМАТИЗИРОВАННЫЙ АНАЛИЗ МЕХАНИЗМА ФОРМИРОВАНИЯ ПОСЛЕДСТВИЙ
СОВМЕСТНОГО ДЕЙСТВИЯ ПОВРЕЖДАЮЩИХ ФАКТОРОВ РАЗНОЙ ПРИРОДЫ****Automated analysis of the development mechanism of consequences under combined
action of damaging factors of different nature****Козлов М.В., Маракулина К.М., Шишкина Л.Н.**

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4.
тел.: 8(495)939-71-86; факс.: 8(499)137-41-01; e-mail: wer-swamp@yandex.ru

Целью работы являлось изучение механизма формирования последствий совместно-го действия малотоксичных химических агентов (0,3% твин – 80 в 10% водном ацетоне) и рентгеновского излучения в дозах 4 и 5 Гр.

Показано, что однократное воздействие малотоксичных твин–80 и ацетона в малых дозах модифицирует интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в печени, изменяет физико-химические характеристики липидов и взаимосвязь между скоординированными в норме показателями, вызывая дисбаланс биохимических функций в печени.

Комплексный анализ экспериментальных данных и поиск корреляционных взаимосвязей между показателями невозможен без привлечения средств автоматизированной обработки данных. Поэтому нами были разработаны несколько программных модулей, позволивших автоматизировать процессы обсчета и поиска достоверных корреляций из более чем 3000 возможных. Такой подход позволил выявить ряд новых взаимосвязей между показателями системы регуляции ПОЛ в печени интактных мышей линии Balb/c и спустя месяц после воздействия.

Так, были обнаружены взаимосвязи между морфофизиологическими показателями и параметрами интенсивности ПОЛ, а также между морфофизиологическими показателями и составом фосфолипидов, при этом масштаб и характер полученных корреляций существенно различаются в зависимости от физико-химических характеристик липидов печени. Кроме того, комплексный анализ среднегрупповых показателей позволил обнаружить корреляции между процентом выживаемости мышей спустя месяц после совместного воздействия факторов разной природы и соотношением основных фракций фосфолипидов печени в соответствующих группах возрастного контроля. В связи с обнаружением данной корреляции был проведен поиск наиболее значимых параметров исходного состояния печени мышей линии Balb/c (самцы) для формирования биологических последствий совместного действия изученных факторов. Показано как отсутствие одинаковых корреляционных взаимосвязей, так и наличие двух групп взаимосвязей по величинам коэффициента корреляции при изменении дозы рентгеновского излучения. Это позволяет сделать предположение о существовании разных механизмов регуляции биохимических процессов в печени мышей, вклад которых в формирование последствий воздействия факторов разной природы зависит от дозы облучения.

Работа поддержана Программой фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» 2012г.

ЯДЕРНЫЙ СПИНОВЫЙ КАТАЛИЗ В НАНОРЕАКТОРАХ ЖИВОЙ КЛЕТКИ

Nuclear spin catalysis in nanoreactors of living cells

Кольтовер В.К.

Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка, Московская область, Россия,
Тел.: +7(496)522-25-81; факс: +7(496)522-35-07; e-mail: koltover@icp.ac.ru

Многие химические элементы имеют магнитные и немагнитные изотопы. Например, из трех стабильных изотопов магния, ^{24}Mg , ^{25}Mg и ^{26}Mg , природное соотношение которых приблизительно 79, 10 и 11%, ^{25}Mg имеет ядерный спин ($I=5/2$) и, соответственно, создает магнитное поле, тогда как ^{24}Mg и ^{26}Mg не имеют ядерного спина ($I=0$) и не создают магнитного поля. Возникает вопрос, способна ли живая клетка «чувствовать» магнитное поле атомного ядра? Изучив влияние различных изотопов магния на бактерии *E. coli*, мы обнаружили, что клетки, выращенные на магнитном изотопе, ^{25}Mg , существенно быстрее адаптируются к новой среде, в частности, формируют вдвое больше колоний на агаре, чем клетки, выращенные на немагнитных изотопах магния [1]. В экспериментах с другой общепринятой клеточной моделью, дрожжами *S. cerevisiae*, мы обнаружили, что магнитный ^{25}Mg , по сравнению с немагнитным ^{24}Mg , существенно эффективнее способствует восстановлению клеток после облучения коротковолновым УФ светом. Скорость восстановления клеток, обогащенных ^{25}Mg , оказалась вдвое выше по сравнению с клетками, обогащенными немагнитным изотопом [2]. Известно, что для репарационных процессов необходим АТФ, а для синтеза АТФ – ион Mg^{2+} в качестве кофактора. В работах А.Л. Бучаченко и его сотрудников было обнаружено, что окислительное фосфорилирование в изолированных митохондриях (*in vitro*) идет с ^{25}Mg вдвое эффективнее, чем с ^{24}Mg или ^{26}Mg , и высказано предположение, что ключевую роль в синтезе АТФ играет виртуальная ион-радикальная пара Mg^+ -фосфатный радикал аденозина [3]. Ядерный спин изотопа ^{25}Mg катализирует переход комплекса АДФ- Mg^{2+} из синглетного состояния в относительно долгоживущее триплетное, и, соответственно, повышается выход реакции синтеза АТФ. Имеются также основания полагать, что изотоп ^{25}Mg оказывает превентивный антиоксидантный эффект – препятствует образованию свободных радикалов в клетках [4]. Таким образом, обнаружены магнитно-изотопные эффекты в живых клетках, что открывает, в принципе, возможности создания новых анти-стрессовых препаратов, в том числе радиопротекторов, на основе стабильных магнитных изотопов.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект 10-03-01203а.

1. Кольтовер В.К., Шевченко У.Г. и др. / ДАН, 2012. Т. 442. С.272-274.
2. Гродзинский Д.М., Евстюхина Т.А. и др. / Доклады АН Украины, 2011. № 12. С.153-157.
3. Бучаченко А.Л. Новая изотопия в химии и биохимии. Москва: Наука, 2007.
4. Koltover V.K. In: Biomedicine (Ed. Lin C.). Zagreb: InTech, 2012, pp.105-122.

СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ И СТАРЕНИЕ: ОТ ХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ К СИСТЕМНОЙ ТЕОРИИ НАДЕЖНОСТИ**Free radical and aging: from chemistry to the systems theory of reliability****Кольтовер В.К.**

Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка, Московская область, Россия
Тел.: +7(496)522-25-81; факс: +7(496)522-35-07; e-mail: koltover@icp.ac.ru

Старение всех организмов характеризуется двумя простыми количественными закономерностями: отрицательная корреляция между видовой продолжительностью жизни и интенсивностью окислительного метаболизма («закон Рубнера») и экспоненциальный рост смертности с возрастом («закон Гомпертца»). Свободнорадикальная гипотеза старения [1] объясняет первую из них, но не может объяснить второй, так как в живых системах невозможны разветвленные цепные реакции. Теломерная гипотеза [2] не объясняет «закона Рубнера». Цель данной работы - показать, как обе эти гипотезы интегрируются на основе теории надежности биологических систем. Согласно «объединенной теории», причиной старения служит генетически запрограммированный дефицит надежности работы биосистем всех уровней организации – от молекулярных машин (нанореакторов) клетки до организма в целом. Высокая системная надежность обеспечивается превентивными мерами – своевременным обновлением функциональных элементов. Эта «профилактика отказов» находится под контролем особых функциональных элементов высшего иерархического уровня – «критические структуры» управления системной надежностью. В организме человека и животных таковыми служат, предположительно, генетические структуры специализированных нейронов супрахиазматического ядра гипоталамуса. Важнейшую роль в старении играет ограниченная надежность митохондриальных нанореакторов окислительного фосфорилирования: случайный сбой в электронном транспорте приводит к возникновению супероксидного радикала ($O_2^{\cdot-}$). Свободные радикалы и химические продукты их реакций вызывают структурно-функциональные нарушения в клетках. Смерть наступает, когда возрастные изменения в какой-либо «критической структуре» достигают генетически заданного порогового уровня, что приводит к фатальному снижению системной надежности. Теория надежности биосистем, даже в рамках простой математической модели, объясняет «закон Гомпертца» и «закон Рубнера», в частности, предсказывает, что продолжительность жизни человека могла бы достичь 250 лет при 100-процентной надежности защиты клеток и тканей от $O_2^{\cdot-}$ [3, 4]. Таким образом, свободно-радикальные часы – это эффективный и надежный механизм реализации генетической программы старения.

1. Harman D. / J. Gerontol., 1956. V. 11. P.298-300.

2. Оловников А.М. / ДАН, 1971. Т. 201. С.1496-1499.

3. Гродзинский Д.М., Войтенко В.П., Кутлахмедов Ю.А., Кольтовер В.К. *Надежность и старение биологических систем*. Киев: Наукова думка, 1987.

4. Koltover V.K. / Biophysics, 2011. V. 56. P.125-128.

ТЕХНОЛОГИЯ RAPD-МАРКЕРОВ В ЭКОЛОГИЧЕСКОМ МОНИТОРИНГЕ

RAPD markers technology in ecological monitoring

Конева О.Ю., Дромашко С.Е.

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси,
Республика Беларусь, 220072, Минск, ул. Академическая, 27;
Тел.: +375(17)284-21-90; факс: +375(17)284-19-17; e-mail: S.Dromashko@igc.bas-net.by

Используемые сегодня методы и методологии в экологическом мониторинге не способны выявить наличие умеренного влияния антропогенных факторов на окружающую среду по причине существования компенсаторных механизмов адаптации у биоты, не позволяющих проявиться заметным изменениям внешних макропараметров, таких как значимое снижение рождаемости в популяциях, изменение численности или структуры, отличное от обычного, обусловленного естественными факторами и т.д. Внедрение современных инновационных методов ДНК-технологий в мониторинг окружающей среды (молекулярных маркеров и др.) в сила обойти эти проблемы. Посредством применения данных методик малейшие изменения в генетической структуре будут замечены, что послужит сигналом к поиску факторов, вызывающих их, и выяснению их характера (антропогенный или естественный).

В качестве биоиндикаторов качества водной среды, состояния гидрозкосистем и их антропогенных изменений нами использованы две популяции легочного моллюска большого прудовика *Lymnaea stagnalis* из оз. Персток и затоки р. Припять – районов с различной степенью антропогенной нагрузки. Показана высокая информативность RAPD-технологии для характеристики генетических отношений внутри и между популяциями моллюсков *L. stagnalis*, для оценки структуры популяций, а также протекающих в них процессов. В частности, посредством метода RAPD-анализа установлено, что обе популяции являются генетически идентичными. Среднее значение индекса генетического подобия, вычисленное на основе анализа 154 RAPD-локусов, между двумя популяциями составило $0,665 \pm 0,005$, внутри популяции моллюсков оз. Персток – $0,670 \pm 0,013$, внутри популяции затоки р. Припять – $0,674 \pm 0,008$. Значения индексов указывают на то, что не существует значимых различий генетической изменчивости как между индивидами внутри популяций, так и между популяциями. Обнаружены также уникальные RAPD-маркёры для обеих популяций.

Созданная реперная база генетических данных, включающая аллельную частоту по 154 RAPD-локусам, может быть использована для дальнейшего изучения популяций *L. stagnalis*. Её следует также применять для идентификации происхождения или популяционной принадлежности животных *L. stagnalis* при проведении биоиндикаторных работ с помощью этого вида. Разработанный алгоритм проведения эколого-генетического мониторинга состояния водных ресурсов с использованием моллюсков *L. stagnalis* рекомендуется для оценки и прогнозирования изменений биоразнообразия водных сообществ при проведении мониторинга окружающей среды.

ЭФФЕКТ УЛЬТРАНИЗКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ И ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ**The effect of ultra-low concentrations and electromagnetic fields****Коновалов А.И., Рыжкина И.С.**

ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН, 420088, Казань ул. Акад. Арбузова, 8
Тел.: +7(843)231-91-70; факс: +7(843)273-22-53; e-mail: Konovalov@knc.ru

Водные растворы многих биологически активных соединений проявляют биоэффекты в двух областях концентраций: обычной и низкой (10^{-2} - 10^{-7} М) и ультранизкой (10^{-12} - 10^{-20} М). Мы предположили, что это явление может быть вызвано различным состоянием растворов в обычных и ультранизких областях концентраций.

Комплексом физико-химических методов (динамическое светорассеяние, электрофорез, кондуктометрия, тензометрия, рН-метрия) изучены водные растворы веществ различной природы в широкой области концентраций. Измерения проводились в нормальных и гипoeлектромагнитных (пермалловый контейнер) условиях [1-6].

Обобщая полученные результаты и исходя из всей совокупности проведенных нами работ, мы приходим к выводу, что открыт «эффект ультранизких концентраций и электромагнитных полей», который способен проявлять растворы многих (но не всех) химических соединений. Суть эффекта состоит в том, что в водных растворах соединений различной химической природы ультранизких концентраций и только при наличии внешних электромагнитных полей образуются наноразмерные (до 400 нм, ζ-потенциал от -2 до -20 мВ) структуры (наноассоциаты), инициированные растворенным веществом, но состоящие преимущественно из молекул воды. Изменение параметров наноассоциатов (D, ζ-потенциал) с изменением концентрации растворенного вещества определяет изменения физико-химических и биологических свойств растворов.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президиума РАН № 5, программы 6 ОХМН РАН и РФФИ (проект № 10-03-00147).

1. Рыжкина И.С., Муртазина Л.И., Киселева Ю.В., Коновалов А.И./ДАН, 2009 Т. 428. № 4. С. 487-491.
2. Рыжкина И.С., Муртазина Л.И., Коновалов А.И./ДАН, 2011.Т.440. №6. С.778-781.
3. Рыжкина И.С., Муртазина Л.И., Шерман Е.Д., Валитова Ю.Н., Катаев Е.А., Коновалов А.И./ДАН.2010. Т. 433. № 5. С. 647-651.
4. Рыжкина И.С., Муртазина Л.И., Шерман Е.Д., Пантюкова М.Е., Масагутова Э.М., Павлова Т.П., Фридланд С.В., Коновалов А.И./ДАН. 2011. Т. 438. №2. С.207-211.
5. И.С. Рыжкина, Ю.В. Киселева, Л.И. Муртазина, Н.П. Пальмина, В.В.Белов, Е.Л.Мальцева, Е.Д. Шерман, А.П. Тимошева, А.И. Коновалов /ДАН. 2011. Т.438. №5. С.635-639.
6. Ryzhkina I.S., Murtazina L.I., Nemtarev A.V., Mironov V.F., Kataev E.A, Konovalov A.I./Chemical Physics Letters,2011.V.511.P.247-250.

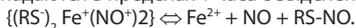
**ВВЕДЕНИЕ ДИНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА С ГЛУТАТИНОМ
ПРИВОДИТ К РАЗВИТИЮ АПОПТОЗА В СЕТЧАТКЕ ГЛАЗА****An injection of the DNIC-GSH into the eye results in the retina apoptosis development****Константинова Т.С.¹, Бугрова А.Е.¹, Шевченко Т.Ф.¹, Ванин А.Ф.², Каламбаров Г.Р.¹**

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

2 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4
Тел.: +7(495) 939-74-05; факс: +7(499) 137-41-01; e-mail: ts.konst@gmail.com

В сетчатке глаза обнаружена высокая концентрация оксида азота. Нами разработана модель ишемии сетчатки на экспериментальных животных и на этой модели было показано, что снижение концентрации NO путем введения ингибитора NO-синтазы L-NAME предотвращает развитие апоптоза. Увеличение концентрации внутриклеточного NO может вызывать гибель клеток, и наиболее вероятным механизмом развития апоптоза, опосредованного оксидом азота, является образование пероксинитрита (ONOO⁻) в результате взаимодействия NO с супероксид-анион радикалом (O²⁻). Пероксинитрит, как известно, является сильным проапоптотическим фактором.

Целью данной работы было показать, что увеличение концентрации оксида азота действительно приводит к развитию апоптоза. В качестве донора оксида азота нами были выбраны динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) – соединения, которые всегда присутствуют в органах и тканях и являются одной из форм депонирования NO; в крови они распадаются в пределах 1 часа с выделением оксида азота:



Введение ДНКЖ с глутатионом (10^{-2} – 10^{-8} моль/глаз) в стекловидное тело глаза через сутки приводило к появлению апоптотических ядер в сетчатке. Методом TUNEL было выявлено, что апоптозу подверглись клетки внутреннего ядерного и ганглиозного слоев сетчатки. При этом апоптоз был выявлен только при введении ДНКЖ с глутатионом в дозах 10^{-7} и 10^{-8} моль/глаз (30% и 70% ядер клеток внутренних слоев сетчатки, соответственно). А при введении препарата в концентрации 10^{-6} и 10^{-5} моль/глаз апоптотические ядра в сетчатке не были обнаружены.

Глутатион, который входит в состав комплексов ДНКЖ, как известно, является антиоксидантом и мог бы подавлять образование пероксинитрита. Чтобы проверить это предположение, в стекловидное тело глаза вводили ДНКЖ в таких же дозах (10^{-5} – 10^{-8} моль/глаз) с 10-кратным избытком глутатиона. При этом ни в одном из случаев апоптоз клеток сетчатки не обнаруживался.

Таким образом, увеличение концентрации оксида азота в сетчатке глаза приводит к развитию апоптоза, которое может быть предотвращено введением глутатиона.

КРИВЫЕ ИНДУКЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА *THALASSIOSIRA WEISSFLOGII* ПРИ РАЗНЫХ ИНТЕНСИВНОСТЯХ ВОЗБУЖДАЮЩЕГО СВЕТА**И. В. Коныхов**

Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова. Биологический факультет, кафедра биофизики. 119991, г. Москва, Ленинские Горы, д. 1, стр. 24. тел (495) 939-51-50. e-mail: vanka.kon@gmail.com

Как известно, интенсивность флуоресценции хлорофилла *in vivo* в первую секунду после начала освещения увеличивается в несколько раз (явление индукции флуоресценции). Данный процесс связан с фотохимическим восстановлением первичного хинона фотосистемы 2 (ФС2) Qa, который в исходном окисленном состоянии является тушителем возбужденных молекул хлорофилла светособирающей антенны ФС2.

Время, за которое интенсивность флуоресценции достигает максимального уровня, определяется частотой поступления квантов со светособирающего антенного комплекса ФС2 на реакционный центр. При заданной интенсивности возбуждающего света эта частота прямо пропорциональна эффективному сечению поглощения антенного комплекса ФС2 (σ_{PSII}). Параметр σ_{PSII} зависит от общего количества фотосинтетических пигментов, ассоциированных с ФС2. Измеряя σ_{PSII} можно следить за динамикой размера светособирающей антенны ФС2 в изменяющихся условиях, в частности при адаптации растений к разной освещенности.

Индукционные кривые микроводоросли *Thalassiosira weissflogii* были измерены на приборе, разработанном на кафедре биофизики Биологического факультета МГУ. Импульс возбуждающего света (длина волны 455 нм) имеет прямоугольную форму и продолжительность 1.5 с. Плотность потока квантов в данном импульсе (I_0) изменяли в пределах 200-12000 мкмоль·м⁻²·с⁻¹. Запись сигнала флуоресценции начинается в момент включения возбуждающего света и оканчивается в момент его выключения. Показано, что при изменении интенсивности возбуждающего света происходит изменение формы индукционных кривых.

Мы анализировали изменение параметров фотохимического участка индукционной кривой – характеристического времени (τ_1) и амплитуды (A_1). Увеличение интенсивности возбуждающего света приводит к уменьшению τ_1 и увеличению A_1 . Экспериментальные зависимости τ_1 и A_1 от интенсивности возбуждающего света I_0 были описаны в рамках упрощенной схемы переноса электрона в ФС2. В данной модели реакции считаются необратимыми, а перенос первого и второго электрона с Qa на Qb характеризуется одной и той же константой скорости k_2 .

Наши эксперименты позволили сформулировать алгоритм определения сечения поглощения ФС2 (σ_{PSII}) и константы скорости переноса электрона (k_2) с первичного хинонно-акцептора ФС2 на вторичный *in vivo*. Алгоритм подразумевает измерение семейства индукционных кривых при разных интенсивностях возбуждающего света. Параметры σ_{PSII} и k_2 могут быть использованы в качестве дополнительных характеристик состояния фотосинтетического аппарата при работе с лабораторными культурами водорослей и с природным фитопланктоном.

РАСЧЕТНО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК ПОЛЯ ИЗЛУЧЕНИЯ ИМПУЛЬСНОГО НЕЙТРОННОГО ГЕНЕРАТОРА В ДИАПАЗОНЕ НИЗКИХ ДОЗ**Experimental studies and calculations of radiation field characteristics of pulsed neutron generator at low doses****Корякина Е.В., Потетня В.И., Леонова Е.М., Ульяненко С.Е.**

ФГБУ Медицинский радиологический научный центр МЗ РФ,
249036, г. Обнинск, ул. Королева, 4
Тел.: +7(48439)9-72-10; факс: +7(48439)9-72-10; e-mail: ek-koryakina@mail.ru

Наблюдаемая нерегулярная форма дозовой кривой выхода aberrаций хромосом (АХ) в лимфоцитах человека при действии импульсного нейтронного излучения с энергией 14 МэВ с участками гиперчувствительности (ГЧ) в области доз 0,1–0,15 Гр и индуцированной резистентности (ИР) при дозах 0,15–0,25 Гр (плато) [1], для своего подтверждения требовала проведения детального исследования дозиметрических характеристик действующего радиационного поля и по возможности точно учесть все компоненты поглощенной дозы, учитывая рассеянное нейтронное и γ -излучение, их энергетический спектр, от которого в значительной мере зависит величина биологического эффекта. Используемый в работе импульсный нейтронный генератор ИНГ-031 является прототипом медицинских установок для нейтронной терапии, при проведении которой воздействию нейтронов в дозах диапазона ГЧ/ИР подвергаются здоровые органы и ткани.

В экспериментальных и расчетных дозиметрических исследованиях точно моделировали условия проведения цитогенетических опытов, включая геометрию облучения, объем крови, способ размещения (один на другой), и т.д. Среднюю мощность дозы нейтронов и сопутствующего γ -излучения измеряли с помощью дозиметрической системы Unidos с парой ионизационных камер (тканезквивалентной, магниевой). Поток нейтронов и среднюю керму определяли трековыми детекторами деления с мишенями из ^{238}U и ^{237}Np . Методом Монте-Карло рассчитывали спектры, средний поток и керму нейтронов и γ -излучения в образцах крови.

Получено, что изменение дозы нейтронов в зависимости от расстояния в расчетном и экспериментальном исследованиях совпадает, в том числе в области низких доз. Одинаковые, в пределах погрешностей, результаты измерений пороговыми детекторами ^{237}Np и ^{238}U указывают, что вклад рассеянных нейтронов вдали от мишени мало влияет на показания детекторов. Результаты расчетов методом Монте-Карло показали, что керма на 95–98% обусловлена нейтронами с энергией 14 МэВ, и за счет рассеяния нейтронов от стола, пола и стен помещения возрастает всего на 2% для нижнего флакона Карреля и не изменяется для верхнего флакона с образцами крови. Результаты работы подтверждают феномен, что в области низких доз нейтронного излучения ИНГ-031 на дозовой зависимости выхода АХ проявляется участок ГЧ/ИР в диапазоне доз 0,12–0,25 Гр.

ВЛИЯНИЕ АМПЛИТУДНО-МОДУЛИРОВАННОГО АКУСТИЧЕСКОГО БЕЛОГО ШУМА НА ПАРАМЕТРЫ ГЕМОДИНАМИКИ У ЧЕЛОВЕКА**Influence of the amplitude-modulated acoustic white noise on the parameters of the hemodynamic in human****Красников Г.В.¹, Пискунова Г.М.¹, Танканаг А.В.², Чемерис Н.К.^{1,2}**

¹ – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н.Толстого», 300026, г. Тула, пр. Ленина, д. 125

² – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биофизики клетки Российской академии наук,

142290, Московская обл., г. Пущино, ул. Институтская, д. 3

Тел.: +7(4872)357813; факс: +7 (4872)357807; e-mail: physiology@tspu.tula.ru

Как известно, информационная нагрузка у человека сопровождается изменением ряда параметров гемодинамики, обусловленных активацией вегетативной нервной системы. В этой связи целью нашей работы было исследование частотных эффектов амплитудно-модулированного низкоинтенсивного белого шума в звуковом диапазоне на характеристики кровотока в системе микроциркуляции кожи и вариабельности сердечного ритма (ВСР) у человека.

Исследование проведено на группе из 26 практически здоровых некурящих девушек и юношей 18-25 лет. Осуществляли регистрацию сердечного ритма (полиграф CONAN-m, Россия), частоты внешнего дыхания (ленточный торакальный датчик) и перфузию кровью кожи предплечья и пальца посредством лазерной доплеровской флоуметрии (НПП «ЛАЗМА», Россия). Сигналы анализировали на основе амплитудных спектров на базе алгоритмов, реализующих непрерывное, адаптивное вейвлет-преобразование. Испытуемых подвергали аудиальному воздействию стационарного немодулированного и амплитудно-модулированного (несущего информационную нагрузку) белого шума. Максимальный уровень шума составлял примерно 20 dB, глубина модуляции около 90%, частоты модуляции: 0.1, 0.08, 0.06, 0.04 и 0.02 Гц. Шумовое воздействие длилось 5 минут, а для частоты модуляции 0.02 Гц – 10 минут. Во время воздействия испытуемые отслеживали ритм модуляции, фиксируя моменты наибольшей громкости шума.

Достоверных изменений параметров дыхания в условиях воздействия шума не выявлено. Немодулированный шум также не оказывал значимого влияния на ритмическую структуру ритма сердца и колебаний периферического кровотока. Влияние амплитудно-модулированного шума, напротив, приводило к появлению в спектрах ВСР и кровотока кожи выраженных колебаний на частотах, соответствующих частотам модуляции шума. Обнаружено достоверное увеличение амплитуды колебаний при частотах модуляции 0.06, 0.08 и 0.1 Гц для ВСР и при всех режимах модуляции для кровотока кожи. Таким образом, микроциркуляторный кровоток оказывается наиболее чувствительным к указанным условиям. Для спектров ВСР наибольшая амплитуда колебаний была характерна для частоты модуляции 0.1 Гц. Для микроциркуляторного кровотока кожи эффекты имеют частотно-зависимый характер: максимальная амплитуда стимулированных колебаний наблюдается при частоте модуляции 0.08 Гц, наименьшая – на частоте 0.1 Гц. Полученные результаты могут быть обусловлены активностью симпатической нервной системы, вызванной ментальным стрессом.

Работа поддержана грантом РФФИ № 12-04-01378а.

ВЛИЯНИЕ ЭМИ РАДИОЧАСТОТНОГО ДИАПАЗОНА НА ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ КРЫС**Effect of radio waves on the properties of erythrocyte membranes of rat blood****Крылов В.Н., Ошевенский Л.В., Дерюгина А.В., Дуля Е.В.**

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского
603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23 к1
Тел.: +7(831)465-61-23 ; факс: e-mail: kfg@bio.unn.ru.

Многочисленными исследованиями установлено о неблагоприятном влиянии ЭМИ радиочастотного диапазона на живой организм. Показано, что излучения являются физическим раздражителем, который приводит к развитию функциональных и органических нарушений со стороны нервной, эндокринной, сердечно-сосудистой, иммунной, кроветворной и других систем организма. Первичный механизм теплового действия ЭМИ изучен довольно обстоятельно. В то же время объяснения механизма нетеплового действия излучения остается открытым. Эффекты слабых полей объясняют кооперативными процессами, основанными на резонансных взаимодействиях биологических макромолекул. Считается, что ими являются вода и белковые молекулы, входящие в состав мембраны, причем резонансные эффекты миллиметровых волн связывают с синхронизацией колебаний осцилляторов живой клетки (колебания групп гема в молекуле гемоглобина эритроцита или колебания белковых молекул в мембране), а дециметровых волн - с резонансными свойствами кластеров воды (1). Для объяснения эффектов часто используется теория Фрелиха, согласно которой, при воздействии электромагнитной энергии может произойти полярная перестройка биомолекул, способная дать на резонансной частоте колебания большой амплитуды за счет перекачки энергии, как это наблюдается в химических лазерах. Целью работы являлось исследование влияния ЭМИ радиочастотного диапазона на электрокинетические свойства мембран эритроцитов крови крыс – их электрофоретическую подвижность (ЭФПЭ). Лабораторные животные крысы в течение 45 минут подвергались тотальному воздействию радиочастотного излучения в диапазоне 600-1250 МГц при ППЭ 2-4 мкВт/см². В результате исследований установлено, что ЭФПЭ при действии ЭМИ увеличивается до 64,5%, причем изменения подвижности в выбранном диапазоне частот имеют амплитудно-частотную зависимость. Изучение состояния липидов мембраны эритроцитов показало, что количество МДА увеличивается от 20 до 165%, причем, как и в случае с ЭФПЭ имеет амплитудно-частотную зависимость. Предварительная активация раствора в суспензии эритроцитов ЭМИ в диапазоне резонансных частот воды (2) увеличивала ЭФПЭ на 12,3%, а МДА - на 13,5%. Полученные результаты позволяют предположить, что при действии ЭМИ радиочастотного диапазона на организм животных изменяется электрогенные свойства мембран клеток, Эти изменения могут происходить за счет изменения состояния липидного слоя мембраны и активации водной клеточной среды.

1. Б. Н. Орлов, А. В. Казаков. Биологические основы действия электромагнитных излучений на организм: монография. 2009. 260 с.
2. Кожокару А.Ф., Кожокару Н.Л., Бурковецкая Ж.И. Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. 2006. № 8-9. С. 58-68.

ВЛИЯНИЕ ЭМИ РАДИОЧАСТОТНОГО ДИАПАЗОНА НА РЕАКЦИИ ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС**Effect of radio waves in the reaction of vegetative nervous system of rats****Крылов В.Н., Ошевенский Л.В., Глухова О.В., Борзиков В.В.**

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского
603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23 к1
Тел.: +7(831)465-61-23 ; факс: e-mail: kfg@bio.unn.ru.

Несмотря на большое число исследований, посвященных изучению действия ЭМИ радиочастотного диапазона на живой организм, до сих пор нет единого мнения о механизмах воздействия. По мнению ряда исследователей, механизм действия ЭМИ различной частоты на организм представляется как результат опосредованного действия через ЦНС, но также возможно непосредственное влияние на биохимические и биоэлектрические процессы в тканях и органах (1). Целью данной работы являлось изучение действия ЭМИ радиочастотного диапазона на реакции вегетативной нервной системы крыс. Лабораторные животные крысы, частично иммобилизованные, были тотально подвержены действию СВЧ излучения в диапазоне частот 600-1250 МГц при ППЭ равном 2-4 мкВт / см² в течение 45 мин. Во время исследований регистрировали ЭКГ и изучали вариабельность сердечного ритма методом спектрального анализа в диапазоне частот для крыс VLF (0,18 - 0,32), LF - НЧ (0,32 - 0,9 Гц), HF - ВЧ (0,9 - 3,5 Гц) и TP (0,18 - 3,5 Гц). В результате исследований установлено, что излучения в диапазоне частот 800-950 МГц, вызывают повышение активности как парасимпатического, так и симпатического отдела вегетативной нервной системы, причем максимум повышения активности происходит в диапазоне частот 800-850 МГц. Индекс парасимпатической активности (HF) увеличился на 94,4%, симпатической активности (LF) на 85,7%, стресс индекс (SI) составил 191,1% от индекса при исходном вегетативном статусе. Такая активация функции вегетативной нервной системы (ВНС) в данном диапазоне частот свидетельствует, что данный диапазон ЭМИ как внешний физический раздражитель активировал симпатические реакции организма, но не нарушал баланса отделов ВНС. При этом раздражитель усиливал эрготропный обмен и стимулировал активность реакций трофотропного обмена. В то же время ЭМИ в диапазоне резонансных частот воды (2) 1000-1100 МГц увеличивал стресс-индекс (SI) на 39,1% и уменьшал активность парасимпатических реакций (HF). Это может свидетельствовать, что раздражитель вызывает угнетение трофотропных реакций и снижает адаптационные процессы в организме. Исследования показали, что ЭМИ выбранного радиочастотного диапазона вызывают разнонаправленные изменения со стороны реакций вегетативной нервной системы, причем характер ответов имеет амплитудно-частотную зависимость.

1. Физические факторы: Эколого-гигиеническая оценка и контроль. Руководство в 2-х томах. Под ред. Измерова Н.Ф. и Суворова Г.А. М.: 1999 г., т.1, 325 с.; т.2, 433 с.

2. Резников К.М. Вода жизни // Прикладные информационные аспекты медицины. - 2001. - Т. 4. - С. 3-10.

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ СКОРОСТИ ПОТРЕБЛЕНИЯ КИСЛОРОДА
АЭРОБНЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ КАК ПОДХОД ДЛЯ РЕШЕНИЯ
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ЗАДАЧ**

**Determination of the consumed oxygen speed by aerobic microorganisms as an
approach to solution of microbiological tasks**

Кувичкина Т.Н., Решетилов А.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и
физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук,
142290 г. Пушино Московской области пр. Науки, 5
Тел. 8(4967) 31-86-99 факс 8(495) 956-33-70 e-mail kuv@ibpm.pushchino.ru

Биосенсорный подход контроля за загрязнениями, используемый нами, основан на регистрации потреблённого кислорода микроорганизмами, окисляющими субстрат. Функционально установка для эксперимента (биосенсорная установка) состояла из двух частей: рецепторного элемента (микробные клетки в свободном или иммобилизованном состоянии) и кислородного электрода Кларка. Электрод являлся преобразователем, который служил для превращения биохимического сигнала в электрический. Целью работы являлось определение скорости потребления кислорода клетками аэробных микроорганизмов. Разработка моделей биосенсоров для определения низкомолекулярных органических соединений растворимых в воде (потенциальных загрязнителей), относящихся по химическому строению к разным классам (алифатические и моноароматические соединения). Микроорганизмы выращивали при глубинном культивировании в периодических условиях в колбах на качалке. Выращенную биомассу отделяли центрифугированием, промывали буфером. Далее биомассу ресуспендировали в подходящем буфере и наносили на носитель (иммобилизация методом физической адсорбции) и/или метод включения в гель, подсушивали и прикрепляли полученный рецептор к кислородному электроду. Измерения проводили в буфере, насыщенном кислородом в открытой кювете с помощью потенциостата IPC-Micro ООО «Кронас» (Россия). Для управления прибором и регистрации измерений использовался персональный компьютер. Потенциостат IPC-Micro управлялся программой, позволяющей регистрировать отклик рецепторного элемента. Регистрируемым параметром являлась максимальная скорость изменения выходного сигнала di/dt (нА/с), связанная пропорциональной зависимостью со скоростью изменения концентрации потребленного кислорода. В результате исследований получены следующие результаты.

Разработаны микробные сенсоры амперометрического типа для определения некоторых загрязнителей в водной среде, а именно, первичных алифатических спиртов метанола, тиодигликоля (основной продукт гидролиза иприта); моноароматических соединений фенола, 2,4-динитрофенола, *n*-толуолсульфоната, и биологического (биохимического) потребления кислорода.

Исследование оценки окислительной активности штаммов в присутствии арсенита может использоваться при скрининге штаммов, резистентных к мышьяку.

Предложен метод определения эффективности бактериолитического действия ферментных препаратов (на примере лизоамидазы).

Таким образом, определение скорости потребления кислорода клетками аэробных микроорганизмов позволяет решить ряд задач в микробиологических исследованиях. В качестве достоинств такого подхода следует отметить, что для этих экспериментов требуется небольшое количество биомассы (мг) и меньшее время исследования по сравнению с другими методами.

**ВЛИЯНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ГИПОМАГНИТНОГО ПОЛЯ
НА ФИБРОБЛАСТЫ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА****Effect of the hypomagnetic field on human skin fibroblasts****Куранова М.Л.¹, Спивак И.М.², Стефанов В.Е.³**

¹Санкт-Петербургский Государственный Политехнический Университет,
г. Санкт-Петербург, 195251, ул. Политехническая д. 29 Тел.:8(812)297-20-95;

²Институт Цитологии РАН, г. Санкт-Петербург, 194064, пр. Тихорецкий, д.4,
Тел.:8(812)297-12-13;

³Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, 199034 наб. Макарова, д.6,
Тел.:(812)3280701Факс:(812)3280501

На сегодняшний день механизмы воздействия сверхслабых электромагнитных полей на биологические объекты остаются открытыми. Невозможность стандартизировать условия проведения научного эксперимента является одной из основных проблем для экспериментаторов. В нашем исследовании мы применяли экранирование замкнутого объема материалом с большей магнитной проницаемостью. При таком подходе техногенные наводки не страшны, но существует необходимость размещения биологических объектов по оси экранирующих цилиндров или в центре экранирующих сфер, что обусловлено особенностью прохождения магнитно-силовых линий в таких материалах. На предприятии «Прометей» г. Санкт-Петербург из специального композита АМАГ-172 была сконструирована экранирующая камера (с коэффициентом экранирования 250 по постоянной составляющей внешнего магнитного поля, ослабляя магнитное поле Земли (48 мкТл) до величины 0,192 мкТл), конструкция которой позволяла избежать «магнитных дыр» в экране. В качестве биологической модели были выбраны клеточные линии, полученные от здорового человека (VH-10) и двух пациентов с синдромом атаксия-телеангиэктазия (Луи-Бар) (AT6SP и AT9SP). Данное наследственное нейродегенеративное заболевание с мозжечковой атаксией характеризуется множественными телеангиэктазиями, нарушением иммунитета и склонностью к злокачественным новообразованиям. В клетках больных повышена чувствительность к действию ионизирующей радиации и химических мутагенов, наблюдается ломкость хромосом и признаки преждевременного старения. В исследуемых линиях изучались изменения количество маркеров старения, белков p53BP1 и p21^{Waf1/Cip1}. Данные после иммунофлуоресцентного анализа показали, что в разных семьях мы, вероятно, имеем дело с разными мутациями: через 24 ч после облучения сохраняется достоверно большее количество фокусов 53BP1, хотя через 2.5 ч его количество почти не отличалось от такового в контроле. В штамме AT8SP основные различия, напротив, отмечаются через 2.5 ч после облучения, а к 24 ч различия практически нивелируются. У гетерозиготных носителей мутантного гена *atm* не выявляется достоверных различий количества P21 по сравнению с клетками здорового донора, не позволяет использовать этот маркер для выявления такого носительства, но дает возможность анализировать процессы повышенной радиочувствительности и преждевременного старения на клеточном уровне. Вероятно, такое нарушение регуляции клеточного цикла связаны в первую очередь не с P21, а с какими-то другими АТМ-зависимыми факторами.

СТИРИЛЦИАНИНОВЫЕ КРАСИТЕЛИ КАК ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ЗОНДЫ

Styrylcyanine dyes as fluorescent probes**Курталиев Э.Н., Низомов Н., Тияев М.**

Самаркандский государственный университет им. А.Навои
140103 Самарканд, Университетский бульвар 15,
Тел.: +998906064398; факс: +998662311586; e-mail:kurtaliev@rambler.ru

Органические красители широко используются в лазерах на красителях в качестве активного вещества [1], в аналитической химии для определения микроколичеств различных элементов [2] и в других областях науки техники. В медико-биологических исследованиях в качестве флуоресцентных зондов и меток в последнее время стали использовать стирилцианиновые красители [3]. В данной работе приводятся результаты изучения спектрально-люминесцентных характеристик некоторых стирилцианиновых красителей F, Sil, Sbo и их производных в водных растворах без и в присутствии бычьего сывороточного альбумина (БСА).

Установлено, что в интервале концентраций 10^{-6} - 10^{-5} М форма спектров поглощения и флуоресценции изученных красителей остается постоянной, и они относятся к мономерной форме. На основе экспериментальных данных для водных растворов красителей находящихся в мономерной форме, определены основные спектрально-люминесцентные характеристики: коэффициент экстинкции (ϵ), сила осциллятора (f_{ij}), радиационное время жизни возбужденного состояния (τ), частота чисто электронного перехода ($\nu_{0,0}$) и величина стоксового сдвига (SS). Квантовый выход водных растворов красителей низкий и примерно равен 0.01-0.02. Обнаружено, что по мере увеличения концентрации БСА в растворе форма спектров поглощения и флуоресценции красителей F, S-33, Dst-5, Dst-10, D-184, Sbo, Sil и S-3 остается постоянной, при этом интенсивность поглощения незначительно уменьшается. В этих же условиях в спектрах поглощения красителей Tol-6, Dil-10 и Dbo-10 наблюдаются новые полосы, расположенные со стороны длинных волн, а для красителей S-13 и Tol-3 со стороны коротких длин волн по отношению к полосе мономерных молекул. Интенсивность свечения флуоресценции водных растворов красителей в присутствии БСА возрастает от 2 до 44 раз. Определены биофизические параметры: константа связывания (K) и число мест связывания (N) молекул красителей с БСА. Установлено, что гомодимерные стирилцианиновые красители Dst-5, Dst-10, Dil-10 и Dbo-10 имеют сильную зависимость спектрально-люминесцентных свойств от длины связывающей группы и показали увеличенное сродство к связыванию с БСА. Установлена зависимость константы связывания от дипольного момента молекул красителей, которая показала, что помимо сил электростатического притяжения между молекулами красителей с БСА, существенное значение имеют гидрофобные взаимодействия. На основе полученных результатов даны рекомендации о применении некоторых красителей в качестве флуоресцентных зондов в медико-биологических исследованиях.

Работа выполнена при поддержке гранта №3104, (УНТЦ, Украина).

Авторы выражают благодарность д.х.н., проф. С.Н. Ярмолуку из Института Молекулярной биологии и генетики НАН Украины за предоставленные соединения.

1. В.А. Светличный, О.К. Базиль и др./ Квантовая электроника. 2009. Т. 39. № 8. с. 739-744.
2. P. Imon, M. Landl et al. / Sensors and Actuators B: Chemical. 2003. V.90. №1-3. P.9-14.
3. A. Matusk, B.G. Mitrea et al. / Heart Rhythm. 2007. V.4. №11. P.1441-1451.

ПОСТРАДИАЦИОННАЯ АКТИВАЦИЯ ПРОТЕАЗ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ГИСТОНАМИ ЯДЕР СЕЛЕЗЕНКИ И ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС**Postirradiation activation of proteases associated with spleen and brain nuclear histones of rats****Куцый М.П.**

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
142290, г. Пущино Московской области, ул. Институтская, 3
Тел.: (4967)739-459; факс: 8(4967)33-05-53; e-mail: m_kutsyi@rambler.ru

Протеолиз является важным звеном в регуляции многих биохимических процессов. В последние годы в ряде исследований показано наличие протеолитической активности в хроматине различных клеток животных. Ранее было показано, что протеазы могут быть непосредственно ассоциированы с гистонами. Однако функции протеаз, связанных с гистонами, не полностью выяснены. В проведенных нами исследованиях обнаружено, что с гистонами из ядер клеток селезенки и головного мозга крыс ассоциированы протеазы, специфически расщепляющие гистоны. При этом было установлено, что активность связанных с гистонами протеаз в ядрах интенсивно пролиферирующих клеток селезенки значительно выше, чем активность данных протеаз в ядрах клеток головного мозга. Гамма-облучение животных в дозе 10 Гр приводит к увеличению активности протеаз, ассоциированных с гистонами. При инкубации суммарных гистонов, выделенных из ядер клеток селезенки через 2, 4 и 24 часа после облучения крыс, расщепление протеазами гистонов H1, H2A, H2B и H3 постепенно возрастает. Через 2 и 4 часа после облучения животных также происходит увеличение активности гистон-связанных протеаз из ядер клеток головного мозга, расщепляющих коровые гистоны. В то же время наибольшая активация протеаз, расщепляющих гистон H1, наблюдается через 2 часа после облучения. Увеличение расщепления гистона H1 в присутствии в инкубационной среде ДНК свидетельствует об ассоциации с гистонами активируемой радиацией ДНК-зависимой протеазы, специфичной к гистону H1. Параллельно с увеличением активности протеаз, ассоциированных с гистонами, происходит понижение содержания суммарных гистонов в ядрах клеток селезенки через 4 и 24 часа после облучения животных. В ядрах клеток головного мозга облученных крыс также наблюдается понижение содержания гистонов, однако оно значительно меньше, чем в ядрах клеток селезенки. Облучение животных вызывало также изменения в относительном содержании отдельных фракций в гистонах, полученных из ядер клеток селезенки и головного мозга. Индуцированный радиацией протеолиз гистона H1 и коровых гистонов в ядрах клеток селезенки и головного мозга может привести к деконденсации хроматина и деградации ДНК нуклеазами. Полученные результаты свидетельствуют о том, что протеазы, ассоциированные с гистонами, принимают участие в регуляции процессов транскрипции, репликации и деградации ДНК.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОБИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ НА ОСНОВЕ ПОРФИРАЗИНОВЫХ КОМПЛЕКСОВ**Investigation of photobiology properties of potential photosensitizers based on porphyrazine complexes**

Леканова Н.Ю.¹, Балалаева И.В.¹, Клапшина Л.Г.³, Лермонтова С.А.^{1,3}, Мысягин С.А.¹, Ширманова М.В.²

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

²- Нижегородская государственная медицинская академия, 603005, Нижний Новгород, ул. Минина, 10, к. 1

³-Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, 603950, Н. Новгород, Тропинина ул., 49

Тел.: +7(831)465-61-06; факс: +7(831)465-61-04 ; e-mail: nat-lekanova@yandex.ru

В настоящее время в мире ведется активный поиск новых фотосенсибилизаторов с целью повышения эффективности флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии.

Целью данной работы является исследование фотобиологических свойств потенциальных фотосенсибилизаторов на основе порфиразиновых комплексов.

В ходе работы синтезирована группа металлопорфиразиновых комплексов с разными боковыми заместителями. Получены их стабильные биосовместимые формы путем заключения комплексов в мицеллы на основе полиэтиленгликоля (ПЭГ 6000), метилцеллюлозы и альгината натрия. Показано, что порфиразиновые комплексы, обладают высоким коэффициентом поглощения и сильной люминесценцией в области оптического «окна прозрачности» биотканей. Изучены спектры поглощения и флуоресценции комплексов различного состава и зависимость интенсивности флуоресценции от типа мицелл и характеристики среды (вода, сыворотка крови, раствор альбумина). Зарегистрировано значительное усиление флуоресценции комплексов в сыворотке крови и растворе альбумина, что может свидетельствовать об их связывании с белками. Показана способность комплексов к генерации синглетного кислорода при облучении. Выявлено, что порфиразиновые комплексы быстро накапливаются в опухолевых клетках в культуре и концентрируются вокруг ядра в виде везикул. Выполнена оценка темновой и световой токсичности исследуемых соединений по сравнению со стандартными препаратами «Фотосенс» и «Фотодитазин».

Выполнены предварительные эксперименты по оценке фармакокинетики на животных методом просветного флуоресцентного имиджинга *in vivo*. Показано, что максимальное накопление препарата в опухоли происходит в течение 6-10 часов после введения. Практически полное выведение из организма наблюдается через 48 ч после инъекции. Более длительное (свыше 6 суток) удержание порфиразиновых комплексов отмечено в коже и опухоли. Данные, полученные методом просветного флуоресцентного имиджинга *in vivo*, подтверждены методами спектроскопии и конфокальной микроскопии образцов тканей *ex vivo*. В целом, металлопорфиразиновые комплексы, по своим оптическим свойствам и особенностям взаимодействия с биологическими объектами представляют интерес в качестве потенциальных фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии и/или флуоресцентных маркеров.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (гранты №№11-04-97100, 11-02-00916, 12-04-90031) и Министерства образования и науки РФ (ГК №№14.740.11.0253, 16.512.11.2140, 11.G34.31.0017).

**ТУШЕНИЕ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ОРГАНИЧЕСКИХ КРАСИТЕЛЕЙ
В ЖИВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЯХ****Luminescence quenching of organic dyes in living biological tissue****Летута С.Н., Кувандыкова А.Ф., Пашкевич С.Н.**Оренбургский государственный университет, 460018, г. Оренбург, пр. Победы, 13
Тел.: +7(3532)37-25-08; e-mail: kuvandykova@mail.ru

В настоящей работе представлены результаты исследования тушения замедленной флуоресценции (ЗФ) и фосфоресценции экзогенных флуорофоров в опухолевых и здоровых тканях молочной железы мышей линии BYRB. В качестве экзогенных флуорофоров были выбраны красители ксантенового ряда – эритрозин и эозин. Экспериментально измерялась кинетика ЗФ и фосфоресценции молекул красителей. Для возбуждения молекул использовалось излучение второй гармоники неодимового лазера с длиной волны 532 нм. Кинетика длительной люминесценции регистрировалась с помощью ФЭУ-84 через монохроматор МДР-41. Оцифровка аналоговых сигналов и их последующая обработка осуществлялись автоматически. В клетках биотканей содержатся различные тушители триплетных состояний флуорофоров. Показано, что при нормальных условиях наиболее эффективен тушителем триплетных состояний ксантеновых красителей в тканях является молекулярный кислород. В результате тушения T_1 -состояний молекул красителей образуется синглетный кислород. Оставшиеся непотушенными триплетные состояния красителей могут аннигилировать с образовавшимся синглетным кислородом. В реакции синглет-триплетной аннигиляции образуются синглетные S_1 -состояния флуорофоров, дающие дополнительный вклад в ЗФ. Поэтому регистрируемая кинетика ЗФ красителей складывается из трех сигналов различной природы – термоактивированной замедленной флуоресценции, возникающей в результате обратной $T_1 \rightarrow S_1$ интеркомбинационной конверсии, а также свечения, обусловленного синглет-триплетной и триплет-триплетной T_1-T_1 аннигиляцией. Интенсивность ЗФ немонотонно зависит от времени. Установлено, что в тканях на временах до 20 мкс наибольший вклад в суммарный сигнал вносит синглет-триплетная аннигиляция. При этом в нормальных и патогенных тканях кинетика длительной люминесценции различна. Вклад синглет-триплетной аннигиляции в суммарный сигнал ЗФ в опухолевых тканях заметно больше, чем в нормальных тканях, что свидетельствует о большей эффективности взаимодействия триплетных состояний молекул красителей с синглетным кислородом. В отличие от ЗФ интенсивность фосфоресценции молекул красителей с течением времени уменьшается монотонно. Время жизни триплетных состояний красителей в опухолевых тканях короче, чем в нормальных тканях. В различных образцах отличие во временах жизни неодинаково. Это зависит от стадии развития опухоли, состояния биоткани и других факторов. Но, общая закономерность сохраняется. Достоверно регистрируемые различия в кинетике длительной люминесценции флуорофоров в тканях можно использовать при разработке метода оптической диагностики биотканей. Метод, основанный на измерении времени жизни длительной люминесценции флуорофоров, по нашему мнению, весьма перспективен. Высокая чувствительность метода позволит обнаруживать патологические изменения в клетках на очень ранней стадии. В качестве экзогенных флуорофоров могут быть использованы любые соединения, обладающие длительной люминесценцией и отвечающие требованиям, предъявляемым к таким препаратам.

**МЕХАНИЗМЫ ОБРАЗОВАНИЯ СПОНТАННЫХ СГУСТКОВ
В СВОБОДНОЙ ОТ ТРОМБОЦИТОВ ПЛАЗМЕ.****Mechanisms of spontaneous clot formation in platelet free plasma.****Липец Е.Н.^{1,2}, Атауллаханов Ф.И.^{1,2,3,4}, Пантелеев М.А.^{1,2,3,4}**¹ФНКЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии,
117198, Москва, ул. Саморы Машела, д.1;²ООО «Гемакор», 117342, Москва, ул. Обручева, д. 34/63, стр. 2;³Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН,
119991, Москва, ул. Косыгина, 4;⁴ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России,
125167, Москва, Новый Зыковский пр., 4а.
Тел.: 612-35-22, e-mail: li_jen@list.ru

При исследовании роста сгустка от поверхности, покрытой тканевым фактором, в плазме гематологических пациентов мы регулярно наблюдаем появление спонтанных центров свертывания в объеме плазмы, не зависящих от внешней активации. Это может указывать на риск тромботических осложнений. Целью данной работы было выяснение механизмов формирования спонтанных сгустков. В свободную от тромбоцитов плазму добавляли ингибитор контактной активации, СТ, плазму рекальцифицировали, помещали в кювету и приводили в контакт с поверхностью покрытой иммобилизованным тканевым фактором. Сигнал светорассеяния от растущего сгустка записывался на цифровую камеру. Спонтанные сгустки возникали у 4 из 32 пациентов с ишемической болезнью сердца, у 13 из 24 пациентов с острым коронарным синдромом, у 13 из 29 пациентов с лимфогранулематозом на курсе химиотерапии, у 2 из 36 нормальных доноров. В 4 опытах с разным соотношением поверхности кюветы к объему время зарастания не менялось, следовательно, к спонтанным сгусткам приводит активация в объеме плазмы, а не от стенок кюветы. Для определения вкладов внутреннего и внешнего путей активации мы блокировали их СТ и инактивированным фактором VIIa (VIIa) соответственно. Ингибирование тканевого фактора было существенным для 1 из 10 образцов плазмы. Действие СТ существенно замедляло возникновение спонтанных сгустков, но не приводило к их исчезновению. Для проверки, могут ли приводить к спонтанному свертыванию циркулирующие активные факторы, мы добавляли в плазму здорового донора имеющие значительное время жизни факторы Va, VIIa, IXa и XIa. Добавление факторов Va и VIIa приводило к равномерному зарастанию объема плазмы, что не типично для плазмы пациентов. Факторы IXa и XIa вызывали появление отдельных центров свертывания как в клинических образцах. Т.о. факторы IXa и XIa являются вероятной причиной спонтанного свертывания. После центрифугирования плазмы пациентов 30 мин на 16000g спонтанные сгустки исчезали и не восстанавливались при восполнении фосфолипидной поверхности искусственными везикулами в 6 из 7 случаев, что говорит о роли микрочастиц и состава их мембраны. Хотя механизм возникновения спонтанных сгустков может быть различным при разных заболеваниях, по нашим данным комбинация циркулирующих активных факторов (особенно факторов IXa и XIa) и прокагулянтных микрочастиц является ключевой. Для проверки возможной связи между наличием спонтанных сгустков и тромботическими осложнениями необходимо дальнейшее исследование, но преобладание этого феномена у пациентов говорит о возможной диагностической значимости.

Работа частично поддержана грантами РФФИ 10-01-91055, 11-04-00303, 11-04-12080, 12-04-00652-а, 12-04-00438-а и программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине», «Интегративная физиология» и «Молекулярные механизмы физиологических функций».

**АНОМАЛЬНАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ВОДЫ
С ИЗМЕНЕННЫМ ИЗОТОПНЫМ СОСТАВОМ.****Anomalous biological activity of water with changed isotopic content.****Лобышев В.И., Киркина А.А.**

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

Тел.: +7(495)9391687; e-mail: lobyshev@yandex.ru

Широко известны изотопные эффекты (ИЭ), сопровождающие замену обычной воды на тяжелую воду D₂O [1]. Природная вода содержит около 0,015% атомов дейтерия (150 ppm) и 0,2% атомов ¹⁸O. Вследствие фракционирования воды в природе при фазовых переходах лед-жидкость-пар и при сорбции наблюдаются вариации содержания дейтерия - D и ¹⁸O в пределах 0,0079 – 0,0195% и 0,1887 – 0,2083% соответственно [2]. Еще в 30-х годах было установлено, что D₂O приводит к ингибированию биологических процессов, но в эти же годы были опубликованы работы, свидетельствующие о неожиданно больших ИЭ, сопровождающих небольшое увеличение содержания D в среде (0,06-5%). Наряду с ингибирующим (или стабилизирующим) влиянием «утяжеленной» воды было обнаружено также стимулирующее действие на живые организмы [3]. В работах 60-х годов показано активизирующее влияние талой воды из снега, на ряд биологических процессов. Влияние талой воды было объяснено стимулирующим влиянием пониженной концентрации D в воде [4].

Наши исследования регенерации гидроидных полипов показали, что наблюдается ее активация малыми концентрациями с максимумом при 0,1% D [5]. Аналогичные результаты получены при изучении активности Na,K- и Ca,Mg-АТФаз [6]. Показано, что в дрейфующих льдах наблюдается активация роста микроводорослей как при небольшом увеличении, так и уменьшении содержания D относительно нормальной концентрации D в воде океана [7].

В последние годы стала популярна идея использования в терапевтических целях воды, глубоко очищенной от D. Нами были проведены эксперименты с такой водой на Na,K-АТФазе и сперматозоидах различных организмов. Показано, что вода с D=4 ppm не изменяет гидролитическую активность фермента, но в среде с D около 90 ppm наблюдается уменьшение активности фермента. Приводятся данные об изменении подвижности сперматозоидов в «облегченной» воде и о развитии оплодотворенных яиц вьюна. Обсуждаются возможные механизмы наблюдаемых феноменов.

1. Лобышев В.И., Калиниченко Л.П. Изотопные эффекты D₂O в биологических системах, М., Наука, 1978, 215 С.
2. Природные изотопы гидросферы. Под ред. В.И. Ферронского. М. Недра, 1975, 276 С.
3. Barnes T.C., Larson E.J./ *Protoplasm*, 1934, Bd.22, N.3, P.431-443.
4. Родимов Б.Н./ Сельское хозяйство Сибири. Омск, 1961, №7, С.66-69.
5. Лобышев В.И./ *Биофизика* 1983, №4, С.666-668.
6. Лобышев В.И., Фогель Ю., Яковенко Л.В., Резаева М.Н., Твердислов В.А./ *Биофизика* 1982, №4, С.595-603.
7. Лобышев В.И., Мельников И.А., Есиков А.Д., Нечаев В.В./ *Биофизика* 1984, №5, С.835-839.

БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНАЯ ДЕТЕКЦИЯ ГРАМ-ОТРИЦАТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОЛИСТИРОЛЬНЫХ НАНОЧАСТИЦ**Bioluminescent detection of gram-negative microorganisms using polystyrene microspheres****Ломакина Г.Ю.1, Истрате Е.Н.1, Руденко Н.В.2, Угарова Н.Н.1**1 - Химический факультет, МГУ имени М.В. Ломоносова,
119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр.3;2 – филиал института биоорганической химии им.академиков М.М.Шемакина и
Ю.А.Овчинникова, 142290 Московская обл. г.Пушино, проспект Науки,6Тел.: +7(495)939-26-52; факс: +7(495)939-26-60; e-mail: lomakinagalina@yahoo.com

Разработка экспрессных высокочувствительных методов специфического выявления микроорганизмов является актуальной задачей. Стандартный иммуноферментный анализ с использованием антител, сорбированных на полистирольных планшетах, применяемый для детекции микроорганизмов, обладает низкой чувствительностью и воспроизводимостью. Увеличение сорбционной емкости полистирольной матрицы за счет увеличения площади поверхности в 100 раз при использовании монодисперсных наночастиц размером 240 нм позволило улучшить аналитические характеристики метода. Благодаря своим физико-химическим свойствам, полимерные частицы являются удобными носителями при создании различных диагностических тест-систем в области иммуноанализа.

Схема анализа включала в себя две стадии: 1) селективное улавливание и концентрирование антигенов клеточной стенки микроорганизмов на наночастицах, покрытых антителами; 2) биолюминесцентная детекция антигенов с помощью конъюгата люциферазы светлячков с антителами. Для этого была оптимизирована методика получения ковалентных конъюгатов термостабильной мутантной люциферазы *Luciola mingrelica* через поверхностные SH-группы остатков цистеина фермента и NH₂-группы иммуноглобулинов с использованием гетеробифункционального сшивающего агента N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитио)пропионата. Полученные конъюгаты сохраняли более 80% ферментативной активности, были стабильны и сохраняли способность связываться с мишенью.

Для обеспечения высокой селективности анализа грам-отрицательных микроорганизмов использовали высокоаффинные и высокоспецифичные моноклональные антитела к O-антигену липополисахаридов клеточной стенки *Salmonella typhimurium*. При иммобилизации антител на поверхность наночастиц методом адсорбции наблюдали высокую неспецифическую сорбцию ферментного конъюгата, что снижает возможности применения полученного носителя в анализе. Поэтому на поверхность наночастиц был нанесен блок-сополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена, модифицированный пиридилдисульфидными группами (плюроник F108-PDS), способный ковалентно связываться с SH-группами белка. Для введения свободных SH-групп в иммуноглобулины использовали реагент Траута. При ковалентной иммобилизации антител через активированный плюроник неспецифическая сорбция отсутствовала. Размер полученных частиц с иммобилизованными антителами контролировали с использованием Zetasizer Nano ZS. Было показано, что частицы были стабильны – их размер не изменялся при хранении. Предел обнаружения клеток *Salmonella* данным методом составил $3 \cdot 10^3$ КОЕ/мл.

Таким образом, впервые разработан метод биолюминесцентного иммуноферментного анализа для селективного выявления клеток *Salmonella* с использованием полистирольных наночастиц, модифицированных плюронином F108, что позволяет улучшить аналитические характеристики метода в 300 раз по сравнению с традиционным гетерогенным ИФА.

Работа поддержана грантом РФФИ 11-04-00624а.

О КРИТЕРИЯХ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ДЛЯ ПРИРОДНОЙ ЭКОСИСТЕМЫ КАК ЦЕЛОГО

On ecological safety criteria for natural ecosystem as the whole.

Лыццов В.Н., Мурзин Н.В.

НИЦ «Курчатовский институт», Москва, пл.Курчатова, д.1.

Тщательный анализ закономерностей жизни экосистемы позволяет учесть происходящие антропогенные изменения стадий сукцессии, ранга экосистемы и ее видового разнообразия с помощью концепции благополучия, отражающей влияние различных факторов на экосистему как целое [1-4]. Для получения критерия безопасности авторы выполнили анализ благополучия экосистемы как целого, выражающего относительную долю свободной энергии, доступной сообществу, в виде запасенных высокоэнергетических органических соединений. Концепция благополучия основывается на ферментативной гипотезе, позволяющей охарактеризовать количественно все изменения, происходящие в экосистеме как целом, в том числе смещение в холлинговском ряду, изменение стадии сукцессии и ранга экосистемы. Продемонстрировано однозначное соответствие между уровнем антропогенного воздействия и снижением благополучия экосистемы как целого [5].

Количественные значения благополучия и связь его изменения с действием различных антропогенных факторов были получены на основе анализа большого числа экспериментальных работ по изучению баланса вещества и энергии в различных экосистемах. На примере воздействия ионизирующего излучения на экосистемы показана возможность применения количественного критерия, характеризующего безопасные уровни воздействия ионизирующего излучения на экосистему как целое.

В частности, для радиационного воздействия на экосистемы было показано, что для сообществ умеренной и арктической природных зон допустимым уровнем воздействия является мощность дозы 0,1 Гр/год. Превышение её приводит к изменению состава и структуры сообщества, а значительное превышение – к серьёзной деградации.

Указанные уровни могут служить основой для разработки нормативных документов, регламентирующих выбросы и сбросы радиоактивных веществ в окружающую среду в населенных местах, а методология также пригодна для определения уровней безопасно-го воздействия других загрязняющих веществ.

1. Быков А.А., Мурзин Н.В. Проблемы анализа безопасности человека, общества и природы. С-Пб., Наука. 1997.
2. Лыццов В. Н. Мурзин Н. В. Критерии устойчивости экосистемы при внешних воздействиях. // В сб.: Труды II съезда биофизиков России. М.: 1999.
3. Lystsov V.N., N.V.Murzin. / Chemosphere, 2001, 42 (1) pp. 73 – 78.
4. Lystsov V.N., Murzin N.V., Bykov A.A. Risk assessment of chemical weapons influence on ecosystems as the whole. / NATO Security through Science Series C: Environmental Security, 2006, pp. 65-74.
5. Лыццов В.Н., Мурзин Н.В. Критерии безопасности для экосистемы как целого. НИЦ «Курчатовский институт». ИАЭ-6670/3, М., 2011.

ВЛИЯНИЕ СТЕПЕНИ ЗАСОЛЕННОСТИ ПОЧВ И ДЕФИЦИТА ВЛАГИ НА ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАСТЕНИЙ.**Effect of soil salinity and water deficit on the fluorescence characteristics of plants****Магомедова М. Х.-М.**

Прикаспийский институт биологических ресурсов ДНЦ РАН,
367000, Махачкала, ул.М.Гаджиева, 45.
Тел./факс: +7(8722)67-58-81; e-mail: pibrdncran@mail.ru

Большой урон культурным посевам и другой растительности в засушливом климате приносит засоление почв. Высокая концентрация солей в почвах не только затрудняет поступление воды, но может прямо повреждать растения, нарушать структуру почвы, снижая ее пористость и ухудшая водопоглощительные свойства. Увеличение содержания соли в среде вызывает значительные изменения большинства физиологических процессов у растений: изменяется ионный состав клеток, перестраиваются ферментные системы, в большинстве случаев снижается суммарный фотосинтез. Измерение параметров флуоресценции хлорофилла растений, широко применяется в экологических исследованиях.

Исследовалась зависимость замедленной флуоресценции и фотосинтетической активности кермека Мейера (*Limonium majus*) от степени засоленности почв. Растения отбирались на почвах луговых: солончаковых, слабо-, среднезасоленных. Изучены возможности применения этого метода в экспресс-мониторинге почвенной системы на присутствии солевого дисбаланса.

Была обнаружена положительная корреляция между выходом фоновой флуоресценции F_o и концентрацией солей угольной кислоты в почвах, что свидетельствует о прямой зависимости концентрации пигментов светособирающего комплекса от количества бикарбонатов в почве. Также выявлена обратная корреляция флуоресцентного ответа травянистых растений и степени засоленности почвы, чем меньше содержания солей в почве (за исключением бикарбонатов), тем выше показания замедленной флуоресценции.

В ходе исследований выявлена обратная корреляция между фотосинтетической активностью травянистых растений и распределением солей угольной кислоты в почвах, чем больше бикарбонатов в почве, тем ниже фотосинтетическая активность. При этом прямой зависимости фотосинтетической активности от концентрации других солей в почве не наблюдалось тогда, как замедленная флуоресценция чутко реагирует на различия общей суммы всех солей в почве.

Нами установлено, что метод исследования индукции замедленной флуоресценции растений, произрастающих на почвах с разной степенью засоленности, более чувствителен к солевому стрессу и выдает обратную корреляцию с концентрацией солей в почве. При этом по показаниям фотосинтетической активности этих же растений еще невозможно предположить присутствие общего солевого дисбаланса в почве, т.к. природа обеспечила фотосинтез, как один из самых жизненно важных процессов в растениях, генетическими механизмами поддержания его в пределах нормы, необходимых для выживания растения в неблагоприятных условиях.

ОЦЕНКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИММУНОТОКСИНА МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО БИОИМИДЖИНГА**Estimation of immunotoxin antineoplastic efficacy by fluorescent bioimaging method**

**Малеханова Е.А.¹, Балалаева И.В.¹, Здобнова Т.А.^{1,2}, Леканова Н.Ю.¹,
Стремовский О.А.², Деев С.М.²**

1-Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского,
603950, Нижний Новгород, пр-т Гагарина, 23;

2-Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова,
117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10
Тел.: +7(831)465-61-06; e-mail: malehanova@mail.ru

Флуоресцентная визуализация клеток и отдельных молекул расширяет возможности изучения разнообразных процессов в живых системах. С недавнего времени в целях флуоресцентного имиджинга успешно используются флуоресцентные белки - генетически кодируемые флуорофоры с уникальными свойствами (стабильность флуоресценции, независимость от кофакторов, отсутствие токсичности), составляющие современную альтернативу органическим красителям. В экспериментальной онкологии флуоресцентные белки являются новым инструментом для неинвазивного изучения опухолевого процесса в режиме реального времени *in vivo*.

Целями исследования являлись апробация флуоресцентной опухолевой модели для оценки эффективности терапевтического иммунотоксина и оценка возможностей флуоресцентного биоимиджинга в сравнении со стандартной методикой измерения размеров опухоли.

Эксперимент проводился на бестимусных мышах-самках линии *nude* с подкожно привитой карциномой яичника человека, трансфицированной красным флуоресцентным белком *Katushka (SKOV-kat)*. Данная клеточная линия гиперэкспрессирует поверхностный онкомаркер *HER2/neu*, являющийся мишенью для направленной терапии. В качестве противоопухолевого агента использовался иммунотоксин 4D5-ЕхoА, являющийся белком слияния миниантитела 4D5scFv к рецептору *HER2/neu* с псевдомонадным экзотоксином А, в сравнении с химиоагентом цисплатином. Двумерные флуоресцентные изображения получали *in vivo* на установке для поверхностного флуоресцентного имиджинга.

Осуществленный в данной работе прижизненный мониторинг роста опухоли с помощью флуоресцентного имиджинга и стандартной методики (измерение размеров опухоли штангенциркулем) показал высокую корреляцию между объемом опухоли и ее интегральной флуоресценцией. При этом флуоресцентный метод дает дополнительную информацию о реальном количестве и распределении клеток в опухолевом узле, позволяя визуализировать непальпируемые опухоли и оценивать действие терапии на более ранних стадиях. Выявлен противоопухолевый эффект иммунотоксина, сравнимый с действием стандартного цисплатина. Специфичность действия иммунотоксина показана в экспериментах *in vitro*.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности применения метода флуоресцентного биоимиджинга с использованием красных флуоресцентных белков для неинвазивного изучения опухолевого процесса.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ (ГК №№14.740.11.0253, 11.G34.31.0017) и Российского фонда фундаментальных исследований (№№10-04-01506, 11-02-00916).

ПОЛИМОДАЛЬНЫЙ ЭФФЕКТ АЛЬФА-ТОКОФЕРОЛА НА СТРУКТУРУ ЛИПИДОВ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН.**Polymodal dose-effect of alfa-tocopherol on lipid structure of cell membranes.****Мальцева Е.Л., Белов В.В., Пальмина Н.П.**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 199334 Москва, ул. Косыгина 4
Тел.+7(495) 939-73-51; факс: +7(499)137-41-01; e-mail: email@sky.chph.ras.ru.

Природный антиоксидант **альфа-токоферол (ТФ)** является эффективным антиоксидантом и ингибитором перекисного окисления липидов, а также структурным фактором в биологических мембранах [1]. В работе изучено действие ТФ в широком диапазоне концентраций от 10^{-4} до 10^{-20} M **in vitro** на структурное состояние липидов плазматических и микросомальных мембран, выделенных из клеток печени мышей. Водно-этанольные растворы ТФ были при-готовлены методом последовательного разведения на порядок концентраций, начиная с 10^{-2} M. Изменения структурного состояния различных областей липидов под действием ТФ изучено методом ЭПР с помощью спиновых зондов: 5- и 16-доксилстеариновых кислот (5- и 16-ДСК), локализующихся в липидном бислое мембран на различной глубине (~8 и ~20 Å соответственно). Микровязкость глуболежащих областей липидов мембран оценивалась по времени вращательной корреляции (τ_c) зонда 16-ДСК, а жесткость поверхностных слоев липидов – по параметру упорядоченности (S) зонда 5-ДСК по стандартным формулам для быстровращающихся радикалов [2]. Установлено, что изменения микровязкости глуболежащих областей липидов мембран под действием ТФ носят полимодальный характер: подъем при 10^{-4} M и три «волны» повышения τ_c зонда 16-ДСК: в диапазоне средних концентраций 10^{-6} - 10^{-9} M, которые соответствуют физиологической концентрации ТФ, в области СМД (10^{-13} - 10^{-15} M) и ультранизких разведений ($<10^{-18}$ M). Обнаружено повышение жесткости в поверхностных слоях липидов мембран – параметра S зонда 5-ДСК при 10^{-4} M и в интервале СМД 10^{-12} - 10^{-17} M с максимумом – 10^{-15} M ТФ. Таким образом, показано, что ТФ в наибольшей степени стабилизирует липидный бислой мембран как при высокой, так и сверхмалых концентрациях. При действии на мембраны концентраций ТФ, соответствующих минимумам и максимумам на зависимости доза-эффект, в координатах Аррениуса обнаружены дополнительные термоиндуцированные структурные переходы (ТСП) в липидах, большинство из которых появляются в диапазоне физиологических температур. Изменения «портрета» ТСП при действии различных концентраций ТФ, вероятно, связано с изменением доменной структуры липидов [3]. Показано, что в интервале концентраций 10^{-4} – 10^{-16} M ТФ изменение жесткости поверхностных областей липидов мембран (параметра S) коррелирует со степенью ингибирования мембрано-связанной липидзависимой протеинкиназы С - ключевого фермента фосфоинозитидного цикла. В области сверхмалых концентраций (10^{-12} - 10^{-18} M) обнаружена статистически достоверная корреляция между параметром S и размерами образующихся в растворе наноассоциатов ТФ, удельной электропроводностью его растворов [4]. Предполагается, что механизм действия α -ТФ в диапазоне 10^{-4} - 10^{-20} M связан с изменениями параметров образующихся наноассоциатов и физико-химических свойств его растворов.

1 Бурлакова Е.Б., Крашаков С.А., Храпова Н.Г. / Биол. мембраны. 1998. Т.15, С. 137-168.

2. Кузнецов А.Н./ Метод спинового зонда. М. Наука. 1976.

3. Quinn P.J. / Biochemistry, 2004. V. 69. P. 58-66.

4. Рыжжина И.С., Киселева Ю.В., Муртазина Л.И., Пальмина Н.П., Белов В.В., Мальцева Е.Л., Шерман Е.Д., Тимошева А.П., акад. Коновалов А.И. /Докл. АН 2011, т.438, №5, с.635-639.

**ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ РАСТЕНИЙ
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЫСОТНЫХ ГРАДИЕНТОВ****Fluorescent researches of the functional condition of plants depending
on high-rise gradients****Маммаев А.Т.¹, Алиева М.Ю.¹, Магомедова М. Х.-М.¹, Пиняскина Е.В.¹,
Абдуллаева Э.А.²**

1-Прикаспийский институт биологических ресурсов Дагестанского научного центра РАН,
367025, г. Махачкала, ул. М.Гаджиева, 45

2-Горный ботанический сад ДНЦ РАН, 367025, г. Махачкала, ул. М.Гаджиева, 45
Тел/факс:+7(8722) 67-58-81 E-mail: p i b r d n c r a n @ m a i l . r u

Экологический мониторинг антропогенного воздействия на окружающую среду диктует необходимость использования современных биофизических методов, молекулярной спектроскопии и возможностей электронно-оптических приборов. Это позволяет изучать растения *in vivo* без нарушения физиологических процессов в клетке, прогнозировать тенденции изменений характеристик отдельных звеньев экосистемы. Принципиальное значение при этом имеет получение экспресс-информации о состоянии клеток после воздействий различных факторов и диагностика изменений метаболизма на ранних стадиях, регистрация этапов его нарушений. В этих целях чрезвычайно удобны и информативны биофизические методы, позволяющие судить о функциональной целостности и чувствительности клеток к повреждающим действиям.

Показателем устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды является фотосинтез, именно фотосинтетический аппарат наиболее чувствителен к действию повреждающих факторов. Поэтому методы анализа его состояния, основанные на измерении параметров флуоресценции хлорофилла, широко применяются в экологических исследованиях.

Впервые нами проведено масштабное исследование флуоресцентных характеристик древесных растений (береза, хвойные, вишня, тополь) в зависимости от высотных градиентов (от -20 до 1900 метров над уровнем моря) в естественной среде и лабораторных условиях с помощью современных амплитудно-модулированных систем PAM Walz, (Германия) и лабораторной стационарной PAM - установки.

Проведен сравнительный анализ F_v/F_m и параметров PI, рассчитанных по результатам измерения флуоресценции листьев деревьев, растущих в указанных экологических условиях. Установлена зависимость этих показателей от высотных градиентов.

Исследовались соотношения параметров F_v/F_m и PI как показателей физиологического состояния древесных растений. Установлено, что параметр PI является более чувствительным к нарушениям первичных процессов фотосинтеза и позволяет зафиксировать их задолго до проявления изменений во внешних признаках растительного организма.

На основе полученной информации может осуществляться оценка и прогноз степени изменения окружающей среды, что позволит разработать новые подходы к решению важной в практическом отношении проблемы прогнозирования физиологического состояния, продуктивности и защиты живых организмов от деструктивного воздействия внешней среды.

Исследования проводились в рамках реализации программы Президиума РАН №30 «Живая природа: современное состояние и проблемы развития»

ТЕРМОЛИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РАСТЕНИЙ

Termolioluminestsentnye Plant Research

Маммаев А.Т.

П

рикаспийский институт биологических ресурсов ДНЦ РАН,

367025, Махачкала, ул. М.Гаджиева, 45

Тел./факс: +7(8722)67-58-81; e-mail: pibrdnrcran@mail.ru

Термолюминесценция (ТЛ) - свечение предварительно освещенных органических и неорганических веществ при их постепенном нагревании в темноте. ТЛ излучается также фотохимически активными растительными объектами, содержащими хлорофилл.

Высказывается предположение, что основной вклад в излучение привносит образование продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), что связано с развитием процессов фотоиндуцированного ПОЛ, которое стимулируется при воздействии на растения неблагоприятных факторов среды.

На фоне достаточно большого количества исследований термолюминесценции, излучаемой фотохимически активными объектами содержащими хлорофилл, совершенно незамеченными остались лиолюминесцентные подходы к исследованию процессов фотосинтеза.

Леолюминесценция (от греч. *Lio* – растворять) представляет собой свечение, возникающее при растворении кристаллов, запасших избыток энергии в виде дефектов структуры. В доступной нам научной литературе за последние 10-15 лет не обнаружено ни одного упоминания об этом явлении в области биофизики растений.

В настоящей работе с помощью методов ТЛ, замедленной флуоресценции (ЗФ) и лиолюминесценции (ЛЛ) изучались процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) у растений при действии неблагоприятных факторов среды – интенсивном освещении, тепловом повреждении и действии органических растворителей.

Исследовалась взаимосвязь и взаимозависимость ЗФ, термо- и лиолюминесценции растительных объектов и их зависимость от физиологического состояния растительной клетки и ее предыстории. В первую очередь нами изучались качественные показатели обнаруженного вида излучения. Установлено, что при температуре 50-55°C воздействие на зеленый лист метилового спирта в присутствии окисленной олеиновой кислоты индуцирует люминесценцию значительной интенсивности. Эффект от других органических растворителей значительно ниже.

Ввиду того, что в научной литературе описание подобного эффекта нами не обнаружено, предлагается назвать это явление “термолиолюминесценцией растений”. Предлагаемый термин отражает, как нам кажется, суть обнаруженного эффекта. Обнаруженный всплеск люминесценции включает три вида излучения – лиолюминесценцию, термолюминесценцию и хемилюминесценцию. Не вызывает сомнения, что обнаруженный методический подход найдет активное применение у исследователей.

ЛИПИДЫ ЯДЕР НЕЙРОНОВ И ГЛИИ НЕОКОРТЕКСА ПРИ ДЕЙСТВИИ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ В ДОЗЕ 200 ГР НА ГОЛОВУ КРЫС.**Lipids in nuclei from neurons and glia of neocortex after X-ray irradiation of the rat head at a dose of 200 Gy.****Маркевич Л.Н., Быкова О.В., Коломийцева И.К.**

Федеративное государственное бюджетное учреждение науки Институт биофизики
клетки Российской академии наук (ИБК РАН),
142290, Московская обл., г. Пущино, ул. Институтская, 3.
Тел.: +7(495)625-59-84; факс: +7(4967)33-05-09; e-mail: Inmarkevich@mail.ru

Использование радиации в высоких дозах в радиотерапии приводит в ряде случаев к неврологическим осложнениям, вызванным изменениями сосудов и повреждениями в нейрональных и глиальных клетках неокортекса [1]. Изучение характера биохимических нарушений, происходящих при лучевом поражении структур ЦНС, представляет несомненный интерес. Функционирование ЦНС осуществляется благодаря морфологическому и метаболическому взаимодействию нейрональных и глиальных клеток. Липиды являются компонентами клеточных мембран, органелл и участвуют в работе сигнальных систем клеток в качестве биоэффекторов. Липидный состав мембран определяется на генетическом уровне клетки и зависит от ее функционального состояния. Ранее показано, что разнообразные стимулы, полученные клетками, определяя особенности метаболизма, влияют на липидный состав ткани, различных органелл неокортекса [2,3]. В развитии поврежденной нервной системы в ответ на действие ионизирующей радиации в высоких дозах может играть роль изменение состава липидов ядер нейрональных и глиальных клеток неокортекса. Нами была поставлена задача по изучению влияния рентгеновского излучения в дозе 200Гр при облучении головы крыс на содержание нейтральных липидов и фосфолипидов в ядрах глиальных и нейрональных клеток неокортекса через 2 часа после воздействия. Показано, что в норме ядра нейронов и глии содержали холестерина, индивидуальных фосфолипидов меньше, а жирных кислот, моно- и ди-глицеридов больше, чем ткань неокортекса. Ядра нейронов отличались от ядер глии меньшим количеством кардиолипина. Через 2 часа после воздействия рентгеновского излучения на голову крыс в дозе 200Гр в ядрах нейронов и глии количество фосфатидилинозитола снижено на 30% и 40%, соответственно, количество сфингомиелина увеличено на 30%. Содержание холестерина в ядрах глии возрастало на 40%, в ядрах нейронов наблюдалась тенденция к повышению. Изменение количества вышеуказанных липидов можно рассматривать как свидетельство их участия в липидзависимых сигнальных системах ядер нейронов и глии при лучевом поражении неокортекса млекопитающих.

1. Keimi-Guibert F, Napolitano M. / J. Neurol. 1998. V. 245. P. 697-708.

2. И.К. Коломийцева, Маркевич Л.Н. и др. / Докл. АН. 2009. Т. 427. С. 225-228.

3. Маркевич Л.Н., Коломийцева И.К. и др. / Радиационная биология. Радиоэкология. 2011. Т.51. С.1-5.

ВЛИЯНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И АЗОТА НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ВОДНОГО РАСТВОРА ХЛОРИДА НАТРИЯ**Reactive oxygen and nitrogen species effect on physical and chemical parameters of water solution of sodium chloride****Мартусевич А.К., Перетягин С.П., Митрофанов В.Н.**

Нижегородский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии,
603155, Нижний Новгород, Верхне-Волжская наб., д. 18
Тел.: (831) 436-25-31; e-mail: *cryst-mart@yandex.ru*

Цель исследования: оценить особенности действия активных форм кислорода и азота на физико-химические параметры физиологического раствора (ФР).

Проведен комплекс исследований некоторых физико-химических параметров (рН, окислительно-восстановительного потенциала - ОВП, содержания растворенного кислорода) 0,9% раствора хлорида натрия до и сразу по окончании барботирования источниками активных форм кислорода и азота. В спектр воздействующих факторов были включены: кислород; озono-кислородная смесь; кислород, предварительно обработанный электромагнитным полем (дарсонвализация); холодная плазма, насыщенная оксидом азота. Генерацию электромагнитного поля осуществляли с помощью аппарата «Карат Д-212». Для получения холодной плазмы, обогащенной оксидом азота, применяли аппарат «Плазон». В плазме, которой барботировали ФР, с помощью полимерного переходника создавали действующую концентрацию оксида азота 800 мкг/л (расстояние от сопла аппарата 10 см.). Продолжительность барботирования для модифицированного дарсонвализацией кислорода составляла 1, 3 и 10 минут, для нитроксилирования раствора – 1, 3 и 5 минут. И использованные концентрации озона – 1000, 5000 и 10000 мкг/л. Скорость барботирования при пропускании через ФР нативного и модифицированного полем Д'Арсонваля кислорода и озono-кислородной смеси составляла 1 л/мин; при барботировании насыщенной оксидом азота плазмой – 2 л/мин. Уровень рН и ОВП растворов определяли с помощью портативного рН-метра «НН-8314». Содержание растворенного кислорода оценивали с применением оксигенометра «Оxygenmeter АТТ-3010». Результаты были обработаны с помощью программы Statistica 6.0.

Установлено, что оксигенация способствует снижению окислительно-восстановительного потенциала раствора, увеличивая содержание растворенного кислорода при сохранении исходного рН. Обработка ФР кислородом, модифицированным при помощи дарсонвализации, приводит к повышению ОВП раствора. Озонирование, также не изменяя рН жидкой системы, дозозависимо стимулирует ее окислительный потенциал. Непродолжительное нитроксилирование раствора (не более 3 минут), демонстрирует эффекты, аналогичные низким концентрациям озона (1000 мкг/л) и кратковременному (1 минута) воздействию активированного полем Д'Арсонваля кислорода. Продолжительная (5 минут) обработка раствора оксидом азота, приводящая к накоплению нитрит- и нитрат-ионов, способствует сильному закислению раствора, сопровождающемуся выраженным ростом его ОВП и снижением количества растворенного кислорода.

РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХАРАКТЕРИСТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ МАКРОМОЛЕКУЛ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ

Refractometrical determination of characteristic parameters of macromolecules in the water solutions of polyethylene glycol

Масимов Э.А., Аббасов Х.Ф.

Бакинский Государственный Университет, Институт Физических проблем, Отдел физики биологических систем, AZ1148, ул. 3. Халилова 23, Баку, Азербайджан
masimovspektr@rambler.ru, hakimabbasov@yahoo.com

Функциональная деятельность макромолекул строго зависит от их конформации в водной среде и в этом смысле изучение конформации, среднеквадратического размера макромолекул представляется важным. В работе водные растворы полиэтиленгликоля (1500) были исследованы рефрактометрическим методом, «конформационные» поляризуемости, среднеквадратические размеры макромолекул, длина сегмента Куна, число сегментов Куна в макромолекуле были определены применением уравнения Лоренца-Лоренца на рассматриваемые растворы. При этом поляризуемость гидратированной макромолекулы приняли равной приблизительно сумме поляризуемостей негидратированной макромолекулы с сохранением конформации и поляризуемостей молекул воды, вовлеченных в гидратацию макромолекул. На основе концентрационной зависимости показателей преломления водных растворов полимеров, применением некоторых предположений были вычислены некоторые характеристические параметры макромолекул («конформационные» поляризуемости макромолекул, среднеквадратические размеры макромолекул). Было установлено что, с ростом концентрации полиэтиленгликоля в растворе наблюдается сначала некоторое увеличение, а потом уменьшение размеров клубков и дальнейшая стабилизация начиная с концентрации 5%. Причиной этого, по-видимому, являются взаимодействия макромолекул между собой при увеличении их концентрации в водном растворе: макромолекулярные клубки из-за взаимодействия между собой начинают разворачиваться. Начиная с концентрации 1%, макромолекулярные цепи входят в соседние развернутые клубки, заполняя пустые места. При концентрации 5% из-за заполнения всех вакансий, размеры макромолекул почти не меняются с дальнейшим ростом концентрации. Среднеквадратический размер макромолекул, длина сегмента Куна и число сегментов в макромолекуле были вычислены для концентрации 5%, с которого начинается стабилизация размеров макромолекул:

$$\sqrt{\langle R^2 \rangle_{kr}} \approx 23 \text{ \AA} \quad b_{kr} = \frac{\langle R^2 \rangle_{kr}}{L} = 4.42 \text{ \AA} \quad N_{kr} = \frac{L^2}{\langle R^2 \rangle_{kr}} = 27$$

**ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ КИСЛОРОДНОГО СТАТУСА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ
НОВООБРАЗОВАНИЙ НА ФОНЕ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ
МЕТОДОМ ОПТИЧЕСКОЙ ДИФФУЗИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ**

**The study of tumor oxygen state dynamics under chemotherapy action using diffuse
optical spectroscopy**

**Масленникова А.В.^{1,2,3}, Пряникова Т.И.^{2,3}, Голубятников Г.Ю.², Кузнецов С.С.¹,
Орлова А.Г.², Пономарева Н.Г.¹, Снопина Л.Б.¹, Иванова И.П.¹, Шахова Н.М.^{1,2},
Турчин И.В.²**

1 – ГБОУ ВПО НижГМА Минздравсоцразвития России,
603005, г. Нижний Новгород, пл. Минина, д.1/10;

² – ИПФ РАН, 603155, г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, д. 46;

³ – Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
603022, г. Нижний Новгород, пр-т Гагарина, д. 23

Тел.: +7(831)465-14-01; факс: +7(831)436-37-92; e-mail: maslennikova.anna@gmail.com

Химиотерапия является одним из основных методов лечения злокачественных новообразований. Токсичность со стороны нормальных тканей и отсутствие критериев, предсказывающих индивидуальную чувствительность опухоли к лекарственным воздействиям, составляют основные проблемы ее применения. Кислородный статус и его динамика в ответ на цитотоксическое воздействие является одним из параметров, характеризующих биологические свойства опухоли. Целью нашей работы было изучение механизмов изменения оксигенации новообразований в эксперименте и клинике на фоне химиотерапевтического воздействия. Для контроля кислородного статуса использована оптическая диффузионная спектроскопия (ОДС), позволяющая *in vivo* **неинвазивно оценивать уровень оксигенации** тканей.

Исследования проводились на опухолевой модели (лимфосаркома Плисса). В качестве химиотерапевтического агента был использован циклофосфан, который вводили внутривенно однократно из расчета 50 мг/кг на четвертые сутки после перевивки опухоли. ОДС-исследование осуществляли на 4-й день после перевивки (до введения циклофосфана), а затем на 6-й, 8-й, 10-й и 13-й день. Вычисляли коэффициент торможения роста опухоли по сравнению с контрольной группой и проводили стандартное гистологическое исследование ткани опухоли.

В опытной группе отмечалось торможение опухолевого роста, максимальный коэффициент которого наблюдался на 10 сутки. Уровень оксигенации опухоли при этом оставался неизменным и достоверно более высоким относительно контрольной группы. Гистологическое исследование в эти сроки выявило патологические изменения опухолевых клеток разной степени выраженности вплоть до некротических, что позволяет предположить существенное снижение потребления кислорода тканью новообразования. То есть, именно снижение потребления может являться основным механизмом стабилизации кислородного статуса после проведения химиотерапии, что подтверждается отсутствием роста содержания восстановленного гемоглобина, характеризующего уровень потребления кислорода биологическими тканями.

Методом ОДС было проведено исследование новообразований молочной железы у четырех пациенток, получавших предоперационную химиотерапию по поводу рака I-III стадии. Полученные результаты были соотнесены со степенью лечебного патоморфоза опухоли отдельно для каждой пациентки. Предварительные результаты свидетельствуют о возможном предиктивном значении динамики кислородного статуса опухоли в отношении чувствительности опухоли к лечебным воздействиям.

КИНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ СИНАПТИЧЕСКИХ МЕМБРАН МОЗГА КРЫС ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ**Kinetic characteristics of synaptic membranes acetylcholinesterase from rat brain at ischemia – reperfusion****Махмудова Х. М.¹, Алиев Г.Н.², Джафарова А. М.¹, Кличханов Н. К.¹, Мейланов И. С.¹**

1 - Дагестанский государственный университет, Махачкала, Республика Дагестан

2 - Медико-санитарная часть МВД по РД, Махачкала, Республика Дагестан

Тел.: 8(8722)675915, e-mail: albina19764@mail.ru

Проблема ишемического инсульта в настоящее время становится все более актуальной. На ранней стадии ишемии повреждение мозгового вещества может быть обратимым. Восстановление адекватного кровотока в ишемизированных органах (реперфузия) вызывает не только защитный эффект, но и повреждающий с возможным фатальным исходом, то есть, улучшая кровообращение в ишемизированных участках, организм отвечает парадоксальным ответом. При этом ведущим фактором повреждения является реакция гипероксии – «взрыв» свободно-радикальных патологических последствий для тканей, находящихся в состоянии гипоксии-ишемии. Для изучения молекулярных механизмов патогенеза мозга при постишемической реперфузии необходимым представляется исследование нейромедиаторных систем мозга. Одним из основных компонентов холинергической нейромедиаторной системы является ацетилхолинэстераза (АХЭ), которая регулирует временной профиль концентрации медиатора ацетилхолина в синаптической щели. Известно, что повреждение нейронов, связанное с ишемией и реперфузией, сопровождается изменениями в холинергической системе. Однако механизмы изменения активности АХЭ при этих состояниях мозга еще не известны. В настоящей работе нами исследованы кинетические характеристики АХЭ синаптических мембран из коры головного мозга крыс при ишемии (в течение 1 часа) и последующей (в течении 1 часа) реперфузии.

Активность АХЭ определяли методом Элмана по скорости гидролиза ацетилтиохолина (АТХ). Концентрационную зависимость активности АХЭ измеряли в диапазоне концентраций АТХ от 0,156 до 64 мМ. Кинетические характеристики АХЭ: максимальную скорость (V_{max}), константу Михаэлиса (K_m) и константу субстратного ингибирования (K_i) находили методом наименьших квадратов в соответствии с моделью Холдейна.

Исследование концентрационной зависимости активности АХЭ при ишемии и реперфузии показало, что положение оптимума на концентрационной кривой активности АХЭ (S_{opt}) не меняется. Однако, реперфузия сопровождается значительным снижением активности фермента во всем диапазоне исследованных концентраций ацетилтиохолина. Такое снижение скорости катализа связано с изменениями кинетических характеристик АХЭ. Обнаружено, что при реперфузии V_{max} уменьшается на 32 % по сравнению с контролем, и на 58 % по сравнению с ишемией. При этом значение K_m на 20,8% меньше такового при ишемии, то есть, остается на уровне контроля. Существенное снижение скорости катализа, на фоне незначительных изменений K_m при реперфузии приводит к уменьшению отношения V_{max}/K_m : на 34% и 47,2 % относительно контроля и ишемии. Реперфузия приводит к ослаблению прочности тройного комплекса SES, о чем свидетельствует достоверное повышение K_i на 41 % относительно контроля и на 95 % относительно ишемии.

Снижение активности АХЭ и изменение ее кинетических характеристик при реперфузии, видимо, связаны с окислительной модификацией фермента под действием активных форм кислорода или радикалов липидов в мембране.-

**ЭФФЕКТЫ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ
И ЭНДОГЕННЫЕ ПОРФИРИНЫ****Low level laser irradiation effects and endogenous porphyrins****Мачнева Т.В., Буравлев Е.А., Осипов А.Н.**

Российский национальный исследовательский медицинский университет
им. Н.И. Пирогова, Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д.1
тел./факс +7(495)434-11-74; e-mail: machneva_tv@mail.ru

Низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ) нашло широкое применение в различных областях современной медицины. Однако подбор доз и выбор вида излучения осуществляется в основном эмпирическим путём, и результаты лазерной терапии не всегда оказывают положительный эффект. Важную роль в этом процессе играют акцепторы лазерного излучения. При этом фотоакцепторами могут являться, например, эндогенные и экзогенные порфирины и другие соединения [1]. Количество эндогенных порфиринов (ЭП) возрастает при целом ряде патологических состояний, в том числе при раневых процессах и при шоковых состояниях (например, при эндотоксическом шоке) [2]. Выявление роли ЭП может позволить добиться большего эффекта в профилактике и лечении многих патологических состояний, например, раневых процессов и эндотоксического шока. Кроме того, данные патологические состояния являются показательными моделями исследования эффектов НИЛИ при развитии воспалительных процессов и нарушении микроциркуляции соответственно. Целью работы было исследование роли ЭП в действии лазерного излучения в норме и при экспериментальных патологических состояниях – раневом процессе и эндотоксическом шоке у крыс. В большинстве экспериментов использовали низкоинтенсивное лазерное излучение в красном диапазоне спектра. Так же применяли излучение в синем и зеленом диапазонах. Обнаружили, что облучение животных НИЛИ увеличивало супероксиддисмутазную активность активности раневых экссудатов и плазмы крови, при этом наиболее существенные изменения наблюдали при патологических состояниях. При исследовании лазер-индуцированных изменений функциональной активности полиморфноядерных лейкоцитов раневых экссудатов и крови крыс обнаружили аналогичные зависимости. Так же исследовали уровень перекисного окисления липидов мембран лейкоцитов. Обнаружили и исследовали зависимость выявленных эффектов от количества ЭП. Выявили возможную роль ЭП как первичных акцепторов НИЛИ в эффектах на супероксиддисмутазную активность и функциональную активность лейкоцитов.

1. Владимиров Ю.А. / «Эфферентная медицина». Институт Биомедицинской Химии РАН: М., 1994. 66 с.

2. Аскаров К.А., Березин Б.Д. и др. / Порфирины: спектроскопия, электрохимия, применение. М.: Наука, 1987. 384 с.

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ СИСТЕМЫ РЕПАРАЦИИ ДНК КЛЕТОК КРОВИ
ПРОФЕССИОНАЛОВ-АТОМЩИКОВ, РАБОТАВШИХ БЕТА-ИЗЛУЧЕНИЕМ ТРИТИЯ****DNA reparation system effectiveness in blood cells of nuclear specialists having dealt
with beta-irradiation of tritium****Я. И. Медведев, О. В. Калиновская, В. И. Нагиба, Е.А.Никанорова, Т.И. Хаймович**

ФГУП «Российский Федеральный ядерный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики»,
607188, Нижегородская обл., г.Саров, пр.Мира, 37
Тел. +7(83130) 2 52 99, факс +7(83130) 2 53 00, e-mail:gane@orb2.vniief.ru

В работе представлены результаты оценки активности работы системы репарации ДНК в группе профессионалов-атомщиков (31 человек, средний возраст $65 \pm 1,6$ лет) работавших с β -излучением трития 30-40 лет тому назад (средний стаж работы во вредных условиях составлял $30 \pm 2,4$ лет). Сведения по индивидуальным величинам поглощенных доз профессионалов-атомщиков отсутствовали.

В контрольную группу вошли 10 человек, супруги профессионалов-атомщиков, которые в течение всей своей профессиональной деятельности не имели контакта с ионизирующими излучениями; их средний возраст составил 60 ± 2 лет.

Активность работы системы репарации ДНК определяли с помощью щелочной версии метода «комет», путем определения динамики уровня остаточных повреждений ДНК после радиационного воздействия на клетки крови. Для этого образцы суспензии лимфоцитов подвергали действию гамма-излучения ^{60}Co (установка ГУБЭ-3000) в дозе 3 Гр. Мощность дозы облучения составила 1 Гр/мин. При исследовании остаточного уровня повреждений ДНК через 30 минут после облучения пробирки с суспензией лимфоцитов помещали в термостат при 37°C на 30 минут. Уровень спонтанных повреждений оценивали без лучевой нагрузки.

Анализ проводили по процентному содержанию ДНК в хвосте «кометы» (TD). Для характеристики скорости репарации была введена относительная величина – индекс репарации (IR), равный отношению разности первичного уровня повреждений ДНК (TD_0) и остаточного уровня повреждений через 30 минут после облучения (TD_{30}) к первичному уровню повреждений: $\text{IR} = (\text{TD}_0 - \text{TD}_{30}) / \text{TD}_0$.

Результаты анализа не показали статистически значимых отличий между экспериментальной и контрольной группами в уровне спонтанных ($3,81 \pm 0,28$ % и $3,61 \pm 0,65$ %), первичных ($12,12 \pm 0,81$ % и $12,50 \pm 1,98$ %), остаточных повреждений ДНК в хвосте «кометы» ($4,64 \pm 0,62$ % и $4,87 \pm 0,39$ %), а также в индексе репарации ($0,58 \pm 0,02$ и $0,58 \pm 0,05$).

Таким образом можно заключить, что, в отдаленные сроки после контакта с бета-излучением трития, система репарации ДНК клеток крови профессионалов успешно элиминировала повреждения, вызванные тестирующим воздействием.

**ИЗУЧЕНИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ БЛИЖНЕ-ИНФРАКРАСНОГО
ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА НА КЛЕТочНЫЕ ЛИНИИ МЕЛАНОМ,
ЭКСПРЕССИРУЮЩИЕ ДАЛЬНЕ-КРАСНЫЙ ФЛУОРЕСЦИРУЮЩИЙ БЕЛОК**

**Study of photodynamic action of near-IR photosensitizers on melanoma cell lines
expressing far-red fluorescent protein.**

Меерович И.Г.¹, Закладная А.В.², Казачкина Н.И.¹, Савицкий А.П.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии им. А.Н.Баха Российской академии наук, 119071, г. Москва, Ленинский просп., д. 33, стр. 2

²Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В.Ломоносова, 119571, г. Москва, просп. Вернадского, д. 86
Тел.: +7(495)952-87-99, факс: +7(495)954-27-32, e-mail: imeerovich@inbi.ras.ru

Фотодинамическая терапия – один из сравнительно новых методов терапии онкологических заболеваний, основанный на применении фотосенсибилизаторов (ФС), селективно накапливающихся в опухоли и оказывающих противоопухолевое действие при облучении светом определенной длины волны. Опухолевые модели, созданные с использованием опухолевых клеток, экспрессирующих цветные флуоресцирующие белки, позволяют исследовать развитие первичных опухолей и метастазов, а также ответа на противоопухолевую терапию, в режиме реального времени. Дальнекрасный ФБ mKate2 оптимален для глубокого имиджинга тканей животных.

Материалы и методы. В качестве ФС использовался метиловый эфир О-этилоксим-N-этоксикарбиопуринимида (МИТХТ им. М.В.Ломоносова). Облучение в экспериментах как *in vitro*, так и *in vivo* проводили при помощи лазера Биоспек ЛФТ-800-01 (Россия) на длине волны 800 нм. При изучении фотодинамического действия ФС его вводили животным в хвостовую вену в дозе 2 мг/кг веса через неделю после инокуляции опухоли, а опухоль облучали при плотности мощности 150 мВт/кв.см. в течение 15 минут. На базе клеточных линий человеческой меланомы mel Kor (ЭДИТО РОНЦ РАМН) и клеточной линии мышиной меланомы B16 (АТСС) при помощи липосомальной трансфекции с последующей селекцией при помощи антибиотика генетицина и клонирования были получены клеточные линии, стабильно экспрессирующие mKate2.

Результаты и обсуждение. Исследуемый ФС проявляет эффективное фототоксическое действие *in vitro* в отношении клеток флуоресцирующих опухолевых клеточных линий (mel Kor-mKate2 и B16-mKate2), причем доля выживших клеток уменьшается с увеличением времени облучения и времени инкубации с ФС. В отношении клеточной линии B16-mKate2 данный ФС проявлял также существенную темную токсичность. При помощи волоконного спектроанализатора LESA-01-Biospec (Россия) на модели флуоресцирующей меланомы mel Kor, перевитой мышам BalbC/Nu (ЭДИТО ГУ РОНЦ), установлено, что накопление используемого ФС в опухоли является максимальным в интервале 2,5-5 часов после введения, при этом максимальный контраст накопления по сравнению со здоровыми тканями наблюдается примерно через 3,5 часа после введения и достигает 5. После ФДТ опухолей mel Kor-mKate2 наблюдали существенное торможение роста опухоли. После ФДТ опухолей B16-mKate2, перевитых мышам C57Bl/6, торможение роста опухоли составило 82% на 7 день после ФДТ и более 84% на 10 день после ФДТ и позже.

Работа выполнялась в рамках Программы Президиума РАН “Фундаментальные науки – медицине”

**ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ОПТИЧЕСКИХ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ МЕТОДОВ
ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МОДЕЛИ «ОПУХОЛЬ-СТВОЛОВАЯ КЛЕТКА»****The possibility of fluorescent optical methods for studying
of the «tumor – stem cell» model**

**Мелешина А.В.¹, Черкасова Е.И.¹, Ширманова М.В.², Сергеева Е.А.³, Киселева Е.В.⁴,
Даширмаев Э.Б.⁴, Загайнова Е.В.¹**

1 - Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
603022 г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

2 - Нижегородская государственная медицинская академия,
603104 г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

3 - Институт прикладной физики РАН, 603155 г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46

4 - Институт биологии развития им. Н.К.Кольцова РАН, 119334 г. Москва, ул. Вавилова, 26
e-mail: almele@ya.ru

Участие стволовых клеток мезенхимального происхождения в туморогенезе в настоящее время является предметом дискуссий, при этом изучение паренхиматозно-стромальных отношений в опухоли (неоангиогенез, пролиферативная активность опухолевых клеток, формирование метастатических ниш) способствует пониманию воздействия стволовых клеток на различные аспекты и закономерности опухолевого роста. В решении этих задач традиционно используются различные методы морфологических и иммуногистохимических исследований.

В данной работе методами флуоресцентного поверхностного прижизненного имиджинга, оптической флуоресцентной микроскопии и лазерной сканирующей микроскопии (ЛСМ) исследованы следующие модели:

1. «реципиент-опухоль-стволовые клетки» с использованием мышей линий nude, культуры опухолевых клеток **Hela Kyoto (рак шейки матки), стволовых клеток стромы жировой ткани человека (СКЖТ), трансфицированных красным флуоресцентным белком Turbo FP635;**

2. «реципиент-опухоль» с использованием GFP - трансгенных мышей линии C57/Bl6 и перевиваемой карциномы легких Льюиса.

В первой модели для идентификации селективности накопления и анализа распределения в организме СКЖТ использовались методы поверхностного имиджинга и ЛСМ. Скопления клеток со спектральными характеристиками, соответствующими флуоресцентному белку **Turbo FP635 обнаружены в опухолевой ткани и костном мозге животных при локальном введении СКЖТ, а также в легких при системном введении.** Вероятно, что исследуемый тип стволовых клеток при местном и системном введении интегрирует в селезенку, костный мозг, легкие и ткани опухоли реципиента.

Во второй модели с использованием оптически-инертной опухоли на фоне GFP –положительного реципиента методами флуоресцентной микроскопии и ЛСМ проведен анализ распределения GFP-позитивных клеток реципиента в опухолевых и метастатических тканях. Идентифицирована селективность накопления и проведен анализ распределения GFP-позитивных клеток реципиента в опухолевых и метастатических тканях.

Таким образом, используемые модели по нашему мнению являются оптимальными для визуализации процессов взаимодействия опухоли и опухоленосителя, позволяя точно детектировать локализацию флуоресцентно-меченых клеток как *in vivo* (поверхностный биоимиджинг), так и *ex vivo* - методами флуоресцентной микроскопии. Последние являются важным дополнением к стандартно используемым морфологическим методам, поскольку позволяют получать информацию о происхождении клеток и путях их миграции в организме.

У ВАС ДИАГНОСТИРОВАЛИ ОКСИСТРЕСС? НЕ ТОРОПИТЕСЬ ПАНИКОВАТЬ.**Do you live in dread to the oxidative stress? Don't worry untimely.*****Меньшов В.А., Трофимов А.В.***

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, Косыгина, д.4.
Тел.: +7(495)939-74-06, e-mail: vinoman66@mail.ru

По данным Американской Национальной Медицинской Библиотеки, в 2011 году каждая пятидесятая опубликованная научная работа была посвящена исследованию проблем оксидстресса. При этом сам оксидстресс обычно понимается как дисбаланс окислительно-восстановительных процессов, способный навредить организму. Между тем, анализ литературных данных свидетельствует о том, что усиление продукции активных форм кислорода в биологических субстанциях само по себе не является достаточным условием для возникновения каких-либо дисфункций, будь то на уровне отдельной клетки или целого организма. Кроме того, не совсем ясно, что подразумевает собой понятие «нанесение вреда» применительно к редокс процессам на уровне отдельной клетки (микроорганизма) или макроорганизма. В этой связи, мы попытались выяснить, о каких же свойствах или признаках оксидстресса могла идти речь в нескольких десятках тысяч работ, опубликованных по данной тематике за последние годы, если природа и философский смысл самого явления не очень хорошо понятны? Анализ литературы показал, что существует несколько серьезных научно-методических проблем в данной области, которые приводят к частым конфликтам экспериментальных данных и ведут к формированию ненадежных или ложных выводов. К одной из таких проблем относится объективный поиск и выбор критериев оценки состояния оксидстресса. Речь здесь идет преимущественно о поиске биомаркеров окислительных повреждений, тесно взаимосвязанных с нарушением структурной и/или функциональной организации заданной биосистемы. В настоящее время отсутствует полноценная систематизация биомаркеров оксидстресса, так же как и не выработаны алгоритмы подбора биомаркеров в соответствии с поставленной задачей и условиями эксперимента. В данном обзоре предлагается системный анализ биомаркеров оксидстресса, который позволяет лучше понять природу явления, а также выявить новые индикаторы.

**ПРИЧИНА АКТИВНОСТИ РАСТВОРОВ ПОСЛЕ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ.
РОЛЬ ХЛОРИДОВ И ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ПОТЕЦИАЛА****The cause of activity solutions after electrochemical treatment. The role of chloride and redox potential.****Мирошников А.И.**

Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, Московской обл., ул. Институтская, 3
Тел.8(4967)739-388, Факс 8(4967)330-509, e-mail: aimir10@yandex.ru

Катоды и аноды питательной среды М 9 приобретали активные свойства стимуляции и ингибирования роста клеток *E.coli* только в том случае, если в растворе при электролизе находились соли, содержащие хлор. Обработка раствора соляной кислоты, показала, что наличие именно ионов хлора придает растворам активные свойства. Биологическая активность катодов и продолжительность ее сохранения зависела от длительности воздействия электрического поля и от объема полученного раствора. Возможная причина активности катодов – восстановительные свойства, которые приобретает анион хлора как донорная система свободных электронов в результате энергизации анионов хлора электростатическим полем на границе электрод-электролит. При этом, энергизованный анион хлора диссоциирует на свободный электрон и радикал хлора. Как следует из продолжительности сохранения активности катодов, анион хлора может находиться в энергизованном состоянии несколько суток. В последующем два радикала хлора рекомбинируют и образуют стабильную молекулу хлора. Свободный электрон может существовать в растворе как сольватированный электрон в виде отрицательно заряженного комплекса, возникающего в результате взаимодействия свободного электрона с молекулами растворителя, поляризованными в его поле. Такой электрон является сильнейшим восстановителем, его время жизни в водном растворе порядка 1 мс. В случае клеточной суспензии представляет интерес взаимодействие сольватированного электрона с веществом – акцептором, в качестве которого может выступать вещество на клеточной поверхности. Комплексы сольватированных электронов могут способствовать увеличению массопереноса ионов и веществ через мембраны клеток. Продолжительность сохранения биологической активности катодов будет определяться временем сохранения восстановительных свойств энергизованных анионов хлора и образованием комплексов сольватированных электронов в растворе. Величина стимулирующего эффекта катода не связана с величиной окислительно-восстановительного потенциала. Такой редокс потенциал релаксирует к равновесному значению в течение нескольких часов, а биологическая активность катодов сохранялась в течение 18-21 суток. По мере потери восстановительных свойств анионами хлора и окончания срока жизни сольватированных электронов, катод будет терять свою биологическую активность. Причина биологического действия анода обусловлен образованием окислителей в анолите при электролизе растворов, содержащих хлориды. В зависимости от ионного состава растворов и режимов обработки окислители в анолите образуются в виде молекулярного хлора, хлорноватистой кислоты или ионов гипохлорита. Окислители разрушают белки и мембраны клеток и вирусов, что приводит к их гибели. Продолжительность сохранения активных свойств анодов определяется продолжительностью сохранения окислителей в растворе. При соответствующем хранении растворов (в темноте, в закрытой не металлической посуде) аноды могут сохранять активность до года.

**ОЦЕНКА МОДИФИЦИРУЮЩЕГО ВЛИЯНИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО
СЛОЖНОМОДУЛИРОВАННОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ
НА РЕАКЦИЮ ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС**

**The assessment of modifying effect of low intense modulated electromagnetic radiation
on the reaction of rat autonomic nervous system**

Мишагина М. Н., Глухова О.В., Баркин В.В., Девяткова Н.С., Лобкаева Е.П.

ФГУП Российский Федеральный Ядерный Центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики,
607188, г.Саров, Нижегородская обл., пр.Мира 37
Тел. +7(83130) 2 25 99, факс +7(83130) 2 53 00, e-mail: nata@bfrс.vniief.ru

В работе представлены исследования модифицирующего влияния сложномодулированного электромагнитного излучения (ЭМИ) на функционирование вегетативной нервной системы крыс.

Объектом исследования являлись нелинейные белые крысы-самцы. Использовали ЭМИ частотой 1 ГГц и плотностью потока энергии (ППЭ) 85,0 мкВт/см² в двух режимах импульсно-частотной модуляции, подобранных в соответствии с естественными ритмами головного мозга. Режим ЭМИ_I характеризовался увеличением частоты следования импульсов в диапазоне от 5,5 до 17,0 Гц, режим ЭМИ_{II} – уменьшением частоты от 17,0 до 5,5 Гц. Оценку работы вегетативной нервной системы проводили путём анализа variability сердечного ритма.

Выявлено, что наибольшим модифицирующим влиянием обладает режим ЭМИ с увеличением частоты следования импульсов в диапазоне ритмов головного мозга от 5,5 до 17,0 Гц. Показано выраженное влияние ЭМИ, в данном режиме модуляции, на симпатический отдел вегетативной нервной системы.

Установлено, что однократное 34 минутное воздействие ЭМИ с увеличением частоты следования импульсов в диапазоне 5,5 - 17,0 Гц, влияя на животных с высоким уровнем напряжения регуляторных систем, снижает активность симпатического отдела до нормы. Это, в свою очередь, служит основой для запуска компенсаторных реакций со стороны парасимпатического отдела, что является положительным эффектом для организма в состоянии стресса и перенапряжения и выступает обязательным условием для восстановления вегетативного баланса.

Результаты исследований могут быть использованы в поиске путей нормализации вегетативного баланса организма, находящегося в состоянии перенапряжения регуляторных систем.

**РОЛЬ ОСТАТКА Cys146 В МОЛЕКУЛЕ ЛЮЦИФЕРАЗЫ *L. MINGRELICA*
И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭТОГО ОСТАТКА ДЛЯ КОНЬЮГАЦИИ ЛЮЦИФЕРАЗЫ
С БИОСПЕЦИФИЧЕСКИМИ МОЛЕКУЛАМИ**

**The role of Cys146 residue in *L. mingrelica* firefly luciferase and the use of this residue to
conjugate luciferase with biospecific molecules**

Модестова Ю.А., Ломакина Г.Ю., Угарова Н.Н.

Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва,
119992, Россия; ООО «Люмтек»

Тел.: +7(495)939-26-52; факс +7(499)939-26-60; e-mail: jmodestova@yahoo.com

SH-группы остатков Cys в белках обладают высокой реакционной способностью, что позволяет им играть важную роль в функционировании белков. В молекуле люциферазы светляков *L. mingrelica* из 8 свободных остатков Cys большинство расположены в поверхностной зоне молекулы или в глубине белковой глобулы. Исследование мутантов люциферазы с единичными заменами остатков Cys на Ser, показало, что особый интерес представляет поверхностный остаток Cys146. Известно, что для защиты люциферазы от окислительной инактивации используют дитиотреитол (ДТТ). Стабильность мутанта Cys146Ser не зависела от присутствия ДТТ, что показывает, что основной эффект в окислительную инактивацию фермента вносит спонтанное окисление SH-группы Cys146. Замена Cys146Ser в исходной люциферазе (WT) и в WT-люциферазе, содержащей His₆-последовательность на С-конце фермента, приводила к стабилизации фермента при 37°C и 42°C. Всё это свидетельствует о высокой реакционной способности SH-группы Cys146.

В нашей лаборатории разработаны методы конъюгации люциферазы с биоспецифическими молекулами через SH-группы фермента посредством бифункционального сшивающего агента (SPDP). Оказалось, что конъюгация WT люциферазы происходит значительно эффективнее, чем термостабильного мутанта люциферазы 4TS, содержащего 8 аминокислотных замен, включая Cys146Ser [1]. Мы предположили, что это связано с отсутствием в 4TS свободной SH-группы остатка Cys146 и ввели обратную замену Ser146Cys, получив мутант 4TS-C. Оказалось, что конъюгация 4TS-C с бычьим сывороточным альбумином (BSA) протекает так же эффективно, как и WT люциферазы. При 37°C это процесс занимает 1,5-2 ч. Основным продуктом – конъюгат с соотношением фермент/BSA 1:1. Показано, что после конъюгации фермент сохраняет 90% активности, а каталитические параметры 4TS-C и его конъюгата совпадают в пределах погрешности.

При повышенной температуре (37 - 42°C) константы инактивации 4TS и 4TS-C совпадают, однако при понижении температуры (0-20°C) 4TS-C менее стабилен. По-видимому, для 4TS-C возрастает вклад процесса окислительной инактивации благодаря наличию свободной SH-группы остатка Cys146. Стабильность конъюгата 4TS-C/BSA во всем температурном интервале (0 - 42°C) превышала стабильность 4TS-C и 4TS благодаря исключению процесса окислительной инактивации и стабилизирующему эффекту BSA. Использование Cys146 открывает возможность эффективного проведения конъюгации люциферазы *L. mingrelica* и ее термостабильных мутантов с биоспецифическими молекулами.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 11-04-00698-а.

[1] M. I. Koksharov, N. N. Ugarova/ Protein Engineering, Design and Selection (2011) 24 (11): 835-844.

ХАРАКТЕРНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ В ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ КОЛЛАГЕНА III И ЕГО ГЕОМЕТРИЧЕСКИЕ И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ СЛЕДСТВИЯ**Characteristic polymorphism in the primary structure of collagen III and its geometry and energy consequences****М.В. Молдавер^{1,2}, Л.Е. Рагулина², И.В. Филатов^{1,2}, В.Г. Туманян¹, Н.Г. Есипова¹**¹ – ФГБУ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32;² – Московский физико-технический институт, 141700, Московская обл., г. Долгопрудный, Институтский пер., 9

Важная проблема способов реализации генетической информации может быть раскрыта на уровне синтезируемых белковых структур, прежде всего, при анализе следствий аминокислотных замен. В данной работе проанализировано, как характерный полиморфизм, часто наблюдаемый в человеческой популяции, может приводить к изменениям в структуре белка, отдаленным от точки мутации.

У семьи К. из пяти человек (мать и четверо детей), страдающих различными сердечно-сосудистыми заболеваниями, был произведен забор крови. Из образцов крови выделена ДНК, подобраны и синтезированы праймеры к 52 экзонам последовательности гена COL3A1, кодирующего коллаген III. У трех человек (трех детей) нами обнаружена гетерозиготная замена в 30 экзоне G24983→A, что соответствует замене аланина на треонин Ala698Thr в аминокислотной последовательности белка.

Затем было проведено исследование эффекта аминокислотной замены в аспекте изменения структуры и энергетических характеристик макромолекулы коллагена как следствия мутации.

Расчет энергии и свободной энергии был проведен для фрагмента цепи коллагена III, содержащего 22 трипептида, с трипептидом, в котором произошла мутация, в середине. Стартовую конформацию для процедуры оптимизации энергии задавали значениями двугранных углов ϕ и ψ типичными для тройной спирали коллагена. Были проведены априорные расчеты трехмерной структуры по последовательности аминокислот (с использованием программы молекулярной механики ICM). Проведена оценка изменений энергии и параметров спирали, сопряженных с аминокислотной заменой. Энергия фрагмента нативного белка составляла -723,19 ккал/моль, а белка с мутацией -742,28. Т.е. белок после замены имел более выгодную энергию (на 19,09 ккал/моль). Свободную энергию оценивали с использованием сервера DFIRE. При этом свободная энергия фрагмента нативного белка была -110,20 ккал/моль, а после мутации равнялась -111,63 ккал/моль. Таким образом, оценка свободной энергии также приводит к выводу о стабилизации мутантной формы. Установлено, что наибольшие изменения параметров спирали имеют место не в области аминокислотной замены, а на расстоянии около 30 Å от точки замены аминокислоты.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программ Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и «Фундаментальные науки – медицине».

**МЕХАНИЗМЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ МИОКАРДА
НИЗКОИНТЕНСИВНЫМ ЛАЗЕРНЫМ СВЕТОМ****Mechanisms of myocardial ultrastructure injury produced by low-intensity laser light****Монич В.А., Малиновская С.Л., Баврина А.П.**

ГБОУ ВПО Нижегородская Государственная Медицинская Академия,
Н.Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1, 603005, Россия;
E-mail: vam@gma.nnov.ru; Fax: +7-831-465-50-51;

Хорошо известны эффекты повышения содержания активных форм кислорода в тканях миокарда при ишемии и дальнейшего их накопления при реперфузии [1]. Результатом этих процессов является изменение характеристик сократительной активности сердца. Модификация механики сердечных сокращений прямо связана с морфологическими изменениями в тканях миокарда.

Согласно анализу микрофотографий тканей миокарда открытого сердца, к последствиям ишемии и реперфузии можно отнести микроклазматоз, состоящий в нарушении структуры эндотелиального слоя (появление длинных микровыростов), набухание базального слоя, набухание митохондрий, деструкция и дезориентация крист по сравнению с интактными образцами [2].

Облучение открытого сердца лазерным излучением (длина волны 632.8 нм, интенсивность 5 мВт/см², непрерывный режим) привело к развитию микроструктурной модификации кардиомиоцитов и капилляров. Помимо микроклазматоза, наблюдалось уменьшение диаметра капилляров и деструктивные изменения митохондрий с гиперплазией мелких митохондрий. Матрикс митохондрий был просветлен, в нем выявлялись аморфные и внутрикристные включения. Наблюдался внутриклеточный отек кардиомиоцитов. Площадь СПР (сарко-плазматического ретикулума) была увеличена в 6,5 раз по отношению к интактным образцам, и в 2,6 раза, по отношению к образцам, полученным наложением ишемии с последующей реперфузией.

Данные эффекты можно связать с наличием физических особенностей лазерного излучения. Действительно, облучение открытого сердца, произведённое в тех же условиях широкополосным светом той же интенсивности (спектральный максимум 640 нм) показало отсутствие стеноза капилляров, внутриклеточного отека кардиомиоцитов, набухания митохондрий и деструкции крист. Происходило восстановление средней площади СПР до уровня, наблюдавшегося в интактных образцах.

Когерентное излучение может дифрагировать на эритроцитах, находящихся в капиллярах, на самих капиллярах, на органеллах кардиомиоцитов и на других оптических неоднородностях. Расчёты показывают, что интерференционные максимумы могут локально изменить условия облучения и вызвать эффекты интенсивного светового воздействия в зонах наблюдаемых альтераций микроструктуры тканей миокарда.

1. McCord, J. M. *Free Rad. Biol. Med.*, 1988, 4, 9.

2. Малиновская С.Л., Монич В.А., Артифксова А.П. *Бюлл. Эксп. Биол. Мед.*, 2008, 145 (5), 509.

**ПРИМЕНЕНИЕ ЦИТОФИЗИЧЕСКОГО МЕТОДА АНАЛИЗА НАТИВНОЙ КРОВИ
ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ РАДАХЛОРОФИЛЛА И КОРДИЦЕПСА
НА МЕМБРАННЫЕ ПОТЕНЦИАЛЫ И АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИЙ
В ИММУННЫХ КЛЕТКАХ IN VIVO**

**Cytophysical method of native blood analysis use to in vivo investigation radoxlorofil
and cordiceps influence on membrane potentials and mitochondria activity in
immune cells**

Морозова Г.И.¹, Семенов В.В.¹, Адашевская Л.В.²

¹Российский Университет Дружбы Народов, Россия, 117198, Москва,
ул., Орджоникидзе, д.3;

²Медицинский центр «Альтера», Россия, Москва, 105066, Новорязанская ул., д.30-А
Тел.:+7(495)955-08-38; +7 917 595 3033; e-mail: gimorozova@mail.ru

Сегодня актуальна задача внедрения экспресс-методов для индивидуальной оценки эффективности БАД и лекарственных препаратов, повышающих адаптационные и иммуно-энергетические ресурсы организма. Цитофизический метод [1, 2] позволяет по флуоресценции зонда-катиона ДСМ и в нативном мазке крови регистрировать ранние и пролонгированные изменения суммы трансмембранных электрических потенциалов (ТМП) на внешней и митохондриальной мембранах лимфоцитов и нейтрофилов (НФ), характеризующих их энергетическую активность (ЭА), исследовать изменения в структуре митохондриального ретикулума клеток после воздействий.

В данной работе продемонстрированы возможности метода для динамического контроля за структурно-энергетическими показателями (СЭП) иммунных клеток в крови после воздействия *in vivo* БАД **радахлорофилла (РХ) (Россия) на здоровых доноров и кордицепсодержащих препаратов (КП) (КНР) на онкобольных в пост-операционном периоде**. При исследовании крови доноров уже через 30 мин после приема РХ зарегистрирован рост ЭА (по росту интенсивности флуоресценции ДСМ в митохондриях) Т-клеток и В-л. После курса РХ (в течение месяца) этот эффект достоверно сохраняется в субпопуляции Т-хелперов, при этом в клетках наблюдается увеличение количества цепочечных структур митохондрий. Анализ мазков нативной крови больных выявил модулирующий характер влияния КП на клетки в течение ранней фазы иммунного ответа (через 2 ч. после приема препарата): рост ТМП в НФ и ЭА митохондрий в Т-супрессорах и в натуральных киллерах (НК) с исходно низкой активностью, и, напротив, снижение этих показателей в исходно гиперактивных клетках. Проведение курса КП в течение месяца, как правило, сдвигает СЭП иммунных клеток, особенно для НК, в сторону нормы. Важно отметить, что регистрация ранней фазы энергетических реакций иммунных клеток в крови позволяет выявлять специфическую направленность данного воздействия на звенья иммунной сети для индивидуального организма.

1. Морозова Г.И., Онищенко Н.А., Оржеховская И.Г. и др. // Гематология и трансфузиология, 1997. Т. 42. С. 43-47.

2. Морозова Г.И., Пархоменко Т.В. и др. / Биол. мембраны, 2007. № 6. С. 472-478.

**НАНОТЕХНОЛОГИИ В МЕДИЦИНЕ
(СВЕТООУПРАВЛЯЕМАЯ АКТИВАЦИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ)****Nanotechnology in Medicine (controlled by light activation of the immune system)****Намиот В.А.**

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Институт ядерной физики, 119992, Москва, Воробьевы горы, 1; e-mail: vnamiot@gmail.com;

Прогресс в микроэлектронике, особенно заметный в последние годы, уменьшение размеров элементов, используемых в ней, от долей микрона до десятков нанометров делает вполне реальной задачу создания устройств, сравнимых по своим размерам с клетками организма и даже с внутриклеточными органеллами. Создание подобных устройств и их взаимодействие с биологическими объектами, включая в том числе и человека, и составляет предмет нового научного направления, называемого наномедициной. В идеале, целью наномедицины является создание миниатюрного робота-лекаря. Но даже когда он будет создан, это, скорее всего, будет достаточно сложное и дорогое устройство. Поэтому нами был предложен иной путь. Вместо того чтобы изготавливать подобное устройство, гораздо проще подобраться, используя для этого нанотехнологию, к "блокам управления" уже имеющихся в большом количестве клеток самого организма и заставить их выполнять то, что нам требуется. В частности, на основе такого подхода, нами был предложен способ светоуправляемой активации клеток иммунной системы /1,2/.

Общая идея такой активации в применении к онкологии состоит в следующем. В зону опухоли может быть введён порошок, состоящий из специальным образом приготовленных микрочастиц. Именно: каждая такая микрочастица представляет собой микроскопический полупроводниковый фотоэлемент, способный генерировать под действием падающего на него излучения напряжение и ток. (Конструктивно, такая микрочастица может представлять собой полупроводниковый кристалл малого размера, в котором имеются области с р и n проводимостями, а между ними расположена зона р-n перехода). Такой фотоэлемент должен работать в инфракрасной области спектра, поскольку наибольшую глубину проникновения в ткани организма (составляющую примерно шестьдесят миллиметров) имеет излучение с длиной волны вблизи одного микрона. Значительная часть этих микрочастиц будет фагоцитирована макрофагами и дендритными клетками, имеющимися в области опухоли. Имеются основания полагать, что при появлении электрического потенциала на этих частицах, будет происходить активация таких клеток, что, в свою очередь, приведёт к активации и других компонент иммунной системы. Меняя мощность оптического излучения, вводимого в зону опухоли, можно осуществлять управление активацией иммунной системы во времени. Это, в принципе, могло бы позволить подбирать оптимальную стратегию такой активации.

1. Намиот В.А., Клюкин Л.М., Клюкина Т.В., Кузнецов А.А. "Сверхминиатюрные электрохимические и фотоэлектрические источники тока и их возможное использование для управляемой активации иммунной системы и других медицинских задач" "Биофизика" т.54 №4 стр.742-747 июль-август 2009г.

2. Намиот В.А., Клюкин Л.М., Клюкина Т.В., Кузнецов А.А. "Светоуправляемая активация иммунитета" НТР т.89 №1 стр. 36-41 (2010).

**ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССОВ ТУШЕНИЯ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ
ФОСФОРЕСЦЕНЦИИ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ ЗОНДОВ, СВЯЗАННЫХ С БЕЛКАМИ****Characteristics of the processes of quenching of phosphorescence of luminescent
probes bound to proteins by heavy metals****Наумова Е.В., Мельников А.Г., Дячук О.А., Мельников Г.В.**

Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А.
Тел. +7(8452)27-95-06; e-mail: agmelnikov@yandex.ru

Изучено влияние солей тяжелых металлов: нитрат таллия, йодида цезия, а также соли йодида натрия, содержащей тяжелый атом – йод, на спектрально-кинетические характеристики полярного зонда – красителя ксантенового ряда эозина и неполярных зондов – антрацена и пирена, нековалентно связанных с сывороточным альбумином человека (САЧ).

Определены константы Штерна-Фольмера тушения флуоресценции и фосфоресценции эозина в САЧ катионами Tl^+ , Cs^+ и анионом I^- . Значение константы Штерна-Фольмера тушения йодидом натрия фосфоресценции эозина гораздо выше, чем константа тушения флуоресценции, что обусловлено большим временем жизни триплетных состояний эозина и как следствие увеличением вероятности встреч эозина и тушителя. Кроме того, показано, что на эффективность тушения зонда может оказывать влияние место его локализации зонда в белке. Так нами установлено, что эозин сорбируется вблизи гидрофобной области белка. В этом случае создаются благоприятные условия для образования комплекса столкновения, состоящего из эозина и аниона йода, располагающихся вблизи гидрофобной области на положительно заряженных аминокислотных остатках. Этим можно объяснить значительное тушение триплетных состояний эозина анионом йода.

Показано, что увеличение констант тушения люминесценции эозина при переходе от цезия к таллию может быть вызвано эффектом тяжелого атома. По смещению спектров поглощения и флуоресценции установлено, что молекулы эозина преимущественно связаны с белками. Следовательно, тушение возбужденных состояний зонда ионами тушительной осуществляется в глобуле белка.

Нами также исследованы процессы тушения флуоресценции неполярных зондов полициклических ароматических углеводородов (ПАУ): пирена и антрацена, локализованных вблизи неполярных участков глобулы белка. Обнаружено возрастание индекса полярности пирена (отношение первого максимума к третьему в спектре флуоресценции пирена) при увеличении концентрации нитрата таллия в растворе САЧ, что может быть связано с изменением микроокружения молекул пирена, вследствие структурной перестройки белков под действием нитрата таллия.

Установлено, что процесс тушения может реализоваться как в поверхностном слое глобулы белка, так и в глубинных областях. По изменению индекса полярности пирена установлено, что соли тяжелых металлов, вызывают структурную перестройку в белках.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕХАНИЗМОВ РЕПАРАЦИИ ДНК В ЛИМФОЦИТАХ БОЛЬНЫХ МЕЛАНОМОЙ И В КЛЕТКАХ МЕЛАНОМЫ С РАЗЛИЧНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ К ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМ ПРЕПАРАТАМ**Efficiency of DNA repair mechanisms (BER and MMR) in peripheral blood lymphocytes from melanoma patients and in melanoma cells, differing in the sensitivity to the antitumor drugs****Некрасова Е.И.¹, Артамонов Д.Н.¹, Кондрашева И.Г.², Москалева Е.Ю.²,
Абрамов М.Е.³, Тронов В.А.¹**¹ – Институт химической физики им. Н.Н.Семенова РАН, 119991, Москва, ул Косыгина, 4;² – НИЦ «Курчатовский институт» НБИКС-центр, Москва;³ – 2-Российский онкологический научный центр имени Н.Н. Блохина РАМН, Москва
Тел.: +7(495)939-74-92; e-mail: vtronov@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ. Меланома, неопластическое заболевание, поддается лечению на начальных стадиях. На стадии метастазирования меланома характеризуется высокой лекарственной устойчивостью. Лечение меланомы базируется на цитотоксической химиотерапии (ХТ). Но частота положительного ответа больных на ХТ не превышает 20%. Одна из исследовательских стратегий, направленных на преодоление низкой эффективности ХТ, - поиск маркеров, позволяющих прогнозировать индивидуальную чувствительность больных к ХТ. При этом возможны два подхода: поиск прогностических маркеров ответа клеток, получаемых из опухолей больного и поиск клеточных маркеров, опосредованно связанных с опухолевыми клетками. К последнему относится мониторинг ответа лимфоцитов крови больных на ХТ *in situ* и *in vitro*.

ЦЕЛЬ. Исследование корреляции биофизических показателей лимфоцитов крови больных и их ответа на ХТ и сравнение эффективности механизмов репарации ДНК лимфоцитов и культивируемых клеток, полученных из опухолей больных меланомой кожи при использовании показателей двух механизмов репарации ДНК - BER и MMR, - влияющих на лекарственную устойчивость опухолевых и нормальных клеток.

МЕТОДЫ. ХТ больных с диагнозом меланома проводили согласно протоколу ЛДЦИ. Клинический ответ определяли по критериям для солидных опухолей (RECIST). До и сразу после ХТ у больных брали кровь из вены, выделяли лимфоциты, стимулировали добавлением ФГА и исследовали. Параметры ответа лимфоцитов на химиотерапию сравнивали с параметрами лимфоцитов тех же больных до ХТ и в ответ на challenge-воздействие метилнитрозомочевинной *in vitro*. Полученные из опухолей больных линии клеток меланом Mel8 и Mel10 исследовали по такой же схеме, что и лимфоциты больных *in vitro*. Во всех случаях оценивали цитотоксичность воздействий (долю погибших клеток и экспрессию FasR), уровень пролиферации, степень повреждения и репарации ДНК, а также уровень экспрессии белков систем репарации BER и MMR (MGMT, APE1, MLH1, MSH2).

РЕЗУЛЬТАТЫ. Показано, что межиндивидуальные вариации эффективности BER не влияют на цитотоксический ответ лимфоцитов и клинический ответ больных на химиотерапию. Повреждения однострессовой ДНК вносят незначительный вклад в цитотоксический эффект химиотерапии. Показана достоверная корреляция между количеством вторичных ds-разрывов ДНК, индуцированных ХТ в лимфоцитах больных, и клиническим ответом этих больных на химиотерапию. Обнаружена достоверная корреляция между ответом лимфоцитов больных меланомой на ХТ и на тест-воздействие метилнитрозомочевинной *in vitro*. Обнаружена более высокая эффективность BER и MMR в более устойчивых к действию метилнитрозомочевинной *in vitro* клетках линии Mel10 по сравнению с клетками линии Mel8.

ИНТЕНСИВНОСТЬ СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ И ИХ ВЗАИМОСВЯЗЬ С СОСТОЯНИЕМ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ У ПАЦИЕНТОК С ДИАГНОЗОМ АУТОИММУННЫЙ ТИРЕОИДИТ**The intensity of the free-radical processes and their relationship with the state of the cardiovascular system in patients with a diagnosis of Hashimoto's thyroiditis****Некрасова Т.А.¹, Стронгин Л.Г.¹, Давыденко Д.В.², Яшанова М.И.², Щербатюк Т.Г.²**¹ – НижГМА, 603005 г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1² – ННГУ им. Н.И. Лобачевского, 603950 г. Нижний Новгород, пр-т Гагарина, д.23
Тел. 89527726312, e-mail: yammi2006@rambler.ru

Аутоиммунный тиреоидит (АИТ) – распространенное заболевание щитовидной железы, которое может привести к манифестному или субклиническому гипотиреозу (СГ). Многие исследователи считают АИТ фактором риска сердечно-сосудистых патологий. Однако неоднозначных данных об изменении состояния сердечно-сосудистой системы и роли окислительного стресса в развитии АИТ нет.

В связи с этим целью настоящей работы явилось исследование интенсивности свободно – радикальных процессов в плазме крови и оценка структурно-функционального состояния сердца пациенток с субклиническими нарушениями функции щитовидной железы.

В ходе работы была исследована плазма крови 120 пациенток с нарушениями функции щитовидной железы.

Было выделено 3 группы: 1 - без заболевания - группа контроля (34 пациентки),

2 – АИТ, эутиреоз (24 пациентки)

3 – АИТ, СГ (62 пациентки).

Изменение ПОЛ плазмы крови больных оценивали по содержанию в плазме крови молекулярных продуктов ПОЛ: коньюгированных диенов (ДК), триеновых коньюгатов (ТК) и малонового диальдегида (МДА). Также в работе определялась активность ферментов: супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы.

Состояние сердечно-сосудистой системы определялось методом тканевой миокардиальной доплерэхокардиографии, оценка эндотелий-зависимой вазодилатации проводилась с помощью механического теста (манжеточной пробы), определение толщины комплекса интима-медиа в дистальном отделе общей сонной артерии проводилось в В-режиме по общепринятой методике Pignolli P.

В ходе исследования были получены следующие результаты:

- Установлено повышение концентрации ДК и ТК при АИТ, эутиреозе на 31% и 49% соответственно и при АИТ, СГ на 23% и 26% соответственно в сравнении со здоровыми донорами. Изменение уровня МДА не являлось статистически значимым. - Выявлено, что СГ характеризуется повышенной активностью СОД (в 3,3 раза по сравнению со здоровыми донорами). Изменение активности каталазы не являлось статистически значимым.

Происходит нарушение баланса про-антиоксидантных систем. При АИТ наблюдается гиперпродукция ДТ и ТК, а также ответная активация антиоксидантной системы, во много раз превышающая интенсификацию прооксидантной системы.

Обнаружено, что активация ПОЛ при АИТ ассоциируется с увеличением размеров правого желудочка, со снижением сократительной функции левого желудочка и со снижением показателей эластичности сосудов. В группе больных с наиболее высоким ТТГ (> 6 мЕд/л) повышение ПОЛ может прямо везти к эндотелиальной дисфункции, и через неё – к акселерации атеросклероза.

**ВЛИЯНИЕ СЛОЖНОМОДУЛИРОВАННОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ
НА СИСТЕМЫ РЕПАРАЦИИ ДНК****The modulated electromagnetic radiation effects on the DNA reparation systems**

***Никанорова Е.А., Нагиба В.И., Иванов К.Ю., Калиновская О.В., Хаймович Т.И.,
Лобкаева Е.П.***

ФГУП «Российский Федеральный ядерный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики»,
607188, Нижегородская обл., г.Саров, пр.Мира, 37,
Тел. +7(83130) 2 52 99, факс +7(83130) 2 53 00, e-mail:gane@orb2.vniief.ru

В настоящее время установлена избирательная способность различных систем организма реагировать на энергетическую, частотно-амплитудную и модулирующую составляющую электромагнитных излучений. В работе изучали влияние сложномодулированного электромагнитного излучения (ЭМИ) частотой 1 ГГц с различными параметрами модуляции и величиной плотности потока энергии (ППЭ) на эффективность УФ-индуцированного репаративного внепланового синтеза ДНК в клетках крови лабораторных животных *in vivo*. В эксперименте использовали 144 белых беспородных крыс-самцов, разделенных на группы по 12 животных в каждой. Эффективность внепланового синтеза ДНК определяли по степени включения меченного тритием тимидина в клетки крови после дополнительного тестирующего УФ-облучения при кратковременной инкубации с питательной средой.

Действие сложномодулированного низкоинтенсивного ЭМИ и немодулированного ЭМИ с величинами плотности потока энергии 47, 15, 9 и 6 мкВт/см² на эффективность индуцированного репаративного синтеза ДНК в клетках крови животных вызывало достоверное снижение эффективности репарации ДНК по сравнению с контрольными значениями: в 1,3...1,5 раза после воздействия сложномодулированным СВЧ излучением с ППЭ 9 и 15 мкВт/см² ($p \leq 0,05$) и в 1,5 раза - для немодулированного СВЧ излучения с ППЭ 15 мкВт/см² ($p \leq 0,001$).

Выявлен немонотонный характер зависимости эффекта действия электромагнитного излучения с различными параметрами на репаративный статус клеток крови животных от величины плотности потока энергии. В результате многофакторного анализа установлено достоверное влияние модуляции на показатель индекса репарации сразу после воздействия ЭМИ. Таким образом, в работе показано формирование внутриклеточных реакций, вызывающих значимое снижение емкости репаративных клеточных систем.

**МЕХАНИЗМЫ ВЫЖИВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ
В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ****Mechanisms of organisms surviving under extreme conditions of environment****Николаев Г.М., Тимофеев К.Н.**

Биологический факультет МГУ, 119234, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12
Тел.: +7(495)9391084, факс +7(495)9391115, e-mail: nikolaevnmr@mail.ru

На модельных полимерах- полиэтиленiminaх различного состава, а также олигомерных иминах показано, что при увлажнении синтетических макромолекул и образовании кристаллогидрата наблюдается появление льдоподобных структур [1]. Такие структуры регистрируются с помощью кинокамеры, а по кривым спада спинового эхо ЯМР определено физическое состояние протонов воды. Экспериментально показано, что в лиофильно высушенных низших растениях, цистах низших ракообразных, искусственно созданных ассоциациях водоросли и актиномицета присутствует фракция подвижных протонов льдоподобной структуры. Перенос электрона, протона, гидридного иона H^- может осуществляться за счет переноса по цепи, построенной из молекул воды. Присутствие подвижной фракции протонов в высушенных микроорганизмах (эукариотах), низших растениях, яйцах покоя низших ракообразных играет определяющую роль при сохранении их жизнеспособности в экстремальных условиях среды обитания. Сконструированные в лабораторных условиях ассоциации, состоящие из актиномицета и зеленой водоросли; актиномицета и цианобактерии [2], формой развития напоминают таллом лишайника, который выживает в неблагоприятных условиях влажности, и при лиофильном высушивании в нем сохраняется подвижная, льдоподобная воды. Для экспериментальной проверки роста числа клеток свободной цианобактерии и цианобактерии в ассоциации были приготовлены в параллельных экспериментах два образца: ассоциация с лишайникоподобным талломом и образец цианобактерии. Биомасса этих образцов наращивалась в одинаковых условиях по температуре, освещенности и влажности окружающей среды. Рост количества клеток водоросли в ассоциации и количества клеток свободной водоросли фиксировался по фотоиндуцированным сигналам ЭПР. Зафиксировано, что число клеток водоросли в ассоциации в 5.9 раза больше по сравнению с образцом водоросли. В сухих цистах артемий при низкотемпературной активации (-8° , 60 дней) идут метаболические реакции, что подтверждают данные ЭПР-спектроскопии. Осенью в не активированных цистах артемий в 2.5 раза выше концентрация парамагнитных ионов по сравнению с активированными цистами артемий весной.

1. Литвинов И.А., Артамонова С.Д. и др. / Высокомолекул. Соединения. Краткие сообщения, 1980, Т.22, С.705–707.
2. Звягинцев Д.Г., Зенова Г.М и др. / Микробиология, 2010, Т.79, №3, С.329–336.

РАЗРАБОТКА ХИМИЧЕСКИ-СВЯЗАННЫХ ЦЕМЕНТНЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ТРИКАЛЬЦИЙФОСФАТА ДЛЯ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ ПЛАСТИКИ КОСТНОЙ ТКАНИ

Никонова Ю.А.^{1,2}, Селезнева И.И.^{1,2}, Путляев В.И.³

- 1 – ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно - научный институт, 142290, Пушкино, Проспект науки, 3
- 2- ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290, Пушкино, Институтская, 3
- 3 – ФГБОУ ВПО МГУ имени М.В.Ломоносова, Факультет наук о материалах, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 73
Тел. 8(926)0565106, E-mail: jl.nikonova@gmail.com

Основными проблемами при разработке материалов для регенеративной пластики опорных тканей, способных восполнять объем дефекта и поддерживать рост клеток, замещаясь в процессе резорбции новообразованной костью, являются обеспечение биосовместимости, механической прочности, адгезивности по отношению к клеткам и тканям и согласованного с ростом кости темпа резорбции. Перспективными способами управления резорбируемостью кальцийфосфатных материалов являются изменение параметров кристаллической решетки и создание пористой структуры материалов путем включения водорастворимых фаз.

Целью данной работы было исследование цитотоксичности, адгезионных характеристик и скорости резорбции химически связанных цементных материалов на основе трикальцийфосфата (ТКФ). В работе исследовали 10 типов материалов на основе ТКФ: 1.ТКФ/20%KCl, 2.ТКФ/35%KCl, 3.ТКФ/50%KCl, 4.ТКФ%/50%KCl, 5.ТКФ/65%KCl, 6.ТКФ/H₂O, 7.ТКФ/cit/50%KCl, 8.ТКФ/cit, 9.ТКФ–HCO₃/50% KCl, 10.ТКФ–HCO₃.

Оценку резорбции материалов, подготовку из них вытяжек и исследование их воздействия на адгезию и пролиферативную активность клеток млекопитающих проводили в соответствии с ГОСТ Р ИСО. При этом для приготовления вытяжек и культивирования клеток была использована среда ДМЕМ/F12 с добавлением 5% эмбриональной телячьей сыворотки. В эксперименте использовали фибробласты линии NCTC L929 и клетки-предшественники костной ткани, выделенные из зачатка третьего моляра человека. Оценку жизнеспособности клеток NCTC L929 в присутствии вытяжек материалов проводили с использованием МТТ-теста. Оценку адгезивных характеристик материалов и их способности поддерживать пролиферативную активность клеток-предшественников костной ткани проводили путем исследования морфологии и жизнеспособности клеток на третьи сутки культивирования на поверхности исследуемых материалов с применением дифференцированного окрашивания флуоресцентными красителями.

Исследование показало отсутствие цитотоксического воздействия вытяжек всех материалов. Было выявлено, что темпы резорбции материалов снижаются в ряду №10, №6, №5, №3, №2, №4, №1, №7, №9, №8. На всех материалах, кроме №2 наблюдались слабое распластывание и низкая пролиферативная активность клеток. Таким образом, введение модифицирующих добавок не приводит к появлению в материале токсичных водорастворимых фаз, при этом макропористость, задаваемая введением 35% KCl, приводит к формированию химически связанной цементной смеси, обеспечивающей условия для адгезии и роста клеток-предшественников костной ткани.

ИЗМЕРЕНИЕ ПРОНИЦАЕМОСТИ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ПО КИСЛОРОДУ

The measurements of transmissivity RBC -membranes for oxygen

Новиков В.Э., Розенталь В.М

1- Московская Государственная академия Ветеринарной медицины и Биотехнологии им.К.И.Скрябина, кафедра биофизики и физики, 109273, Москва ул.акад.Скрябина, 23.

Тел.: +7(495)377-77-16; e-mail: laizzza@rambler.ru;

2 - Институт экологической Реабилитации, Клиника Коррекции Обменных Нарушений, 115093, Москва, Люсиновская ул., 53/12, стр. 2;

Тел.: +7 (499) 237-95-27; факс: +7(499)237-95-27; e-mail: info@diettest.ru

Одна из возможных, причин тканевой гипоксии при метаболическом синдроме -- нарушение кислородтранспортной функции эритроцитов. Разрабатывали пригодную для клинических исследований методику, позволяющую определять сродство гемоглобина к кислороду и константу проницаемости мембран эритроцитов по кислороду (КПМЭК).

В исследованиях использовали венозную кровь доноров. Измерения проводили на специально сконструированной установке, совмещающей функции фотометра и полярографа. Определение КПМЭК проводили по кинетике выхода кислорода из эритроцитов в среду инкубации. Эритроциты предварительно оксигенировали, а среду инкубации дезоксигенировали газовыми смесями. Для расчета использовали экспоненциальную модель:

$$[pO_2](t) = [pO_2]_{\infty} - \{[pO_2]_{\infty} - [pO_2]_0\} * e^{-Zt} \quad (1)$$

где: K = КПМЭК; Z – константа зависящая от концентрации клеток в суспензии, суммарной площади их поверхности, гематокрита и объема измерительной кюветы.

Сродство гемоглобина к кислороду определяли минимум в двух равновесных точках, используя модель Хилла: $Y = (pO_2)^n / [(pO_2)^n + (P_{50})^n]$, (2)

где Y- доля оксигенированного гемоглобина, n- коэффициент Хилла (степень кооперативности), P_{50} – парциальное давление кислорода при котором $Y=0,5$.

В результате проведенных исследований было установлено, что: 1) во всех случаях динамика pO_2 в среде соответствует динамике оптической плотности; 2) в ряде случаев, варьирование pCO_2 в газовых смесях меняло P_{50} , но не значения КПМЭК; 3) в ряде случаев значения КПМЭК от разных доноров совпадали при измерениях в физ.растворе («мытые» эритроциты), тогда как при измерениях в плазме значения КПМЭК существенно различались.

В результате исследования установлено: 1. В качестве среды инкубации следует использовать плазму крови, что исключает барботаж среды газовыми смесями (вспенивание). 2. Определение КПМЭК должно быть основана на использовании динамики спектра отражения эритроцитарного гемоглобина при оксигенации-дезоксигенации. 3. Исследуемый образец крови должен находиться в тонком слое в кювете с оптическим дном, под газовой подушкой строго заданного состава. 4. Конструкция должна обеспечивать простоту замены газовой смеси в измерительной кювете.

МЕХАНИЗМ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ СОЭ К ПИЩЕВЫМ ПРОДУКТАМ.

The mechanism of individual sensitivity the erythrocyte sedimentation rate for foodstuff

Новиков В.Э., Розенталь В.М

1- Московская Государственная академия Ветеринарной медицины и Биотехнологии им.К.И.Скрябина, кафедра биофизики и физики, 109273, Москва ул.акад.Скрябина, 23.

Тел.: +7(495)377-77-16; e-mail: laizzza@rambler.ru;

2 - Институт экологической Реабилитации, Клиника Коррекции Обменных Нарушений, 115093, Москва, Люсиновская ул., 53/12, стр. 2;

Тел.: +7 (499) 237-95-27; факс: +7(499)237-95-27; e-mail: info@diettest.ru

Реакция скорости оседания эритроцитов человека широко используется как тест-система в самых различных случаях. Применение СОЭ для определения индивидуальной чувствительности к пищевым продуктам известно достаточно давно («R-тест»)– кратковременная инкубация крови с экстрактами различных продуктов может резко увеличить СОЭ в случае, если данный продукт реактогенен (продукт «красного списка») для донора от которого получена кровь. Однако до настоящего времени нет четкого представления о механизме данного явления.

При разработке аналогичной тест-системы для домашних животных с целью индивидуального отбора кормов оказалось, что СОЭ собак, кошек, лабораторных крыс, кроликов, крупного рогатого скота, лошадей совершенно нечувствительна к предварительной инкубации с экстрактами соответствующих продуктов, как и чувствительность СОЭ к воспалению.

Данное обстоятельство свидетельствует об уникальности эритроцитарной системы человека и позволяет выдвинуть гипотетический механизм R-теста, опирающийся на то, что только у приматов рецептор иммуноадгезии CR-1 экспрессирован, в основном, на эритроцитах, а не на тромбоцитах. Благодаря, чему сорбционная способность эритроцитов у приматов обладает выраженной селективностью и ответственна за элиминацию иммунных комплексов и подобных им частиц. На поверхности эритроцита человека в норме находится до 700 рецепторов CR-1, один рецептор сорбирует до 4 частиц. Для адгезии каких-либо частиц на CR-1 необходима опсонизация частиц С3-фактором комплемента через активацию расщепления С3. Последнее возможно тремя путями, из них «лектиновый» и «альтернативный» не требуют участия системы антиген-антитело.

Продукты из «красного списка» при инкубации *in vitro* активируют комплемент по лектиновому или альтернативному пути, опсонизируются С3b-фрагментом и сорбируются на эритроцитах CR-рецепторами. Последнее снижает заряд эритроцита и увеличивает его массу, что и увеличивает СОЭ. Сенсibilизация комплемента к продукту произошла ранее *in vivo*. Прочие продукты не активируют комплемент и не будут активно и избирательно сорбироваться эритроцитами. Механизм сенсibilизации в пределах высказанной гипотезы не ясен.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕГИОНАЛЬНОЙ СКОРОСТИ ПУЛЬСОВОЙ ВОЛНЫ**Measurements of regional speed pulse wave****Новиков В.Э., Розенталь В.М**

- ¹- Московская Государственная академия Ветеринарной медицины и Биотехнологии им.К.И.Скрябина, кафедра биофизики и физики, 109273, Москва ул.акад.Скрябина, 23.
Тел.: +7(495)377-77-16; e-mail: laizzza@rambler.ru;
- ²- Институт экологической Реабилитации, Клиника Коррекции Обменных Нарушений, 115093, Москва, Люсиновская ул., 53/12, стр. 2;
Тел.: +7 (499) 237-95-27; факс: +7(499)237-95-27; e-mail: info@diettest.ru

При исследовании состояния магистральных сосудов в клинической практике часто встает задача определения региональной скорости пульсовой волны (СПВ), особенно при сравнении сосудов верхних и нижних конечностей.

При решении задачи определения региональной скорости пульсовой волны верхних и нижних конечностей у человека проводили сравнение «контурного метода» измерения скорости пульсовой волны и прямого метода. При определении СПВ контурным методом использовали стандартную систему «Глобус». Для определения прямым методом использовали оригинальную разработку, основными элементами, которой служили 3 акустических датчика: 1-встроенный в фонендоскоп и 2- в пневмомагистрале двух манжет сфигмоманометров. СПВ определяли по сдвигу фазы звуковой пульсовой волны.

Сравнение методов провели на группе более 60 человек.

В результате сравнения было установлено, что средние абсолютные значения СПВ полученные обоими методами совпадают у всех пациентов, с удовлетворительной точностью. С другой стороны, региональные значения, полученные методом контурного анализа, не позволяли различать СПВ верхних и нижних конечностей, и тем более, СПВ правой и левой конечностей. Использованный прямой метод, напротив, во всех случаях дал воспроизводимые результаты, показавшие у многих обследованных существенные различия региональных значений СПВ.

ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА СПЕРМАТОГЕНЕЗ САМЦОВ НЕЛИНЕЙНЫХ КРЫС**Новикова Я.С.¹, Чернов В.В.³, Турутина О.С.¹, Щербатюк Т.Г.²**

¹Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского,
603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23,
Тел. (+7 831) 462-30-01 Факс (+7 831) 462-30-85, novikova_jana@mail.ru

²Нижегородская государственная медицинская академия,
603126, г. Нижний Новгород, ул. Родионова, 190а, ozone_stg@mail.ru

³ Институт Прикладной Физики РАН, 603950, г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46

Социально-экономическая значимость деторождаемости обуславливает высокий интерес современной андрологии к проблеме снижения фертильности мужчин и к поиску новых методов стимуляции сперматогенеза.

Целью работы явилось изучение влияния НИЛИ на сперматогенез интактных самцов белых крыс.

Эксперименты выполнены на 20 беспородных половозрелых белых крысах самцах с массой тела 220 ± 15 г., которые содержались в стационарных условиях вивария. Было выделено 3 группы животных: «интактные» – животные, которые не подвергались воздействию; «контрольные» – животные, которые облучались источником видимого света; «НИЛИ» – животные, которые облучались источником НИЛИ. На протяжении 10 суток облучали семенники животных в течение 1 минуты. Расстояние между источником излучения и органом – 1 см. В работе использовался светодиодный источник излучения со следующими параметрами: длина волны 460-475 нм, световой поток 20 лм, номинальный ток потребления 350 мА.

В день отмены воздействия осуществляли исследование половых клеток в камере Горяева [1] и косвенно оценивали начальные этапы радикалообразования методом индуцированной хемилюминесценции [2]. Повторили морфо-функциональное и биохимическое исследования через 7 суток после отмены воздействия.

Установили:

1. НИЛИ, генерируемое светодиодным источником излучения со следующими параметрами: длина волны 460-475 нм, световой поток 20 лм, номинальный ток потребления 350 мА, вызывает увеличение количества и подвижности половых клеток и интенсифицирует свободно-радикальную и антиоксидантную активность эякулята.

2. Через неделю после отмены воздействия сперматогенез-стимулирующий эффект НИЛИ сохраняется, а также нормализуется про-антиоксидантный баланс организма.

1. Артифексов С.Б. Морфо-функциональное исследование половых клеток самцов белых крыс при гипотермии: Автореф. дис. на соиск. ст. канд. мед. наук. Челябинск. 1981. 26 с.

2. Кузьмина Е.И., Нелюбин А.С., Щенникова М.К. Применение индуцированной хемилюминесценции для оценки свободнорадикальных реакций в биологических субстратах // В кн.: Межвузовский сборник биохимии и биофизики микроорганизмов. Горький, 1983. С. 179–183.

**ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЛИПИДНОГО СОСТАВА ПРОРОСТКОВ И ЛИСТЬЕВ
ВЗРОСЛЫХ РАСТЕНИЙ РЕДИСА ПОД ДЕЙСТВИЕМ СЛАБОГО ПОСТОЯННОГО
МАГНИТНОГО ПОЛЯ**

**Change in the lipid content in the seedlings and leaves of radish adult plants under the
effect of a weak permanent magnetic field.**

Новицкая Г.В., Молоканов Д.Р., Добровольский М.В., Новицкий Ю.И.

Институт физиологии растений им.К.А.Тимирязева РАН,
127276, Москва, ул.Ботаническая, 35
Тел.: (495) 977-83-33 E-mail yinov@ippras.ru

Изучали влияние слабого горизонтального постоянного магнитного поля (ПМП) напряженностью 400- А/м на состав и содержание липидов в 5- дневных проростках и листьях взрослых растений магнитоориентационных типов (МОТ) редиса (*Raphanus sativus* L. var *radicula* D.C.)сорта **Розово - красный с белым кончиком северо-южного (СЮ) и западно – восточного (ЗВ)**, у которых плоскости ориентации корневых борозд на корнеплоде расположены вдоль и поперек магнитного меридиана.

5-дневные проростки и 39-дневные растения выращивали в оранжерее ИФР на естественном свете. Для анализов использовали 4-ый лист. Отбор растений СЮ и ЗВ МОТ производили с помощью секторной рамки, ориентированной относительно стрелки компаса. Слабое ПМП создавали с помощью колец Гельмгольца, питаемых постоянным током. Контрольные растения выращивали также в кольцах Гельмгольца, но ток через них не пропускали, напряженность поля в контроле (ГМП) составляла 31 А/м и вектор ее направлен под углом 73° к горизонту.

Содержание липидов – полярных (ПЛ) и нейтральных (НЛ) определяли с помощью метода ТСХ. 90% липидов проростков в контроле составляли НЛ, 80% из которых - триацилглицерины (ТАГ), 6 - 9% приходилось на долю эфиров стеринов (ЭС) и 2-5% на долю свободных стеринов (СС). На долю ПЛ приходилось 10% от общего содержания липидов (ОСЛ). Среди ПЛ обнаружены гликолипиды - (ГЛ) - 4,4% и фосфолипиды (ФЛ) – 6%.Среди гликолипидов проростков идентифицированы моногалактозилдиацилглицерины – МГДГ, дигалактозилдиацилглицерины - ДГДГ, сульфоиновозилдиацилглицерины – СХДГ. ФЛ были представлены фосфатидилхолинами (ФХ), фосфатидилэтаноламинами (ФЭ), фосфатидилглицеринами (ФГ), фосфатидилинозитами (ФИ), дифосфатидилглицеринами (ДФГ), а также фосфатидилсеринами (ФС) и фосфатидной кислотой (ФК).Под влиянием слабого ПМП в проростках редиса уменьшилось ОСЛ, в том числе НЛ по сравнению с контролем. Содержание ПЛ увеличилось, а количество ФЛ и СТ уменьшилось,а их отношение ФЛ/СТ – показатель жидкости липидного бислоя мембран - под действием ПМП увеличилось. В листьях растений редиса ПЛ и НЛ представлены теми же классами, что и липиды 5-дневных проростков. Под влиянием ПМП ОСЛ, содержание НЛ и ПЛ в листьях СЮ МОТ уменьшилось, а ЗВ МОТ увеличилось. Содержание ФЛ у СЮ МОТ увеличилось, у ЗВ МОТ не изменилось. Отношение ФЛ/СТ у СЮ МОТ увеличилось, а у ЗВ МОТ уменьшилось.

У ЗВ и СЮ МОТ, наибольшим изменениям под действием ПМП подвергались среди гликолипидов – МГДГ, а среди фосфолипидов – ФХ и ФГ. В целом под влиянием ПМП состав и содержание липидов в листьях взрослых растений СЮ и ЗВ МОТ изменялось неодинаково, часто противоположно, что, по-видимому, вызвано их различной чувствительностью к действию поля, связанной с особенностями их физиологического статуса.

**МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ПЕРОКСИРЕДОКСИНЫ КАК ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ
МОЩНОГО АНТИОКСИДАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ.**

Новоселов В.И., Равин В.К, Шарпов М.Г., Мубаракшина Э.К., Фесенко Е.Е.

Институт биофизики клетки РАН, г.Пушино

Широкий спектр тяжелых заболеваний, в патогенезе которых важную роль играют окислительный стресс, заставляют искать пути эффективной нейтрализации повышенного уровня активных форм кислорода, так как в подавляющем числе случаев ситуацию можно существенно скорректировать, используя антиоксидантные препараты. Одним из перспективных направлений может быть использование ферментов-антиоксидантов в качестве основы для лекарственных препаратов антиоксидантного действия. Эффективность этих ферментов на несколько порядков выше, антиоксидантная активность широко используемых низкомолекулярных соединений. Недавно был открыт новый класс белков-антиоксидантов – пероксиредоксины. Наиболее важными антиоксидантными свойствами пероксиредоксинов является его способность нейтрализовать как неорганические, так и органические гидропероксиды.

Для увеличения эффективности действия лекарственного препарата на основе пероксиредоксинов исключительно перспективным является получение химерных пероксиредоксинов, которые были бы способны нейтрализовать как супероксиддиквал, так и неорганические и органические гидропероксиды. В качестве второго компонента химерного белка-антиоксиданта в этом случае может выступать супероксиддисмутаза (СОД). Для получения такого химерного белка наиболее эффективным является создание генетической конструкции, кодирующей оба белка (а не химическая сшивка ферментов), и получение на основе этой конструкции рекомбинантных химерных белков. К настоящему времени нами получена панель белков - *пероксиредоксин-СОД* - с разным расположением пептидов в структуре химерного белка, причем такие химерные белки полностью сохраняли как пероксидазную, так и супероксиддисмутазную активности. Для проверки эффективности полученных химерных белков по нейтрализации оксидативного стресса были проведены эксперименты на изолированном сердце при его реперфузии белком *пероксиредоксин-СОД*. Было показано, что физиологическое состояние изолированного сердца после реперфузии нормализуется: частота сердцебиения уменьшается, размах амплитуды систола-диастола увеличивается. При этом существенно изменяет антиоксидантный статус в тканях сердца: а) Окислительный стресс в тканях сердца, вызванный экзогенной перекисью водорода, резко уменьшается, что было показано уменьшением содержания малонового альдегида, б) В то время как экзогенная перекись водорода вызывала резкое увеличение пульса изолированного сердца, предварительная реперфузия химерными белками - *пероксиредоксин-СОД* - с последующей отмывкой несорбированных в сердце химерных белков нормализовала пульс сердечной мышцы даже при аппликации экзогенной перекиси водорода. При реперфузии изолированного сердца более эффективно сорбция химерного белка происходит в пердсердии и быстрый эффект нормализации пульса при окислительном стрессе при использовании химерного белка *пероксиредоксин-СОД*, по-видимому, связан с защитой нервных окончаний, локализованных в предсердии.

РОЛЬ СИГНАЛЬНЫХ КАСКАДОВ В ОТВЕТЕ КЛЕТОК НА ДЕЙСТВИЕ *IN VIVO* И *IN VITRO* СВЕРХСЛАБЫХ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ВОЛН САНТИМЕТРОВОГО ДИАПАЗОНА**The role of signal cascades in the cell response to *in vivo* and *in vitro* effects of extremely low-level centimetric waves****Новоселова Е.Г., Глушкова О.В., Хренов М.О., Парфенюк С.Б., Новоселова Т.В., Лунин С.М., Фесенко Е.Е.**Институт биофизики клетки РАН, 142290 Пущино Московской области, ул. Институтская 3
Тел. (4967)739399, Факс (4967)330509, e-mail: elenanov_06@mail.ru

Несмотря на наличие широкого спектра биологических эффектов низкоинтенсивных электромагнитных излучений на различных уровнях организации живой материи, вопрос о механизме их действия остается открытым. Исследования, проведенные в нашей лаборатории, указывают на стрессовый характер ответа клетки и организма на низкоинтенсивные электромагнитные излучения. Основанием для такого предположения послужила обнаруженная нами стимуляция продукции белка теплового шока **Hsp72** и **цитокинов** в клетках иммунной системы мышей при действии ЭМИ СВЧ. Для дальнейшего развития представлений о механизмах воздействия низкоинтенсивных излучений на клетки животных было исследовано влияние ЭМИ СВЧ (8-18 ГГц, частотная модуляция 1 Гц, интенсивность менее 1 мкВт/см²) на активность сигнальных каскадов **NF-κB**, **SAPK/JNK** и **TLR4**, обеспечивающих активацию генов, участвующих в формировании клеточного ответа. С использованием нескольких моделей (мыши, изолированные лимфоциты мышей, макрофаги линии RAW 264.7) в условиях *in vivo* и *in vitro* была показана активация сигнальных каскадов **NF-κB** и **SAPK/JNK**. Для выяснения роли каждого из сигнальных путей в ответе клетки на воздействие сантиметровых волн был использован ингибиторный анализ. К клеткам RAW 264.7 перед их облучением добавляли один из трех ингибиторов: **CLI-095**, **IKK Inhibitor XII** и **SP600125** (ингибиторы **TLR4**, **NF-κB**, и **SAPK/JNK каскадов, соответственно**). **Результаты показали, что роль этих каскадов в ответе клетки на электромагнитное излучение неравнозначна. Применение ингибиторов NF-κB и SAPK/JNK показало, что блокирование активности классических сигнальных путей снижает чувствительность макрофагальных клеток к действию ЭМИ СВЧ. При этом сантиметровые волны вызывали активацию альтернативного пути NF-κB-сигнализации, инициация которого не требует участия IKK, а деградация IκB и активация NF-κB происходит при участии, например, казеин-киназы II или JNK. Возможно, что в этом случае не требуется даже деградации IκB для транслокации транскрипционного фактора NF-κB в ядро. Несмотря на способность микроволн увеличивать экспрессию TLR4 в клетке, этот рецептор не является определяющим в реализации эффектов облучения. Так, ингибирование активности этого рецепторного белка с помощью CLI-095 не вызывало изменения направленности и интенсивности эффектов сантиметровых волн. Очевидно, обнаруженное нами увеличение экспрессии TLR4 в облученных клетках является маркером активации защитных систем клетки в результате стресса, вызванного действием низкоинтенсивных микроволн.**

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проекты № 10-04-00351-а и № 11-04-00023-а и № 12-04-00113; гранта Президента РФ по поддержке ведущих научных школ № НШ-1853.2012.4.

ВЛИЯНИЕ СЛАБЫХ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ИЗЛУЧЕНИЙ МИЛЛИМЕТРОВОГО И СУБМИЛЛИМЕТРОВОГО ДИАПАЗОНА НА ПРОЦЕССЫ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ**Нуруллин Р.Г., Нуруллин А.Г.**

Г.Казань, тел. 41-16-38 (код 8432).

Московская обл., г.Серпухов, тел./факс 75-97-47, тел. 35-39-54 (код 0967).

Начиная с 1965 года, исследователи изучают воздействие электромагнитных излучений миллиметрового диапазона малой мощности на материалы, растения и организмы, а в последнее время - на геномы и нуклеиновые кислоты. Например, наблюдается острорезонансный характер биологического эффекта при воздействии электромагнитных излучений миллиметрового диапазона на определенных частотах на объектах живой природы.

Для естествоиспытателей полной неожиданностью явилось открытие реликтового излучения. Это открытие позволило прояснить ряд параметров модели Вселенной. В характеристиках реликтового излучения особое внимание привлекает то, что его наибольшая интенсивность в настоящее время наблюдается в области электромагнитных излучений миллиметрового и субмиллиметрового диапазонов (0,1 мм 10 мм).

Естественно, следует предположить, что реликтовое излучение, являясь природным источником электромагнитных излучений в миллиметровом и субмиллиметровом диапазонах, оказывало и продолжает оказывать влияние на эволюцию природы и техники.

В данных теоретических исследованиях обосновываются особые свойства среды, способной передавать (поглощать - испускать) виртуальные кванты энергии при обменном взаимодействии в различных квантовых системах. Расчеты показывают, что излучение должно происходить в области электромагнитных излучений миллиметрового и субмиллиметрового диапазонов. Эти излучения при суперпозиции образуют голограмму.

Фотоны реликтового излучения повлияли на направление протекания химических реакций, энергетически поддерживая определенные реакции из большого числа вариантов равновероятных реакций. Эволюция реликтового излучения (смещение частоты излучения в связи с расширением Вселенной) влияло и продолжает влиять на эволюцию природы, техники, жизни на Земле.

Данные исследования позволяют обобщить множество накопленных экспериментальных данных в области техники, технологии получения ультрадисперсных структур (нанотехнологии), медицины, биологии, биофизики, биохимии и т.д., связанных с использованием ЭМИМСД, сверх- и крайневысокочастотных излучений; объяснить наблюдаемые биологические эффекты и дает возможность определить физические параметры для проведения целенаправленных экспериментов фундаментального характера во многих отраслях науки и техники и разработать обоснованные нормативы для безопасности жизнедеятельности.

**ПЕРОКСИДАЗНАЯ ФЕРМЕНТНАЯ СИСТЕМА В РАЗВИТИИ АДАПТИВНОЙ РЕАКЦИИ
ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ НА СТРЕССИРУЮЩИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ****The peroxidase enzymatic system in the development of adaptive reaction of wheat
seedlings to the action of stressors.****Олюнина Л. Н.¹, Французова В. П.², Томилин М. В.³**

¹ – ФГБОУ ВПО Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского,
603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, д. 23;

² – ГБОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия
Минздравсоцразвития России, 603081, Н.Новгород, пр. Гагарина, д.70;

³ – ФБУН Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и
микробиологии имени академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора,
603950, Нижний Новгород, ул. Грузинская, д. 44

Тел.: +7(831)465-41-01; факс: +7(831)439-09-43; e-mail: vpfrantsuzova@rambler.ru

Высокая эффективность функционирования организма в условиях постоянно меняющихся факторов внешней среды определяется заложенной в нем системой обеспечения надежности, в частности, надежностью системы регуляции ферментативной активности. В нашей работе исследована динамика ответа пероксидазной ферментной системы (ПО) при изменении светового и температурного режимов у 5-6-дневных этиолированных и зеленых проростков пшеницы. Предполагается, что данной системе принадлежит особая роль в регуляции окислительно-восстановительного статуса и увеличении адаптационных возможностей растений в условиях развития стресс-реакции. Последнее связано с полифункциональностью ПО растений, обусловленной различиями в физико-химических свойствах изоформ, участием в утилизации (антиоксидантная функция ПО) и генерации (прооксидантная функция) АФК.

Повышение температуры (тепловой шок 42 °С, ТШ) индуцировало быстрые изменения в активности ПО, при этом первичное увеличение оксидазной активности (субстрат 1,2-дигидроксибензол) было кратковременным как в побегах зеленых, так и этиолированных проростков пшеницы. В побегах зеленых проростков обнаружено изменение соотношения про/антиоксидантная активность в пользу антиоксидантной активности (субстрат 4,4'-диаминодифенил); в побегах этиолированных проростков сохранялся сдвиг в сторону оксидазной активности фермента. Полученные результаты позволяют сделать вывод о большей устойчивости зеленых проростков пшеницы к ТШ. Данный вывод удалось подтвердить, используя кондуктометрический метод оценки устойчивости растений по выходу электролитов.

Показано, что модификации в ПО ферментной системе происходят за счет перераспределения в ионсвязанной/растворимой фракциях фермента, а также сопряжены с изменениями активности отдельных изоформ ПО. К числу наиболее значимых следует отнести увеличение активности изоформ с электрофоретической подвижностью (Rf) 0.08, 0.16, 0.63 в ионсвязанной фракции и ингибирование изоформ с Rf 0.03, 0.16, 0.24, 0.67 в растворимой фракции.

Кратковременное воздействие света (15-мин.) в этиолированных проростках пшеницы индуцировало сходную с ТШ реакцию преимущественного нарастания прооксидантной активности, что, по-видимому, является общим неспецифическим ответом ПО ферментной системы на действие стрессоров. Данные о динамике смены отношений в про/антиоксидантной функции ПО могут быть полезны в индикации устойчивости растений и, соответственно, отнесены к числу диагностических тестов.

ДИНАМИКА УРОВНЯ ОКСИГЕНАЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОПУХОЛИ ПОСЛЕ ЛУЧЕВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ, ОПРЕДЕЛЕННАЯ МЕТОДОМ ОПТИЧЕСКОЙ ДИФFUЗИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ**Dynamics of experimental tumor oxygenation level after irradiation estimated by diffuse optical spectroscopy****Орлова А.Г.¹, Масленникова А.В.^{1,2,3}, Пряникова Т.И.^{1,2}, Голубятников Г.Ю.¹, Смирнова Т.И.², Снопина Л.Б.³, Иванова И.П.³, Шахова Н.М.^{1,3}, Каменский В.А.¹, Турчин И.В.¹**¹ – ИПФ РАН, 603155, г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, д. 46;² – Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 603022, г. Нижний Новгород, пр-т Гагарина, д. 23;³ – ГБОУ ВПО НижГМА Минздравсоцразвития России, 603005, г. Нижний Новгород, пл. Минина, д.1/10Тел.: +7(831)416-48-04; факс: +7(831)436-37-92; e-mail: orlova@ufp.appl.sci-nnov.ru

Изменения уровня оксигенации опухоли могут играть важную роль при создании альтернативных режимов лучевой терапии, учитывающих феномен реоксигенации новообразования [1]. Целью нашей работы был мониторинг уровня оксигенации экспериментальной опухоли после однократного облучения. В качестве метода контроля кислородного статуса была предложена оптическая диффузионная спектроскопия (ОДС), позволяющая изучить пространственное распределение концентраций окисленного (HbO₂) и восстановленного (Hb) гемоглобина и оценить уровень насыщения крови кислородом (StO₂). В работе использовалась экспериментальная опухоль лимфосаркома Плисса. ОДС проводилась на установке, разработанной в ИПФ РАН [2]. Опухоли облучали однократно в дозе 10 Гр (Co⁶⁰, 1.25 МэВ) на 7-й день после перевивки. ОДС-исследование проводили перед лучевым воздействием, и затем каждые 24 ч в течение 4-х суток после него. В эти же сроки осуществляли сканирование в контрольной группе (необлученные животные). Для верификации ОДС-данных использовалось измерение рO₂ в тканях. Коэффициент корреляции Спирмена для значений рO₂ и StO₂ составил 0.88, p=0.002. С целью изучения состояния паренхимы и сосудистого русла опухоли выполнялось гистологическое исследование опухолевых тканей. В контрольной группе животных не было выявлено статистически значимых изменений уровня StO₂ независимо от срока наблюдения. После лучевого воздействия в опухоли наблюдалось двухфазное изменение уровня StO₂. В течение первых 24 ч происходило статистически значимое снижение оксигенации (p=0.02) главным образом, за счет увеличения концентрации Hb, что может свидетельствовать как о повышении потребления кислорода, так и нарушении оттока крови. Гистологическое исследование продемонстрировало дистрофические и некробиотические изменения сохранившихся опухолевых клеток, спазм артериол, замедление кровотока и стаз крови в сосудах, что свидетельствовало в пользу предположения о нарушении оттока крови в эти сроки. Через 48 ч отмечалось повышение уровня оксигенации (p=0.06) с дальнейшим постепенным его снижением до исходных значений к 96 ч после облучения. Данная фаза реакции была связана с повышением концентрации HbO₂, то есть с повышением доставки кислорода в ткани, а также небольшим увеличением содержания общего гемоглобина, характеризующего их кровенаполнение, подтвержденным при гистологическом исследовании.

1. Vaupel P. / The Oncologist, 2008. V. 13, 21-26.

2. Maslennikova A.V., Orlova A.G., et al. / J Biophoton, 2010. V. 3(12), 743-751.

**РОЛЬ АНИОННЫХ ФОСФОЛИПИДОВ И ЦИТОХРОМА С
В РЕГУЛЯЦИИ АПОПТОТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В КЛЕТКАХ****The role of anionic phospholipids and cytochrome c in the apoptotic reaction
control in cells****Осипов А.Н., Степанов Г.О., Владимиров Ю.А.**

Российский государственный медицинский университет имени Н.И. Пирогова.
ул. Островитянова 1, 117997 Москва, Россия.

Тел./Факс +7(495)434-1174. e-mail: anosipov@yahoo.com

В докладе рассматривается роль анионных фосфолипидов (фосфатидилсерина, кардиолипина и фосфатидной кислоты) в активации пероксидазной активности цитохрома с и их участия в процессах запрограммированной клеточной гибели. Известно, что взаимодействие цитохрома с с анионными фосфолипидами приводит к перестройке его активного центра и превращению цитохрома с из переносчика электронов в митохондриальной электрон-транспортной цепи в пероксидазу. В результате перестройки активного центра происходит разрыв связи железа гема с Met80 и т.о. появление вакантной шестой координационной связи. Это явление знаменует собой одну из начальных стадий развития апоптоза в клетке. Различные анионные фосфолипиды могут активировать пероксидазную активность цитохрома с в разной степени, в зависимости от величины заряда и степени насыщенности жирнокислотных остатков. Ингибитором пероксидазной активности модифицированного цитохрома с и, в конечном итоге, регулятором апоптотических процессов может служить оксид азота, который образует прочные нитрозильные комплексы с гемом цитохрома с. Механизмы образования и распада таких комплексов могут влиять на скорость и направление апоптотических реакций. Обсуждаются молекулярные механизмы превращений цитохрома с и его роль в развитии апоптотических процессов.

1. Владимиров Ю.А., Проскурнина Е.В., Дёмин Е.М., Матвеева Н.С., Любичкий О.Б., Новиков А.А., Измайлов Д.Ю., Осипов А.Н., Тихонов В.П., Каган В.Е. / Биохимия, 2009, 74, 301.
2. Осипов А.Н., Борисенко Г.Г., Владимиров Ю.А. / Биохимия, 2007, 72, 1491.
3. Tyurin V.A., Tyurina Y.Y., Osipov A.N., Belikova N.A., Basova L.V., Kapralov A.A., Bayir H., Kagan V.E. / Cell Death Differ., 2007, 14, 872.
4. Осипов А.Н., Степанов Г.О., Владимиров Ю.А., Козлов А.В., Каган В.Е. / Биохимия, 2006, 71, 1128.
5. Владимиров Ю.А., Проскурнина Е.В., Измайлов Д.Ю., Новиков А.А., Брусничкин А.В., Осипов А.Н., Каган В.Е. / Биохимия, 2006, 71, 998.
6. Belikova N.A., Vladimirov Y.A., Osipov A.N., Kapralov A.A., Tyurin V.A., Potapovich M.V., Basova L.V., Peterson J., Kurnikov I.V., Kagan V.E. / Biochemistry, 2006, 45, 4998.
7. Vlasova I.I., Tyurin V.A., Kapralov A.A., Kurnikov I.V., Osipov A.N., Potapovich M.V., Stoyanovsky D.A., Kagan V.E. / J Biol Chem., 2006, 281, 14554.
8. Kagan V.E., Tyurin V.A., Jiang J., Tyurina Y.Y., Ritov V.B., Amoscato A.A., Osipov A.N., Belikova N.A., Kapralov A.A., Kini V., Vlasova I.I., Zhao Q., Zou M., Di P., Svistunenko D.A., Kurnikov I.V., Borisenko G.G. / Nat Chem Biol., 2005, 1, 223.

СВЯЗЫВАНИЕ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ С ПОВЕРХНОСТЬЮ ЛИПОПРОТЕИНОВ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ – РЕШАЮЩИЙ ФАКТОР В ИХ ПРОАТЕРОГЕННОЙ МОДИФИКАЦИИ**Binding of myeloperoxidase to the low density lipoprotein surface is a major factor in proatherogenic lipoprotein modification****Панасенко О.М.¹, Соколов А.В.^{1,2}, Костевич В.А.^{1,2}, Васильев В.Б.²**¹ – ФГБУН «НИИ физико-химической медицины» ФМБА России, 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, 1а;² – ФГБУН «НИИ экспериментальной медицины» СЗО РАМН, 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12.

Тел., факс: +7(499)246-44-90; e-mail: oleg-panasenko@newmail.ru

Модифицированные липопротеины низкой плотности (ЛНП) крови человека играют ключевую роль в накоплении холестерина в клетках сосудистой стенки и развитии атеросклероза. На роль модификатора ЛНП *in vivo* может претендовать фермент миелопероксидаза (МПО), который обнаружен в активном состоянии в атеросклеротической бляшке. Этот фермент катализирует образование НОС/НОВг, которые являются сильными окислителями и способны модифицировать все биологически важные молекулы, входящие в состав ЛНП: белки, липиды, углеводы, антиоксиданты и др. При этом ЛНП трансформируются в проатерогенную форму и захватываются субэндотелиальными клетками, превращая их в пенистые клетки – характерный признак атеросклероза. Ранее мы показали, что МПО, будучи катионным белком ($pI > 10$), связывается с отрицательно заряженной поверхностью ЛНП, образуя комплекс МПО-ЛНП, что, согласно нашей гипотезе, должно способствовать проатерогенной модификации ЛНП. Если связывание МПО с поверхностью ЛНП является обязательным для их проатерогенной модификации, то возникает возможность предотвращения или коррекции этих событий путем разобщения комплекса МПО-ЛНП.

Цель работы: выяснить, насколько для проатерогенной модификации ЛНП, приводящей к внутриклеточному накоплению холестерина, важно связывание с их поверхностью МПО, секретируемой активированными лейкоцитами в очагах воспаления. На клеточной модели моноцитов-макрофагов человека исследовали, отличаются ли по атерогенности (способности накапливать внутриклеточный холестерин) ЛНП, модифицированные в условиях образования комплекса МПО-ЛНП и его разобщения, а также в отсутствие МПО, но под действием реагентов НОС/НОВг, образующихся при МПО-катализе. Модификация ЛНП функционирующей МПО приводила к их более значительной проатерогенной модификации, по сравнению с ЛНП, обработанными экзогенными НОС/НОВг. МПО исчезала из среды однонаправлено с накоплением холестерина и его эфиров в клетках, свидетельствуя о том, что ЛНП поглощаются клетками в комплексе с МПО. Использование пептида, разобщающего взаимодействие МПО с ЛНП, а также ингибитора МПО церулоплазмина или SCN^- , конкурирующего с Cl^-/Br^- за МПО, значительно снижало степень проатерогенной модификации ЛНП.

Вывод: связывание МПО с поверхностью ЛНП является необходимым звеном в их проатерогенной модификации, что открывает перспективные возможности для разработки принципиально новых подходов к профилактике и коррекции атеросклероза.

Работа поддержана РФФИ (11-04-01262 и 12-04-90003).

**БИОФИЗИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА СРЕДЫ
ПО СОСТОЯНИЮ РАЗЛИЧНЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ИНДИКАТОРОВ
(МХА ANTHOCEROS И КРЕСС-САЛАТА LEPIDIUM SATIVUM)**

**Biophysical parameters of environment quality estimation on various plant indicators
(moss Anthoceros and garden cress Lepidium sativum)**

Пикуленко М.М.¹, Гордова А.Ф.², Булычев А.А.³.

¹ – Музей Землеведения МГУ имени М.В.Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1;

² – ГОУ ВПО «Московский городской педагогический университет»,
129226, 2-й Сельскохозяйственный пр.д.4;

³ – Биологический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова,
119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12.

Тел: +7 (495)939-30-11; факс: +7(495)939-14-15; e-mail: pikulenkomarina@mail.ru

Развитие жизни на Земле, изменения физико-химических параметров среды отражаются на состоянии живых организмов, на протекании физиологических процессов. Показатели эффективности фотосинтеза, основанные на измерении параметров флуоресценции растений, предлагаются многими авторами (Рубин А.Б., Маторин Д.Н., Погосян С.И., Левич А.П., Смулов А.В) как индикаторы качества среды в самых различных биотопах. Биофизические методы позволяют осуществлять наблюдение за динамикой токсичности среды по изменениям наиболее чувствительных физиологических параметров клеток, систем энергообеспечения. Анализ характеристик флуоресценции хлорофилла дает возможность получать информацию экспрессно, в режиме реального времени на начальных стадиях изменений биофизических процессов. Параметры флуоресценции растений характеризуют эффективность первичного разделения зарядов в фотосистеме II (ФСII), скорость нециклического потока электронов, а также уровень “энергетического тушения” флуоресценции, связанного с величиной трансмембранного градиента pH на тилакоидных мембранах хлоропластов. Наряду с трансмембранным градиентом pH, к числу основных энергетических характеристик относится трансмембранный электрический потенциал тилакоидов. Использование чувствительных флуориметрических приборов, рассчитанных на сбор света с поверхности площадью от ~10 до ~0.001 мм² (PEA, Hansatech, Англия), анализатора фотосинтетической эффективности, рассчитанного на анализ индукционных кривых флуоресценции с временным разрешением ~10 мкс и специализированного микрофлуориметра Microscopy-PAM (Walz, EffeTrich, Германия), использующего метод насыщающих импульсов, позволяет измерить такие параметры, как квантовый выход первичного разделения зарядов в фотосистеме II ($\Delta F/F_m'$), коэффициенты фотохимического и нефотохимического тушения, отражающие окислительно-восстановительное состояние первичного акцептора ФСII и энергозависимое тушение флуоресценции. Для оценки влияния окружающей среды в качестве тест-объектов использовали антоцеротовый мох *Anthoceros* и 10-дневные проростки кресс-салата *Lepidium sativum*. Комплексная оценка воздействия неблагоприятных условий по параметрам фотосинтетической активности мха *Anthoceros* перспективна несмотря на сложные регуляторные связи между фотосинтезом и мембранными процессами. Получены данные, что засоление сказывается на чувствительности проростков кресс-салата к загрязнению нефтепродуктами.

ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО КРАСНОГО СВЕТА НА ДРОЖЖИ ПРИ ДЕЙСТВИИ UVA - ИЗЛУЧЕНИЯ И ВИДИМОГО СВЕТА**Protective effect of low-intensity of red light on the yeast in action UVA - radiation and visible light****Пиняскина Е.В.**

Прикаспийский институт биологических ресурсов Дагестанского научного центра РАН,
367025, г. Махачкала, ул. М.Гаджиева, 45

Тел/факс:+7(8722) 67-58-81 E-mail: pibrdncran@mail.ru

Возникновение при воздействии УФ-излучения молекулярных повреждений ДНК, не устранимых (или устранимых не полностью) репаративными системами клетки, а также фотодеструкция белков и биомембран обуславливают развитие довольно многочисленных биологических эффектов.

Ранее нами было показано наличие у дрожжей неизвестного ранее фотоиндуцированного защитного механизма, обеспечивающего защиту клеток от СУФ-излучения. Используя ранее найденные режимы облучения, мы выявили эффект фотовосстановления ДУФ-инактивированных клеток. Установлено, что повышение уровня выживаемости таких клеток наблюдается при воздействии света всех использованных ранее длин волн в диапазоне 600-730 нм, причем максимальный эффект фотореактивации проявлялся при облучении клеток красным светом 680 нм. Также было показано, что на эффективность фотореактивации (FR_{680}) (как и при FR_{680} в случае действия СУФ-излучения) не влияет понижение температуры до 4°C во время облучения монохроматическим светом.

Видимо, в фотовосстановлении клеток при летальном действии ДУФ-излучения участвует та же фотозащитная система, что и при действии СУФ-излучения. Это свидетельствует о том, что данная система направлена на устранение не только пиримидиновых димеров (как ферментативная фотореактивация), но и других фотоповреждений, образующихся в ДНК, в том числе путем фотосенсибилизации (например, одноцепочечные разрывы). Наши исследования показали, что фотореактивация мутантных штаммов *S.cerevisiae* (дефицитных по эксцизионной (*rad 3-2*) и пострепликативной (*rad 50-1*) репарации ДНК) наблюдается, причем ее эффективность примерно такая же, как и у дикого штамма. Эти данные могут указывать на то, что устранение СУФ-, ДУФ-индуцированных повреждений ДНК в процессе FR_{680} осуществляется без участия эксцизионной и пострепликативной репарации. Видимо, действие фотоиндуцированной защитной системы включает какой-то другой механизм ликвидации таких повреждений.

До последнего времени считалось, что повреждения плазматической мембраны при фотодинамической инактивации дрожжевых клеток большими дозами видимого света (400-600 нм) нефотореактивируемы и связаны, очевидно, с деструкцией мембранных компонентов (фотолизом мембранных белков и липидов). Проведенные эксперименты с использованием оптимальных при FR_{680} режимов облучения показали, что инактивированные видимым светом клетки можно восстановить при воздействии на них монохроматическим светом в области 400-730 нм с максимальной эффективностью реактивации при 680 нм.

**ИССЛЕДОВАНИЕ КИСЛОРОДНОГО СТАТУСА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОПУХОЛИ
МЕТОДОМ ОПТИЧЕСКОЙ ДИФфуЗИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ
ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПЕНТОКСИФИЛЛИНА**

**The study of oxygen state of experimental tumor using Diffuse Optical Spectroscopy
under the action of pentoxifylline**

**Плеханова А.С.¹, Пряникова Т.И.^{1,2}, Смирнова Т.В.¹, Орлова А.Г.², Масленникова
А.В.^{1,2,3}, Голубятников Г.Ю.², Иванова И.П.³, Каменский В.А.², Турчин И.В.²**

¹ – Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
603022, г. Нижний Новгород, пр-т Гагарина, 23;

² – ИПФ РАН, 603155, г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46;

³ – ГБОУ ВПО НижГМА Минздравсоцразвития России,
603005, г. Нижний Новгород, пл. Минина, д.1/10

Тел.: +7(831)465-61-06; e-mail: nito22@yandex.ru

Гипоксия опухоли является фактором неблагоприятного прогноза и источником устойчивости к терапевтическим воздействиям [1]. С целью преодоления резистентности опухолей к лечению в настоящее время ведется разработка новых подходов для направленного повышения уровня их оксигенации [2]. Параллельно развиваются методы, позволяющие неинвазивно определять кислородный статус новообразований. В данной работе для оценки этого показателя был предложен метод оптической диффузионной спектроскопии (ОДС). Он позволяет определять концентрации окисленного и восстановленного гемоглобина, по которым рассчитывается уровень насыщения крови кислородом (StO_2), параметр, отражающий уровень оксигенации ткани. Цель работы заключалась в оценке кислородного статуса экспериментальной опухоли методом ОДС при кислород-модифицирующем воздействии с использованием пентоксифиллина. Объектом исследования служила опухолевой модели лимфосаркомы Плисса. В работе применялась ОДС-установка, разработанная в ИПФ РАН (Нижний Новгород) [3]. В качестве агента, оказывающего влияние на уровень оксигенации опухоли, был использован пентоксифиллин (Ptx), **улучшающий микроциркуляторную перфузию** [4]. ОДС-исследование начинали на 5-7-й день после перевивки опухоли непосредственно перед однократным введением Ptx (10 мг/кг), и повторяли каждые 15-30 мин в течение 4 часов.

Через 15 минут после введения Ptx было выявлено повышение уровня оксигенации опухоли, которое сохранялось в течение 120 минут. Указанная реакция происходила за счет увеличения концентрации оксигемоглобина, характеризующего поставку кислорода к тканям. Кроме того, в опухоли отмечено повышение кровенаполнения. В нормальных тканях препарат не оказывал выраженного влияния на показатели оксигенации.

Таким образом, с использованием метода ОДС выявлены изменения кислородного статуса экспериментальных опухолей под воздействием пентоксифиллина, определены причины этих изменений, выявлены различия в ответе на введение препарата нормальных и опухолевых тканей. Данный метод определения может быть использован для разработки и тестирования новых агентов, оказывающих влияние на кислородный статус и кровенаполнение тканей.

1. Lunt S.J., Hill R.P. / Solid Tumor Hypoxia, 2005. P.43–66.

2. Horsman M.R., Nordsmark M., et al. / Acta Oncologica, 1994. №4. P.371–316.

3. Maslennikova A.V., Orlova A.G., et al. / J. Biophoton., 2010. V.3. №12. P.743-751.

4. Zywiets F., Böhm L., et al. / Strahlenther Oncol., 2004. №5 P.306-314.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ РАСТЕНИЙ КУКУРУЗЫ

Structural and functional features of photosynthetic apparatus depending on mineral nutrition of plants

Погромская Я.А., Зуза В.А., Зуза С.Г., Ротач Ю.В.

Донецкий отдел плодородия почв Научного центра «Институт почвоведения и агрохимии имени А. Н. Соколовского» Национальной академии аграрных наук Украины, 85297, Украина, Донецкая обл., г. Дзержинск, п. Новгородское, ул. Садовая 16
Тел./ факс: +7(8062) 472-54-87; e-mail: ddcnnc@ukr.net

Фотосинтетический аппарат растений представлен мембранными пигмент-белковыми комплексами, включающими коровый комплекс реакционного центра (*Cor*) и периферическую светособирающую антенну (*LHC*). Хлорофилл *b* является компонентом преимущественно *LHC*, а хлорофилл *a* – *Cor* и *LHC*. В связи с этим изменение отношения содержания хлорофилла *a* и *b* указывает на изменение соотношения между содержанием комплексов *Cor* и *LHC*, что может служить индикатором адаптации фотосинтетического аппарата к меняющимся условиям внешней среды. В работе изучалось влияние уровня минерального питания на состояние фотосинтетического аппарата кукурузы. В вегетационном опыте моделировались условия азотного недостатка при зафосфачивания почвы и сбалансирование питания внесением азотного удобрения. Содержание хлорофилла определялось методом анализа цифрового фото [1], функциональное состояние первичных процессов фотосинтеза – методом индукции флуоресценции хлорофилла. На основании положения, что отношение концентрации хлорофилла *a* светособирающих антенн и хлорофилла *b* постоянно на варианте воздействия на растение [2], нами было показано, что внесение азотных удобрений, интенсифицирующее общий синтез хлорофилла, приводит к снижению концентрации хлорофилла реакционных центров и увеличению содержания хлорофилла светособирающих антенн. Аналогична тенденция перераспределения хлорофилла и на фоне уменьшения общего содержания пигментов при зафосфачивании почвы. При этом методом индукции флуоресценции хлорофилла было установлено снижение эффективности первичных процессов фотосинтеза при внесении азотных удобрений и их интенсификацию на фоне зафосфачивания почвы. Что определяется в первом случае интенсификацией азотного синтеза, являющегося альтернативным потребителем энергии электронтранспортной цепи, и компенсацией пониженного содержания фотосинтетических пигментов во втором случае. Таким способом происходит регуляция энергетического потока для поддержания достаточного уровня фотосинтеза. То есть, оптимизация фотосинтетического аппарата, как при внесении азотных удобрений, так и при зафосфачивании почвы, происходит за счет увеличения содержания хлорофилла структур, улавливающих свет (*LHC*). Что при внесении азотных удобрений компенсирует затраты энергии, не связанные с поглощением CO_2 , а при несбалансированном питании – снижение общего содержания хлорофилла.

1. Погромская Я. А. Анализ применимости ДРСА для определения концентрации фотосинтетических ферментов вьюнка (*Portea purpurea*) / Я. А. Погромская, В. А. Зуза / XVIII международная конференция МКФ. Биофизика сложных систем. / Под. ред. Г. Ю. Ризниченко, А. Б. Рубина. М. – 2011 – Вып. 18. – С. 46.
2. Погромская Я. А. Модель определения содержания в растениях корового хлорофилла и хлорофилла светособирающего комплекса / Я. А. Погромская, В. А. Зуза / XIX международная конференция МКФ. Анализ сложных биологических систем. / Под. ред. Г. Ю. Ризниченко, А. Б. Рубина. Москва, Ижевск. – 2011 – Вып. 19. – С. 81.

**ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОЧНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ
ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ КАТИОННОГО ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА
ХОЛОСЕНСА НА РАКОВЫЕ КЛЕТКИ РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

**Peculiarities of cellular interactions and efficiency of photodynamic action of cationic
photosensitizer Cholosens on cancer cells of different histogenesis**

**Позднякова А.С.¹, Игнатова А.А.², Южакова О.А.³, Негримовский В.М.³, Лукьянец Е.А.³,
Феофанов А.В.^{1,2}**

1 - Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова,
119234, Москва, Ленинские горы, д.1, стр.12;

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

3 - ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», 123995 ГСП 5, Москва, ул. Б. Садовая, д. 1, корп. 4.

Тел.: +7(495) 336-17-66; e-mail: aignatova_83@mail.ru

Водорастворимый октационный фотосенсибилизатор Холосенс, разработанный во ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», является перспективным препаратом для противоопухолевой фотодинамической терапии. Данная работа посвящена анализу *in vitro* особенностей и эффективности фотодинамического действия Холосенса на раковые клетки различного гистогенеза, включая клетки нейробластомы мыши **Neuro-2a**, **аденокарциномы легкого человека A549**, рака молочной железы человека **MCF7**.

Обнаружено, что Холосенс эффективно проникает в клетки **Neuro-2a**, **A549** и **MCF7**, накапливается в цитоплазме, но не проникает в ядро. Распределение Холосенса в цитоплазме раковых клеток различного происхождения имеет сходный характер – диффузный с усиленным накоплением в окооядерной области. Кроме того, в цитоплазме клеток наблюдается концентрирование Холосенса в отдельных гранулах размером 0,5 – 1 мкм. При этом картина цитоплазматического распределения Холосенса по цитоплазме клеток **MCF7** стабилизируется после инкубации в течение 2,5 ч, тогда как в случае клеток **Neuro-2a** и **A549** стационарное распределение Холосенса формируется за 1-1,5 ч.

Для клеток **Neuro-2a**, **A549** и **MCF7** кривые зависимости интенсивности внутриклеточной флуоресценции Холосенса (т.е. внутриклеточного накопления Холосенса) от концентрации препарата во внешней среде (1 – 8 мкМ) носят сходный линейный характер. Скорости клеточного накопления и выведения Холосенса значительно зависят от типа клеток. Времена полунакопления Холосенса в клетках **Neuro-2**, **A549** и **MCF7** составляют соответственно 1,0, 0,58 и 2,5 ч. Времена полувыведения Холосенса из клеток **Neuro-2a**, **A549** и **MCF7** составляют соответственно 5,0, 3,7 и 1,8 ч. Скорости клеточного накопления и выведения препарата необходимо учитывать при выборе задержки между введением фотосенсибилизатора и облучением раковых клеток при оптимизации фотодинамического воздействия.

Без облучения светом Холосенс не оказывает цитотоксического воздействия на клетки **Neuro-2a**, **A549** и **MCF7** в исследованном диапазоне концентраций (0,063 – 4 мкМ). Обнаружено, что после 3 ч инкубации с Холосенсом облучение клеток красным светом сопровождается их концентрационно-зависимой гибелью. Концентрации Холосенса, вызывающие светоиндуцированную гибель 50 % клеток (LD_{50}), составляют 0,36, 0,37 и 0,48 мкМ для клеток **Neuro-2**, **A549** и **MCF7**, соответственно. Таким образом, Холосенс является высокоэффективным фотосенсибилизатором, вызывающим фотоиндуцированную гибель раковых клеток различного гистогенеза в субмикромольном диапазоне концентраций.

ГЕМОЛИЗ ЭРИТРОЦИТОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ФОТОИНДУЦИРОВАННЫХ АГРЕГАТОВ ПСОРАЛЕНА**Hemolysis of erythrocytes initiated by photoinduced aggregates of psoralen**

Потапенко А.Я., Пятницкий И.А., Невежин Е.В., Малахов М.В.

Российский национальный исследовательский медицинский университет
им.Н.И. Пирогова, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1.
Тел., +7(495)434-66-76, e-mail: potapenkoalexander@hotmail.com

Псоралены в сочетании с УФ-А облучением (320-400 нм) используются для лечения псориаза и др. кожных заболеваний (PUVA-терапия). Долгое время считалось, что молекулярной основой полезных и побочных эффектов этой терапии являются не нуждающиеся в кислороде реакции фотоприсоединения псораленов к ДНК. В нашей лаборатории впервые была выявлена важная биологическая роль реакций псораленов, протекающих через стадию фотоокисления молекул фотосенсибилизатора. Оказалось, что продукты фотоокисления псоралена (ФОП) являются эффективными иммуномодуляторами и поэтому обладают терапевтическим потенциалом. Одной из мишеней ФОП являются мембраны клеток. Удобной моделью для изучения повреждения мембран являются эритроциты человека т.к. 1) они не содержат ДНК, соответственно эффекты не могут быть приписаны фотоприсоединению псораленов к ДНК, 2) эритроциты – доступный объект, и повреждение их мембран легко регистрируется по гемолизу.

Ранее нами был обнаружен ФОП-гемолиз, причем косвенные данные указывали на то, что в этом процессе ведущую роль играют агрегаты фотопродуктов псоралена. Обнаружение агрегатов ФОП оказалось возможным только благодаря применению метода регистрации резонансного светорассеяния (РСР). Методом РСР удалось обнаружить, что фотоиндуцированная (365 нм) агрегация фотопродуктов псоралена происходит как при облучении в присутствии кислорода, так и при облучении в атмосфере аргона. Причем в первом случае сигнал РСР оказался примерно в два раза слабее, чем во втором. Ингибирующий эффект кислорода указывает на ведущую роль в фотоиндуцированной агрегации триплетных электронно-возбужденных состояний псоралена. В отличие от этого фотопродукты, вызывающие гемолиз, образуются только на воздухе, т.е. способностью вызывать гемолиз обладают только продукты фотоокисления псоралена (ФОП-гемолизины). Показано, что фотоиндуцированные агрегаты, полученные при облучении псоралена на воздухе и в атмосфере аргона, отличаются как по форме спектров РСР, так и по дозовым зависимостям их образования. Обнаружено, что при формировании кислородзависимых фотоиндуцированных ФОП-агрегатов не выполняется закон взаимозаменяемости интенсивности и длительности облучения. Как обнаруживаемые методом РСР ФОП-агрегаты, так и ФОП-гемолизины лучше образовывались при повышении интенсивности облучения. Показано, что ФОП-агрегаты нестабильны и распадаются при хранении в темноте. При этом значения констант скорости уменьшения сигнала РСР сопоставимы с константами скорости распада ФОП-гемолизинов.

**ВЛИЯНИЕ НЕКОВАЛЕНТНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С ДНК
НА ЦИС-ТРАНС-РАВНОВЕСИЕ ОКСАКАРБОЦИАНИНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ****The effect of non-covalent interaction with DNA on the oxacarbocyanine dyes cis-trans-equilibrium*****П.Г. Пронкин, А.С. Татиколов***Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, 119991,
Москва, ул. Косыгина, 4;Тел.: +7(495)939-7105, +7(499)137-4101, tatikolov@sky.chph.ras.ru, pronkinp@gmail.com

Благодаря зависимости фотофизических и фотохимических свойств от молекулярного окружения и способности нековалентно взаимодействовать с нуклеиновыми кислотами и белками полиметиновые красители (в том числе и оксакарбоцианины) широко используются в качестве зондов в биомедицинской практике [1, 2]. За счет вращения частей молекулы относительно связей полиметиновой цепи эти соединения способны изомеризоваться. Для мезо-замещенных красителей стерическое влияние заместителей приводит к наличию в растворах равновесия *транс*- и *цис*-изомеров (зависит от полярности среды), для незамещенных красителей энергетически выгодным является полностью *транс*-(EEEE)-изомер [3, 4]. Влияние взаимодействия с ДНК на изомерное равновесие оксакарбоцианинов не было изучено ранее. В настоящей работе спектрально-флуоресцентными методами исследован ряд оксакарбоцианиновых красителей: 3,3'-диэтилоксакарбоцианиниодид, 3,3'-диэтил-9-метилоксакарбоцианиниодид, 3,3'-диметил-9-этилоксакарбоцианиниодид, 3,3',9-триэтил-6,6'-димер-токсиоксакарбоцианиниодид, 3,3',9-триэтил-5,5'-диметилоксакарбоцианиниодида в растворах и в комплексе с ДНК. Детальное (с применением метода моментов [5]) изучение спектров позволило сделать вывод о наличии подвижного *цис-транс*-изомерного равновесия в растворах мезо-замещенных оксакарбоцианинов. Установлено, что при связывании с ДНК наблюдается сдвиг изомерного *цис-транс*-равновесия в сторону образования *транс*-изомера, что во многом определяет наблюдаемые при комплексообразовании оксакарбоцианиновых красителей спектральные эффекты.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 10-03-00647а).

Авторы выражают благодарность проф. Б.И. Шапиро (НЦ НИИХИМФОТОПРОЕКТ) за предоставление полиметиновых красителей.

1. Малыхин Ю.В., Боровой И.А., Кавок С.А., Геращенко Н.Л., Погребняк Н.Л., Ефимова С.Л., Лебеденко А.Н. / 2007. Биофизика. Т. 52, № 4, С. 667–673.
2. Goncharuk E.I., Borovoy I.A., Pavlovich E.V., Malyukin Yu.V., Grischenko V.I. / Biopolymers and Cell. 2009. Vol. 25. N 6. P. 484 – 490.
3. West W., Pearce S., Grum F. / J. Phys. Chem. 1967. V. 71. № 5. P. 1316.
4. Khimenko V., Chibisov A.K., Görner H. / J. Phys. Chem. A. 1997. V. 101. № 39. P. 7304.
5. Колесников А.М., Михайленко Ф.А. / Успехи химии. 1987. Т. 56. № 3. С. 466.
6. Дядюша Г.Г., Ищенко А.А. / Журнал прикладной спектроскопии. 1979. Т.30. №6. С. 1037 – 1042.

МОНИТОРИНГ КИСЛОРОДНОГО СТАТУСА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ В ХОДЕ ЕСТЕСТВЕННОГО РОСТА МЕТОДОМ ОПТИЧЕСКОЙ ДИФFUЗИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

Monitoring of oxygen state of the experimental tumors in the course of its natural growths by diffuse optical spectroscopy.

**Пряникова Т.И.^{1,2}, Орлова А.Г.², Голубятников Г.Ю.², Снопва Л.Б.³, Иванова И.П.³,
Бабаев А.А.¹, Масленникова А.В.^{1,2,3}**

¹ - Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 603950, Н.Новгород, пр. Гагарина, 23.

² - Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт прикладной физики Российской академии наук, 603950, Н.Новгород, ул. Ульянова, 46,

³ - Нижегородская государственная медицинская академия, 603005, г. Н. Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1.

Тел.: 89040470855, факс: +7(831)436-37-92, e-mail: tipryanikova@mail.ru

Динамика кислородного статуса в ходе естественного роста опухоли и на фоне различных воздействий рассматривается в настоящее время как один из ключевых факторов, определяющих эффективность лечения. В нашей работе для оценки оксигенации опухоли был использован метод оптической диффузионной спектроскопии (ОДС), который позволяет определять степень насыщения крови кислородом на основе данных о концентрации окисленного (HbO_2) и восстановленного (ННб) гемоглобина. Целью работы было исследование кислородного статуса экспериментальных опухолей с верификацией полученных данных с помощью независимого метода, а также мониторинг степени оксигенации опухолевой модели в ходе ее естественного роста.

Эксперименты проводились с использованием двух опухолевых моделей: лимфосаркомы Плисса (ЛСП) и рака молочной железы крыс (РМК-1), различающихся по своим характеристикам. Для верификации результатов использовали метод иммуногистохимического анализа. Как показали проведенные эксперименты, ЛСП характеризуется повышенной концентрацией ННб, но сниженным содержанием HbO_2 и соответственно, сниженной по сравнению с окружающими нормальными тканями оксигенацией. Для модели РМК-1 было продемонстрировано снижение концентрации HbO_2 в проекции опухолевого узла; при этом содержание ННб данного соединения в опухоли практически не отличалось от нормы. Иммуногистохимическое исследование с экзогенным маркером гипоксии пимонидазолом подтвердило данные, полученные методом ОДС.

С целью мониторинга уровня оксигенации в ходе естественного роста опухоли использовалась модель ЛСП. В процессе ее роста наблюдалось увеличение объема с $1.4 \pm 0.3 \text{ см}^3$ до $99.0 \pm 12.7 \text{ см}^3$. Методом ОДС было выявлено постепенное снижение оксигенации опухолевой ткани по мере увеличения ее объема. Это происходило, прежде всего, за счет повышения ННб, который косвенно отражает уровень потребления кислорода тканями. Его возрастание в такой агрессивно растущей опухоли как ЛСП, с высоким соотношением паренхима/строма, может объясняться несоответствием между недостаточным уровнем доставки кислорода и повышенной потребностью в нем активно пролиферирующей ткани опухоли. Кроме того, наблюдалось существенное снижение концентрации HbO_2 в опухолевой ткани, что, возможно, отражает нарушение доставки кислорода через аномально сформированное сосудистое русло опухоли. Отсутствие значимых изменений уровня общего гемоглобина на протяжении всего времени наблюдения в ходе роста ЛСП является показателем стабильности ее кровенаполнения.

**ЦИТОХИМИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ
НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ ПОСЛЕ ИНКУБАЦИИ
С ПОЛУПРОВОДНИКОВЫМИ КВАНТОВЫМИ ТОЧКАМИ**

Neutrophil granulocytes myeloperoxidase activity after incubation with semiconductor quantum dots estimated by cytochemical method

Пудовкина Е. Е.¹, Плескова С. Н.^{1,2}, Горшкова Е. Н.²

1 – Нижегородский Государственный Технический Университет им. Р. Е. Алексея, 603950, ГСП-41, Нижний Новгород, ул. Минина, д.24;

2 – Нижегородский Государственный Университет им. Н. И. Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23; e-mail: pudovkina-kat@mail.ru

Квантовые точки (КТ) – флуоресцирующие нанокристаллы, созданные на основе полупроводников или металлов. Благодаря эффекту размерного квантования, КТ фотостабильны, имеют широкий спектр поглощения, узкий и симметричный спектр эмиссии. Наличие уникальных свойств КТ делает их перспективными для использования в медицине в качестве флуоресцентных меток, а также в получении многоцветных изображений биологических объектов [1]. Однако быстро накапливаются сведения об их высокой токсичности, вследствие чего использование КТ в системах *in vivo* невозможно. Основными механизмами токсичности считаются образование активных форм кислорода, возникающее вследствие фотоактивации квантовых точек и высвобождение токсичных химических элементов их кора. Целью данной работы являлось исследование влияния КТ на активность миелопероксидазы нейтрофильных гранулоцитов (НГ) человека. Миелопероксидаза локализуется в азурофильных гранулах клеток и является одним из основных маркерных ферментов НГ. НГ для исследований выделяли из гепаринизированной венозной крови здоровых доноров на двойном градиенте фиколла-урографина. Оценивалось влияние на клетки следующих типов КТ: CdSe/ZnS, покрытых меркаптопропионовой кислотой (КТ-МПК), (CdSe/CdZnS)ZnS-polyT (КТ-polyT), CdSeCdSZnS/polyT/SiO₂-NH₂ (КТ-NH₂). Цитохимическое определение миелопероксидазы проводилось по методу Грэхема-Кнолля, принцип которого заключается в окислении бензидина пероксидом водорода в оксibenзидин в присутствии миелопероксидазы. НГ (2·10⁵ кл/мл) инкубировали с КТ (30 мин, 37 °С), взятыми в конечной концентрации 0,1 мг/мл, готовили и микроскопировали цитоспиновые препараты. Внутриклеточное содержание фермента оценивалось по величине среднего цитохимического коэффициента (СЦК). Контрольное значение СЦК составило 1,62±0,42. Для нейтрофилов, проинкубированных с КТ продемонстрировано статистически значимое увеличение активности миелопероксидазы: в системе с КТ-МПК и КТ-polyT СЦК составил 2,2±0,41* и 2,07±0,43* соответственно. Для КТ-NH₂ статистически значимых изменений активности фермента не отмечено (СЦК=1,8±0,48). Таким образом, показано, что КТ-МПК и КТ-polyT стимулируют секрецию миелопероксидазы нейтрофилами, что доказывает теорию окислительного стресса клетки в контакте с наноматериалами. КТ-NH₂ не вызывали значимой активации миелопероксидазы, что может быть объяснено особенностями их функционального покрытия.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 11-04-97036-р_поволжье_a.

Sarwat B. Rizvi, Shirin Ghaderi, Mo Keshtgar and Alexander M. Seifalian / Nano Reviews, 2010. 1:5161.

ФОТОФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫХ ТЕТРАПИРРОЛЬНЫХ МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСОВ**Photophysical properties of supramolecular tetrapyrrolic metal complexes**

Разина В.С., Лобанов А.В., Дмитриева Г.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук, 119991, Москва, ул. Косыгина, 4, valeria_razina@mail.ru

Объекты работы – d^0 - и d^{10} -металлокомплексы (Zn, Mg, Al) циклических тетрапирролов (фталоцианинов, хлоринов), комплексы с полимерами (ПВП, ПЭГ, ПВС), мицеллы, липосомы, комплексы с белками, адсорбированные молекулы на наноразмерных кремнеземах. Их особенности – генерация с высоким квантовым выходом (в отличие от d^1 - d^9 -металлокомплексов) долгоживущих триплетных возбужденных состояний, отсутствие темновой активности, поглощение в области прозрачности тканей (640-800 нм), яркая люминесценция (680-800 нм), узнаваемость рецепторами многих клеток, обеспечивающая рецептор-опосредованный эндоцитоз. Каждое из перечисленных свойств зависит от степени ассоциации металлокомплекса, которое возможно контролировать методами супрамолекулярной и нанохимии [1-3].

Благодаря варьированию показателей ассоциации комплексов получены 4 типа различных системы со следующими фотохимическими свойствами:

1 тип: высокий выход триплетов, триплет-триплетный перенос энергии на кислород (генерация синглетного кислорода), флуоресценция;

2 тип: триплет-триплетная аннигиляция, перенос электрона на кислород (образование супероксиданион-радикала);

3 тип: отсутствие фотохимической активности, флуоресценция;

4 тип: отсутствие фотохимической активности и излучательных свойств.

Существенная зависимость фотосенсибилизирующей активности от степени агрегированности ТФС, с одной стороны, может быть основой для направленного получения фоточувствительного вещества с заданными люминесцентными или фотохимическими свойствами. С другой стороны, эти особенности позволяют с новой точки зрения рассматривать роль различных ассоциатов и супрамолекулярных форм металлокомплексов в фотосинтетическом аппарате, в том числе как один из способов тушения (или предотвращения) генерации синглетного кислорода.

Для металлокомплексов в новых системах определены энергии электронных переходов, силы осциллятора, излучательные времена, квантовые выходы флуоресценции, редокс-потенциалов основных и возбужденных состояний, энергии и квантовые выходы триплетов, квантовые выходы синглетного кислорода.

Работа поддержана грантом Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук МК-227.2011.3.

1. Lobanov A.V., Nevrova O.V., Vedeneeva Yu.A. et al. In: *Molecular and Nanoscale Systems for Energy Conversion*. Ed.: Varfolomeev S.D. et al. New York, Nova Science Publishers, Inc. (2008) 95-99.

2. Lobanov A.V., Vasiliev S.M., and Komissarov G.G. *Macroheterocycles*. 2 (2009) 268-270.

3. Lobanov A.V., Kobzev G.I., Davydov K.S. et al. *Macroheterocycles*. 4 (2011) 106-110.

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ С ЛИПОСОМАЛЬНЫМИ ФОРМАМИ ХЛОРИНОВОГО ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА В МОДЕЛИ ХОРИОАЛЛАНТОИЗНОЙ МЕМБРАНЫ КУРИНОГО ЭМБРИОНА: ФОТОПОВРЕЖДЕНИЕ ОПУХОЛИ И ВАСКУЛЯРНОЙ СИСТЕМЫ

Photodynamic therapy with liposomal formulations of chlorin photosensitizer in a model of chorioallantoic membrane of chick embryo: vascular and tumoral photodamage

Решетов В.А.^{1,2}, Гарье Ж.², Зорин В.П.¹, Болотина Л.Н.²

¹ – Белорусский государственный университет,
Беларусь, 220030, Минск, пр-т Независимости, 4;

² – Университет Лотарингии, центр Алексис Вотран, Франция, 54511, Нанси, ав. Бургонь, 6
Тел.: +375 (17) 2265947; e-mail: vadim.reshetov@gmail.com

Эффективность фотодинамической терапии (ФДТ) раковых заболеваний определяется комбинацией прямого опухолевого (клеточного) и непрямого васкулярного повреждения, и зависит от фармакокинетических и фотофизических свойств фотосенсибилизатора. Мета-тетра(гидроксифенил)хлорин (мТГФХ) является одним из наиболее эффективных клинически одобренных фотосенсибилизаторов второго поколения. Для придания неполярному мТГФХ свойства водорастворимости, улучшения фотофизических свойств и фармакокинетических параметров были разработаны липосомальные формы (классические и стерически защищенные липосомы). Как было показано ранее, в сыворотке человека [1] наблюдается перераспределение мТГФХ из липосом-носителей, причем процесс выхода пигмента зависит от типа липосомальной формы. Изучение кинетики выхода мТГФХ из состава липосом *in vivo* является необходимым для оценки эффективности ФДТ с применением липосомальных фотосенсибилизаторов.

Для определения опухолевого и васкулярного фотоповреждения липосомальными формами мТГФХ в работе использовалась хориоаллантаоизная мембрана куриного эмбриона. Оценка выхода мТГФХ из состава липосом в крови проводилась с помощью метода фотоиндуцированного тушения флуоресценции [2]. Показано, что перераспределение мТГФХ из классических липосом происходит значительно быстрее, чем из стерически защищенных. ФДТ проводилась на эмбрионах с ксенотрансплантированными мышинными раковыми клетками ЕМТб. Интервалы между введением мТГФХ и фотооблучением соответствовали частичному или полному перераспределению фотосенсибилизатора из липосом. Васкулярное фотоповреждение оценивалось с помощью флуоресцентной микроскопии/макроскопии в белом свете, опухолевое – по результатам гистологического исследования. Показано, что мТГФХ, введенный в составе классических липосом, вызывает значительно большее васкулярное повреждение. Напротив, гистологическая оценка опухолевого повреждения показала больший эффект стерически защищенной липосомальной формы мТГФХ. Оценка биораспределения мТГФХ в опухоли и фармакокинетических параметров по высокоэффективной жидкостной хроматографии свидетельствует о большем накоплении мТГФХ, введенного в составе стерически защищенной липосомальной формы, в опухоли и большей локализации пигмента в васкулярном компартменте, чем для классических липосом.

1. Reshetov V., Kachatkou D. et al. / Photochem Photobiol Sci, 2011. V. 10(6). P.911-919.

2. Kachatko D., Sasnouski S. et al. / Photochem Photobiol, 2009. V. 85. P.719-724.

АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ФИТОПЛАНКТОНА С ЦЕЛЬЮ ВЫЯВЛЕНИЯ ИХ СВЯЗИ С ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ ВОД РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

Connections between phytoplankton fluorescence parameters and physico-chemical characteristics in Rybinsk reservoir

Д.В.Рисник

Биологический факультет МГУ, 119991, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12
e-mail: biant3@mail.ru

Показатели флуоресценции фитопланктона могут быть использованы для биоиндикации качества вод благодаря их чувствительности к изменениям окружающей среды (степень изменения показателей может отражать интенсивность воздействия).

Измерения быстрой флуоресценции фитопланктона проводили на акватории Рыбинского водохранилища в 2010 г. согласно методике [1]. В отобранных пробах бортовым флуориметром «МЕГА-11» определяли: фоновый уровень и максимум общей флуоресценции проб и флуоресценции фитопланктона, уровень флуоресценции растворенных органических веществ.

Одновременное влияние на показатели флуоресценции множества факторов среды приводит к «размытости» зависимости «доза-эффект». «Размытые» зависимости плохо поддаются анализу стандартными статистическими методами. В связи с этим предложен метод максимизации качественных связей [2], позволивший определить границы качественных классов и охарактеризовать связи между характеристиками.

Исследована возможность применения показателей флуоресценции в качестве биоиндикаторов состояния экосистемы Рыбинского водохранилища. Для этих целей использован метод расчета локальных экологических норм [3], позволивший: рассчитать границы нормы, разделяющие «благополучные» и «неблагополучные» значения для показателей флуоресценции, и границы нормы факторов, разделяющих их «допустимые» и «недопустимые» значения; рассчитать как верхние, так и нижние границы нормы факторов; ранжировать факторы по их вкладу в неблагополучие экосистемы; определить достаточность программы наблюдений за факторами в Рыбинском водохранилище.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (гранты №№ 10-04-00013а, 11-04-00915а).

1. Маторин Д.Н., Осипов В.А., Яковлева О.В., Погосян С.И. Определение состояния растений и водорослей по флуоресценции хлорофилла. – М.: МАКС Пресс, 2010. 116 с.
2. Рисник Д.В., Левич А.П., Булгаков Н.Г., Бикбулатов Э.С., Бикбулатова Е.М., Ершов Ю.В., Конюхов И.В., Копылов А.И., Корнева Л.Г., Лазарева В.И., Литвинов А.С., Осипов В.А., Отюкова Н.Г., Поддубный С.А., Пырина И.Л., Соколова Е.А., Степанова И.Э., Цельмович О.Л. Поиск связей между биологическими и физико-химическими характеристиками экосистемы Рыбинского водохранилища. Часть 2. Детерминационный анализ (в печати).
3. Левич А.П., Булгаков Н.Г., Максимов В.Н., Рисник Д.В. «In situ»-технология установления локальных экологических норм // Вопросы экологического нормирования и разработка системы оценки состояния водоемов. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2011. С. 32-57.

ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕАКЦИИ СИСТЕМЫ ВОДА-БЕЛОК-СОЛЬ НА ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА И ТЕМПЕРАТУРЫ**Thermodynamic and physical-chemical mechanisms of reaction of the system water-protein-salt on composition and temperature changes****Рожков С.П., Горюнов А.С.**

Институт биологии Карельского НЦ РАН, 185910, Петрозаводск, Пушкинская, 11
тел.(8142)765264, факс (8142)769810. E-mail: rozhkov@krc.karelia.ru

Выяснение механизмов, лежащих в основе неспецифической реакции клеточных систем на основные абиотические факторы (соленость среды и/или температуру), требует применения теоретических подходов, в частности основанных на представлениях о фазовых переходах типа жидкость-жидкость, золь-гель и жидкость-твердое тело как во внутри- так и во внеклеточном микроокружении. Анализ имеющихся данных позволяет предположить, что в основе срочной адаптивной реакции клеточных систем на эти изменения может лежать способность клеток изменять концентрацию биополимеров в своем микроокружении. При этом изменение взаимодействия внеклеточных белков между собой и ионами солей позволяет переложить проблему регуляции осмотического гомеостаза на внеклеточное микроокружение. Ранее нами было теоретически показано, что формирование динамических белковых кластеров при определенном критическом отношении молярных концентраций белка и соли, которое зависит от ряда свойств этих компонентов белкового раствора, а также температуры, позволяет поддерживать постоянство химического потенциала воды в некотором диапазоне изменения состава раствора и тем самым поддерживать осмотический гомеостаз [2]. Соответственно, изменение температуры или солености среды для сохранения условий гомеостаза потребует изменения концентрации внеклеточных белков за счет их секреции клетками. Примером таких белков могут быть белки теплового шока [3]. Помимо регуляции осмотического давления, динамические белковые кластеры, флуктуационные по своей природе, могут создавать особое мезофазное состояние межклеточной жидкости с набором специфических физико-химических особенностей, обусловленных малостью термодинамических коэффициентов устойчивости системы и кинетических коэффициентов: оно характеризуется повышенной теплоемкостью, сжимаемостью и вязкостью, пониженным коэффициентом самодиффузии и температуропроводности [4]. В таком состоянии термодинамическая система без потери свойств и состава реагирует на кратковременные изменения внешних условий среды, а потому могла быть объектом эволюционного отбора. В работе обсуждаются особенности теоретических фазовых диаграмм системы вода-белок-соль в координатах: химический потенциал воды- концентрация белка - концентрация соли; температура- концентрация белка, температура – критический состав, построенных на основе анализа термодинамического детерминанта устойчивости этой системы по отношению к процессам диффузии, что позволяет определить условия существования различных форм структурной организации раствора на фазовой диаграмме, включая мезофазное состояние, а также фазовые переходы типа жидкость-жидкость, золь-гель и жидкость- твердое тело.

[1] Морозов И.И., Петин В.Г.// Цитология. 2008. Т.50. С.182-186

[2] Рожков С.П.// Биофизика 2005. Т.50. С.115-122

[3] Маргулис Б.А., Гужова И.В.// Цитология. 2009. Т.51 С.219-228

[4] Семенченко В.К. // Журн.физ.химии 1962. Т.36. С.15-20

ПОЛИПЛЕКСНЫЕ НАНОКОМПЛЕКСЫ ДЛЯ ГЕНОТЕРАПИИ РАКА**Polyplex nanocomplexes for cancer gene therapy****Розенкранц А.А.**

Лаборатория молекулярной генетики внутриклеточного транспорта, ИБГ РАН,
119334, Москва, ул. Вавилова, 32;
Кафедра биофизики, биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова,
119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12
Тел.: +7(499)135-99-02, +7(495)932-1195; факс: +7(499)135-41-05; e-mail: aar@igb.ac.ru

Создание и исследование надмолекулярных комплексов, доставляющих необходимую ДНК или РНК в клетки, является одной из актуальных проблем медицинской биофизики. Полиплексы – комплексы поликатионов с доставляемой нуклеиновой кислотой – рассматриваются в настоящее время в качестве перспективного направления для генотерапии, в частности для генотерапии злокачественных новообразований. Полиплексы на основе полиэтиленimina (ПЭИ) способны трансфицировать клетки в культуре, обладают низкой иммуногенностью, их достаточно легко модифицировать, что делает их одним из наиболее удобных вариантов для разработки средств с контролируемым составом и свойствами для генотерапии. С целью увеличения эффективности доставки генов, а также для определения закономерностей создания оптимальных для практического использования вариантов был получен ряд однотипных блок-сополимеров с различным содержанием компонентов. Для синтеза использовали линейный ПЭИ, короткий полиэтиленгликоль (ПЭГ) и различные пептиды для усиления специфического либо неспецифического проникновения в клетки. Каждый из полученных блок-сополимеров использовали для получения полиплексов при различных соотношениях азота ПЭИ (N) и фосфата ДНК (P). Проведенные исследования показали, что эффективность трансфекции для 8 разных клеточных линий различается по величине (от 17 до 100%), однако сходным образом зависит от соотношения ПЭГ/ПЭИ блок-сополимера и N/P полиплекса. Сравнение данных о распределении получаемых размеров полиплексных наночастиц, полученных при помощи атомно-силовой микроскопии с эффективностью трансфекции позволили сделать заключение, что эффективность переноса генов строго коррелирует с долей частиц размером 50-75 нм. Изучение внутриклеточного транспорта на различающихся по уровню эффекта клеточных линиях при помощи конфокальной лазерной микроскопии и резонансного безизлучательного переноса энергии между флуоресцентно мечеными компонентами полиплексов показало, что эффективность трансфекции в наибольшей мере зависит от скорости поступления полиплексов в клетки и от устойчивости в эндосомах. Полиплексы с пептидным лигандом для меланокортиновых рецепторов (МКП) лучше трансфицируют клетки меланомы в культуре и в составе опухоли. Обнаружено, что суицидная генотерапия при помощи доставки гена тимидинкиназы вируса герпеса человека достоверно увеличивает срок жизни мышей с экспериментальными меланомными опухолями как при системном (в 1,6 раза), так и при внутриопухолевом (в 3,6 раза) введении полиплексов с МКП.

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ФИБРИНОГЕНА
В СЛЕДСТВИЕ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ****Structural and functional changes of fibrinogen under the action
of free-radical oxidation****Розенфельд М.А., Леонова В.Б., Бычкова А.В., Коварский А.Л.**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4
Тел.: 8 (495) 939-7930; факс: 8 (499) 137-4101; e-mail: annb0005@yandex.ru

Было показано, что окислительная модификация фибриногена, являющегося ключевым белком системы свертывания крови, под действием озона сопровождается изменениями в структуре и свойствах белка. Окислительная модификация фибриногена резко ускоряет процесс агрегации молекул белка в растворе; однако, механизмы самосборки кластеров из окисленных и неокисленных молекул белка являются полностью идентичными. В обоих случаях образуются гибкоцепные одноцепочечные полимеры, в которых мономерные молекулы взаимодействуют по типу «конец к концу»; при достижении критической длины такие полимеры сворачиваются в клубок и обладают тенденцией к агрегации. Методом ИК-спектроскопии было показано, что свободнорадикальное окисление аминокислотных остатков в полипептидных цепях фибриногена под действием озона сопровождается формированием карбонильных, гидроксильных и эфирных групп. Фибрин, полученный из окисленного фибриногена, характеризуется большим отношением среднемолекулярной массы к среднемолекулярной длине по сравнению с нативным фибрином. Данные, полученные методами упругого и динамического светорассеяния в сочетании с вискозиметрией и электрофорезом восстановленных образцов, демонстрируют значительное ускорение ферментативной реакции ковалентного сшивания молекул фибриногена под действием фибринстабилизирующего фактора (FXIIIa). Также было изучено свободнорадикальное окисление конечных продуктов плазминного гидролиза фибриногена – фрагментов *D* и *E*. Сравнение ИК-спектров, полученных для окислено-модифицированных фрагментов *D* и *E*, обнаружило более значительную трансформацию функциональных групп в случае *D* фрагмента. Методом ЭПР-спектроскопии исследованы времена вращательной корреляции спиновых меток, связанных с окисленными и неокисленными *D* и *E* фрагментами. Показано, что спиновые метки на окисленных белках характеризуются большей подвижностью. Более того, *D* фрагмент оказался наиболее чувствительным к свободнорадикальной модификации. По нашему мнению влияние озона и других АФК на аминокислотные остатки фибриногена и, в первую очередь, на циклические аминокислотные остатки как наиболее чувствительные к окислению затрагивает конформационное состояние *D* области фибриногена, вызывая в нем локальные перестройки, что, в свою очередь, обуславливает способность молекул фибриногена к самосборке и другим вышеуказанным эффектам. Согласно нашей рабочей гипотезе, трехмерная структура и химический состав белков свертывания крови предоставляет наиболее доступные и чувствительные области полипептидных цепей в качестве перехватчиков свободных радикалов при свободнорадикальной атаке. Этот механизм защищает ключевые центры, ответственные за основные функции белков.

ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ СЛОЖНОМОДУЛИРОВАННОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НЕТЕПЛОВОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ НА ПОКАЗАТЕЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА КРЫС**Assessing the impact of nonthermal modulated electromagnetic radiation on oxidative metabolism induction in rats**

Рохмистрова Е.Г., Лабынцева О.М., Ананьева Ю.Е., Лобкаева Е.П.

ФГУП «Российский Федеральный Ядерный Центр – всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики», 607188, г.Саров, Нижегородская обл., пр.Мира 37

Тел. +7(83130) 2 52 99, факс +7(83130) 2 53 00, e-mail: nata@bfrc.vniief.ru

В работе представлены результаты исследования однократного действия сложно модулированного электромагнитного излучения нетепловой интенсивности на показатели окислительного метаболизма организма лабораторных животных. Исследования проводили на белых беспородных крысах в количестве 32 штук.

Источником электромагнитного излучения служила экспериментальная радиотехническая система (генератор АТ Е8663D, рупорная антенна А7713). В качестве несущего использовали сигнал электромагнитного излучения частотой 1 ГГц с плотностью потока энергии 85 мкВт/см². Модулирующий сигнал представлял собой последовательность прямоугольных монополярных импульсов с трапециевидной амплитудной модуляцией.

Для оценки метаболического статуса организма использовались следующие методики: изменение миелопероксидазной активности нейтрофильных лейкоцитов, спонтанный и индуцированный НСТ-тест, определение уровня молекул средней массы и содержание малонового диальдегида в сыворотке крови.

Получено, что однократное действие электромагнитного излучения нетепловой интенсивности приводит к активации механизмов окислительного метаболизма нейтрофильных лейкоцитов крови лабораторных животных, что выражается в повышении их цитотоксического потенциала и биоцидных свойств, к активизации свободнорадикального окисления и, вследствие этого, сдвигу в системе гомеостаза организма на уровне белковых молекул.

МЕТОДЫ И МОДЕЛИ БИОФИЗИКИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВЫХ БИОМАТЕРИАЛОВ**Biophysical methods and models for design new biomaterials**Рочев Ю.А.^{1,2}, Горелов А.В.^{3,2}¹-National Centre for Biomedical Engineering Science, NUI Galway, Ireland;²-Институт Теоретической и Экспериментальной биофизики РАН, Пущино;³- School of Chemistry and Chemical Biology, University College Dublin, Ireland;

Современные биоматериалы, применяемые в тканевой инженерии и в системах доставки лекарств, должны не просто выполнять опорные и соединительные функции, но и адекватно реагировать на локальные изменения окружающей их среды, например, на изменения температуры, pH или на присоединение лиганда. Такие биоматериалы принято называть умными ("smart" или "intelligent"). Особый теоретический и практический интерес вызывают термочувствительные полимерные биоматериалы, которые характеризуются коллапсом полимерной молекулы или полимерной сетки, а также резким нелинейным переходом из гидрофобного состояния в гидрофильное при незначительном понижении температуры. Конформационные переходы клубок-глобула в термочувствительных синтетических полимерах могут рассматриваться как упрощённые модели сворачивания белков.

На основе термочувствительного полимера поли-*n*-изопропилакриламида (ПНИПАА) и его сополимеров нами были разработаны биосовместимые покрытия для тканевой инженерии и контролируемой доставки лекарств.

Ультратонкие (характерная толщина 10-100 нм) покрытия использовались для получения нативных пластов эндотелиальных клеток в тканевой инженерии.

Клетки адгезировали и пролиферировали на покрытиях при физиологической температуре 37 °С. При понижении температуры ниже температуры структурного перехода. Клетки и пласты клеток, спонтанно откреплялись от термочувствительных покрытий. Динамика клеточного роста и открепления была исследована на различных перевиваемых клеточных линиях, первичных моноцитах, мезенхимальных стволовых клетках и пластах эндотелиальных клеток [1].

Покрытия с характерной толщиной 10-100 мкм были успешно апробированы для контролируемой циклической и пролонгированной локальной доставки модельных лекарств [2]. Нами показано, что кинетические характеристики термочувствительных биопокрытий, такие как скорость открепления клеток и кинетика выхода лекарств, прежде всего зависят от термодинамических свойств переходов в ПНИПАА и его сополимерах, в частности, от температуры и энтальпии перехода.

1. Nash, M.E., Carroll, W.M. et al, *Soft Matter*, 2012; 8, 3889-3899.2. R. Yang, T. Vo T. N., et al, *Int. J. Pharm.*, 2012, 427(2), 320-327.

КОНСТРУИРОВАНИЕ УСТОЙЧИВЫХ РЕАКТИВНЫХ ОКСИДАНТОВ НА ОСНОВЕ ТАУРИНА, АНАЛИЗ ИХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ СВОЙСТВ И ПРОТИВОТРОМБОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ**A design of the stable reactive oxidants on taurine basis, analysis of their molecular properties and anti-thrombotic activity****Рощупкин Д.И.¹, Мурина М.А.², Сергиенко В.И.²**

²-ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздравсоцразвития, 117997 Москва, ул. Островитянова, 1;

²-ФГБУН «Научно-исследовательский институт физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства»,
119992 Москва, ул. Малая Пироговская, 1а
e-mail: marina_murina@mail.ru

Хлораминовые и хлориминовые производные аминокислот, таурина и пептидов, характеризующиеся наличием активного хлора, вызывают угнетение функций тромбоцитов, включая их агрегацию. В крови это действие избирательно: на уровне сильного ингибирования тромбоцитов изменение свойств эритроцитов и лейкоцитов не происходит. Судя по данным изучения тромбоза у мышей, хлорамины аминокислот и таурина обладают противотромботической активностью. Механизм действия аминокислотных хлораминов и хлориминов на тромбоциты заключается в окислительной модификации тиольных и тиозфирных групп атомов в белках плазматической мембраны. Применение хлораминов аминокислот в качестве противотромботической субстанции сдерживается их низкой собственной устойчивостью и недостаточной хемоселективностью.

Проведено молекулярное конструирование (с использованием компьютерных расчетов) новых соединений: иминовых и амидных производных хлорамина таурина. Применяли непараметрический квантово-механический расчет (интерфейс GAMESS, ChemBio3D Ultra 11) с базами RHF/6-311++G(d,p), RHF/6-311G(d,p) и RHF/6-311G. Для учета влияния водного окружения использовали модель РСМ. Свойства, представляющие интерес для создания определенного соединения, рассчитывали после минимизации полной энергии и оптимизации геометрии молекул. Изученные соединения сильно различаются по величине парциального заряда Малликена активного хлора (базис RHF/6-311G). Наибольшие значения этого заряда у амидопроизводных хлорамина таурина. Между расчетными величинами заряда активного хлора и экспериментальными константами скоростей реакции хлораминов с серосодержащими аминокислотами наблюдается либо положительная (тиольные группы), либо отрицательная (тиозфирные группы) корреляция. На основании этого синтезированы **N-хлор-N-ацетилтаурин** и **N-хлор-N-пропионилтаурин** и показано, что эти оксиданты проявляют хемоселективность по отношению к тиольным группам. Амидопроизводные хлорамина таурина обладают противоагрегантной активностью в клеточных системах.

Для разработки расчетного показателя устойчивости хлораминов исследовали хлорамины таурина с заместителями в положении 2, для которых имеются экспериментальные данные (Wang L. et al., 2008). Значительные отличия обнаружены в длине связи N-C(2). У хлораминов с метильными заместителями, сильно повышающими устойчивость, эта величина 1,50 – 1,528 ангстрем, а у монохлор- и дихлортаурина – в пределах 1,472 – 1,483 ангстрем.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант №12-04-00951-а.

ЦВЕТОФОТОСТИМУЛЯЦИЯ ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС.**Color-photostimulation of the autonomic nervous system in rats.****Рыжакина А.Ю.**

Нижегородский государственный университет им. Лобачевского г. Н.Новгород 603950, пр. Гагарина 23 к 1; Тел.: +79081563832 mail: antipow.serj@yandex.ru

Свет вызывает в организме целый каскад превращений, воздействуя на органы и системы, активирует физиологические процессы, восстанавливает баланс внутренней среды, поддерживает устойчивость клеточного метаболизма, регулирует обмена веществ, повышает жизнестойкость клеток и тканей, иммунитет и поддерживает природный механизм гомеостаза. В то же время, несмотря на большое число исследований, посвященных изучению действия света на живой организм, до сих пор нет единого мнения о механизмах воздействия. (1) Целью данной работы являлось изучение цветофотостимуляции на реакцию вегетативной нервной системы крыс методом анализа variability сердечного ритма. Объектом исследования являлись нелинейные белые крысы. Животные были разделены на 6 групп и помещены в камеры, где помимо естественного освещения было добавлено освещение различного спектра, с силой света 21,5 кандел. Первая группа – контрольная, вторая – с освещением белого света, третья – зеленого (520-530нм), четвертая – красного (650-630нм), пятая – желтого (585-595нм), шестая – синего света (466-470нм). После двухнедельного содержания крыс при добавочном цветовом освещении, у животных регистрировали ЭКГ и методом спектрального анализа ВСР исследовали состояние реакции ВНС. Спектральный анализ variability ритма сердца проводили в диапазоне частот для крыс VLF (0,18 – 0,32), LF - НЧ (0,32 — 0,9 Гц), HF - ВЧ (0,9 — 3,5 Гц) и TP (0,18 – 3,5Гц). В результате исследований установлено, что подсветка камеры с животными красным светом и предъявление этим животным ортопробы вызвали изменения в вегетативном статусе. Так показатель LF/HF **увеличился на 60%, что свидетельствует о преобладании активности в регуляции симпатического тонуса.** При этом парасимпатический показатель HF% уменьшился на 21%, показатель симпатического тонуса LF% увеличился на 30%. Такое воздействие красного света можно рассматривать как реакцию тренировки, и такой раздражитель включает механизмы адаптации. Об этом свидетельствует и уменьшение значения стресс индекса SI на 51 %, и увеличение значения суммарной активности регуляторных систем TP на 71%. Действие зеленого, как и синего света на крыс не вызывал изменения величины показателей активности (SI, TP, CV, HF, LF, LF/HF) **симпатического и парасимпатического отдела вегетативной нервной системы.** Это свидетельствует, что зеленый и синий свет являлись для крыс подпороговым раздражителем и не вызывали нарушений гомеостаза животных. Подсветка камеры с животными желтым светом и последующее предъявление этим животным ортопробы вызвали изменения в регуляции вегетативных функций. Так, показатель LF/HF **уменьшился на 72%, уменьшились также и показатели LF% на 15%, LF на 64%,** что может свидетельствовать о снижении симпатического тонуса. Снижение индексов TP на 63%, CV на 36%, HF на 53%, также свидетельствуют о снижении симпатических влияний. При снижении симпатического тонуса не наблюдали активации парасимпатических влияний, это свидетельствует о сниженных адаптационных резервах организма.

1. Готовский Ю.В. Цветовая светотерапия /Ю.В.Готовский, А.П.Вышеславцев, Л.Б.Косарева, Ю.Ф.Перов, М.М.Щрайбан// - М.:ИМЕДИС, 2001.-432с.

ФОТОФИЗИКА ЦВЕТНЫХ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ БЕЛКОВ: РОЛЬ ПРОТОЛИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ ХРОМОФОРА В ПРОЯВЛЕНИИ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ СВОЙСТВ**Photophysics of color fluorescent proteins: on the role of chromophore protolytic state on appearance of fluorescence****Савицкий А.П.¹, Немухин А.В.², Григоренко Б.Л.², Тополь И.³, Миронов В.², Горященко А.С.¹**

¹ Институт биохимии им.А.Н.Баха РАН; 119071, Москва, Ленинский пр., д.33,корп.2, тел.8(495)9546512, apsavitsky@inbi.ras.ru

² Московский Государственный университет им.М.В.Ломоносова, 119991, Москва, Ленинскиегоры, 1/3

³ Advanced Biomedical Computing Center, Information Systems Program, SAIC- Frederick Inc., NCI-Frederick, Frederick, MD 21702-1201, USA

Цветные флуоресцентные белки характеризуются широким диапазоном длин волн возбуждения и флуоресценции при практически неизменной структуре хромофора. При этом третичная структура белка всегда представляет собой β -бочонок, образованный 11 антипараллельными листами. Не менее загадочной является вариация в квантовом выходе флуоресценции белков: при одной и той же структуре хромофора квантовый выход может меняться от 1 до 0. Ключевым процессом в данном случае является возникновение конических пересечений первого возбужденного и основного состояния, возникновение которого чувствительно к малейшим изменениям в структуре ближайших к хромофору аминокислотных остатков. Не менее важным процессом является транс-цис изомеризация хромофора как темновая, так и через возбужденное состояние.

Протолитическое состояние хромофора оказывает существенное влияние на проявление фотофизических свойств флуоресцентных белков. Роль протонирования кислорода гидроксильной группы фрагмента тирозина в структуре хромоформа для проявления флуоресцентных свойств давно и хорошо описано. Нами впервые рассчитано рК пиразолидонового азота в основном и возбужденном состоянии и показана его роль в возникновении темных, не флуоресцирующих состояний белков, а также в транс-цис изомеризации. Изменение рН окружающего цветной белок раствора приводит к появлению сложного динамического равновесия конформационных состояний флуоресцентного белка, в которых по разному проявляются все вышеперечисленные процессы.

**СИНТЕТИЧЕСКИЕ РЕГУЛЯТОРЫ РОСТА ВЛИЯЮТ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ
СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ЛИСТЬЯХ
РАСТЕНИЙ, ПОДВЕРГНУТЫХ ДЕЙСТВИЮ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОРОВ**

**Synthetic growth regulators influence the intensity of free-radical lipid peroxidation
in leaves of plants affected by abiotic stressors**

Сазанова К.А., Башмаков Д.И., Лукаткин А.С.

ФГБОУВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева»,
430005, Саранск, ул. Большевикская, 68
Тел.: +7(8342)32-25-07; факс: +7(8342)32-45-54; e-mail: krissaz@rambler.ru

Растения подвержены действию комплекса стрессовых факторов, которые индуцируют в их клетках свободнорадикальные процессы, приводящие к усилению образования перекисей. Одним из конечных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) является малоновый диальдегид (МДА). Целью работы было изучение влияния обработки семян или растений синтетическими регуляторами роста при действии пониженных положительных температур или ионов тяжелых металлов (ТМ) на интенсивность ПОЛ в листьях молодых растений.

Работу проводили на молодых (7-17 суток) растениях пшеницы, кукурузы и огурца, выращенных в вегетационном опыте. Семена замачивали в растворах регуляторов роста эпина, тидиазурона или цитодефа (от 10 нМ до 1 мкМ) и в качестве стресс-фактора использовали растворы, содержащие ионы ТМ в различных концентрациях, либо растения опрыскивали регуляторами роста и подвергали действию пониженной температуры. После стрессирующего воздействия в листьях растений определяли интенсивность ПОЛ спектрофотометрически по накоплению МДА. Динамику ПОЛ изучали при инкубировании высечек листьев от 1 до 4 ч в растворах, содержащих от 0,1 мкМ до 10 мМ ТМ.

Показано, что ионы ТМ существенно изменяли накопление МДА, чаще в сторону увеличения, но нелинейно в динамике и при разных концентрациях. Увеличение продуктов ПОЛ указывает на серьезные повреждения мембранных липидов, вызванное действием ТМ. В высечках листьев огурца при кратковременной экспозиции на растворах ТМ их влияние на накопление МДА увеличивалось в ряду $Zn = Pb < Cu \leq Ni < Sr$. Образование МДА в листьях пшеницы существенно зависело от ТМ и его концентрации в среде. Регуляторы роста ослабляли негативное действие ТМ. Максимальный эффект по снижению ТМ-индуцированного ПОЛ оказали: Эпин – на фоне Ni и Sr, тидиазурон – на фоне Cu и Ni, цитодеф – на фоне Pb.

В охлажденных листьях огурца и кукурузы интенсивность ПОЛ значительно увеличилась, что указывает на дисбаланс липидного метаболизма и может служить признаком повреждений, вызываемых пониженными температурами. Однако степень интенсификации образования МДА уменьшалась при обработке тидиазуроном и цитодефом.

Таким образом, процессы ПОЛ играют значительную роль в повреждающем воздействии стрессовых факторов на мембраны растений. Однако у растений, обработанных регуляторами роста, интенсивность ПОЛ была заметно снижена. Это означает, что в клетках под влиянием регуляторов роста развиваются процессы, препятствующие активации свободнорадикальной атаки и окислительной деградации мембранных липидов.

ЗАВИСИМОСТЬ АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ ПРОРОСТКОВ РЕДИСА ОТ ВЕЛИЧИНЫ ИНДУКЦИИ СЛАБОГО ПОСТОЯННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ**Dependence of activity of antioxidant enzymes of radish seedlings on magnetic field induction****Сердюков Ю.А., Новицкий Ю.И.**

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН,
127276, Москва, ул. Ботаническая, 35
Тел.: (495) 977-83-33 E-mail yinov@ippras.ru

Изучали действие постоянного однородного магнитного поля (ПМП) с индукцией 185-650 мкТ на антиоксидантные ферменты (супероксиддисмутазу, каталазу и пероксидазу) 3-5 дневных проростков редиса (*Raphanus sativus* L. var. *radicula* D.C.) сорта «Розово-красный с белым кончиком». Растения выращивали на свету при 14-часовом световом дне и освещенности 1000 лк и в темноте. ПМП с индукцией 185, 310, 325, 390, 620 и 650 мкТ создавалось кольцами Гельмгольца диаметром 140 мм. Индукция геомагнитного поля (контроль) составила 35 мкТ.

Обнаружена нелинейная зависимость активности ферментов от величины индукции ПМП. У супероксиддисмутазы в 3-дневных световых проростках максимум активности наблюдался при 185 мкТ (169% от контроля), а минимальные значения в конце исследованного диапазона индукции ПМП (70-90% от контрольных значений). В темновых проростках наблюдалась аналогичная картина, только максимум приходился на 325 мкТ (149% от контроля), а снижение было гораздо значительнее (45-50%). Сходным образом изменялась активность фермента и на 4-е сутки, как на свету, так и в темноте. На 5-й день экспозиции в световых проростках активность СОД практически не изменялась под действием ПМП, а в темновых - происходил рост по мере увеличения индукции поля.

Максимальное значение активности каталазы в 3-дневных проростках наблюдали так же при 185 мкТ на свету (160% от контрольных значений) и при 325 мкТ в темноте (185% от контроля). На 4-е сутки в проростках, выращенных на свету, максимум активности приходился на 310 мкТ (240 % от контроля), минимальные значения - на 35 мкТ (контроль) и 650 мкТ. В темноте активность снижалась, по сравнению с контролем, достигая наименьшего значения при идукции 650 мкТ (40% от контроля). На 5-е сутки снижение, как на свету, так и в темноте происходило в центральной части изучаемого диапазона индукций (60-85% от контрольных значений), а к концу приходил рост, превысивший контроль на 35% и 50% в темноте и на свету соответственно.

На 3-и сутки активность пероксидазы при 185-325 мкТ превышала контроль в 3-4 раза, как в темноте, так и на свету. При более высокой величине индукции значения в обоих случаях не отличались от контрольных. На 4-е сутки определенной тенденции в изменении активности пероксидазы не обнаружено. В темновых проростках на 5-е сутки при 185 и 310 мкТ происходил рост активности (~ на 43% и 57% выше контроля). Аналогичное, но менее интенсивное повышение происходило и в световых проростках, достигая 117% и 136% от контроля. Далее следовало снижение активности, достигавшее минимума при 390 мкТ (56% и 67% от контрольных значений в темновых и световых проростках, соответственно).

Предполагается, что данная нелинейность и наличие нескольких экстремумов, вероятно, связаны с совместным действием исследуемого ПМП с электромагнитным фоном окружающей среды по резонансному механизму.

ГЕОСФЕРА КАК БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ РЕАКТОР ЭВОЛЮЦИИ**Geosphere as the evolution of biotechnology reactor****А.Э.Сидорова, В.А.Твердислов**Физический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова –
Москва, Ленинские горы, 1, стр. 1

Тел.: +7-916-777-99-95; +7-916-606-52-55; e-mail: a.e.sidora@mail.ru; tverdislov@mail.ru

Геобиосфера Земли рассмотрена как эволюционирующая иерархия активных сред, способных сопряжено сменять череду регулярных и иррегулярных структур: от физико-химических до экологических.

Спонтанное возникновение пространственных симметрий/асимметрий в распределении основных химических элементов в биосфере - один из важнейших факторов формирования предшественников живых систем в абиогенной среде.

Сопряжение абиогенных и биогенных активных сред в распределенной глобальной диссипативной системе позволило сформировать единые иерархические системы с выделенными направлениями коэволюционного развития посредством прямых (от геосферы к биоте) и обратных (от биоты) неаддитивных связей. В системе биогеохимических циклов фотосинтез - ключевой элемент сопряжения.

Биосфера - самоорганизующаяся структура, которая через иерархию активных сред в ходе предбиологической и биологической эволюции обрела способность генетически перераспределять информацию. Механизмы эволюции: отбор, перенос генов, конвергенция и дивергенция - направляющие векторы между точками бифуркации. Обязательное условие формирования биоценотической активной среды - наличие конкуренции и симбиоза (прямых и обратных близко- и дальнедействующих связей). Мутации - необходимый этап автокатализа Биоценоз - элементарная единица устойчивого эволюционирования. Движущая сила эволюции биосферы - когерентное взаимодействие в иерархии распределенных активных сред, составленных мозаикой биоценозов.

Термодинамическая неравновесность, нарушение симметрии, нелинейность, бифуркационное развитие - синергетическая база самоорганизации биосферы в моделях активных сред. При повышении уровня сложности системы уменьшается исходное число выделенных степеней свободы, обеспечивающих формирование горизонтальных и вертикальных обратных связей в иерархически сопряженных активных средах, понижается ранг симметрии, изменяется структура системы. Распределенный ресурс системы утилизируется взаимосвязанными нелинейными локальными трансформаторами: для физико-химической системы — это распространяющаяся в пространстве фаза процесса, для биосферы - изменение ареала и генофонда.

Неоднородные активные среды вследствие наличия порогового эффекта могут гасить автоволновые процессы. Среда с локальными неоднородностями может выступать в роли эффективного однонаправленного автоволнового фильтра. Тривиальные ахиральные структуры в однородных активных средах склонны к трансформации в хиральные паттерны в неоднородных средах. Хиральное расщепление имеет необратимый характер. Макроскопическая асимметрия может быть обусловлена пространственным распределением и профилем возбудимости.

УРБОЭКОСИСТЕМЫ КАК АКТИВНЫЕ СРЕДЫ**Urban ecosystems as an active medium****Сидорова А.Э., Мухартова Ю.В.**Физический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова –
Москва, Ленинские горы, 1, стр. 1

Тел.: +7-916-777-99-95; +7-916-498-27-61; e-mail: a.e.sidora@mail.ru; muhartova@yandex.ru

Рассмотрена математическая модель урбоэкосистемы (УЭС) как активной среды, в которой взаимодействуют две подсистемы - природная и антропогенная. Необходимым условием самоорганизации в границах УЭС является соответствие биотических и абиотических факторов масштабам антропогенного воздействия.

УЭС - активные среды характеризуются наличием распределенных ресурсов (энергии, вещества, информации) и модуляторов системных процессов. Для упрощения трехмерная иерархическая структура активных сред рассматривается как нелинейная двумерная. Антропогенные (активатор) и природные (ингибитор) процессы посредством сети прямых и обратных связей формируют длину и форму автоволн. Скорости природных процессов много меньше скоростей антропогенных процессов.

Величина эффективной скорости распространения волны активатора зависит от гетерогенности среды. Мозаичное распределение локальных неоднородностей в УЭС формирует зоны различной возбудимости и барьеры-ингибиторы, что способствует возникновению подпороговых взаимодействий. Порог устойчивости системы связан с суперпозицией малых возмущений в слабовозбудимых зонах и возможным возникновением несимметричного распространения возбуждения.

В зависимости от значений параметров, отвечающих за связь функций ингибитора и активатора, порога возбуждения системы, коэффициентов диффузии и симметрии расположения источников возбуждения (антропогенных и природных) формируются различные автоволновые режимы. Пространственное расположение этих источников и ширина барьеров способствует формированию множественных латентных источников автоволн, туннельных эффектов, «запирания» автоволны и, как следствие, возникновению хаотического режима самоподдерживающихся возбуждений в ограниченной области пространства. Порог возбуждения системы в модели определяется пространственным распределением численности населения в соответствии с кривой Гаусса.

Развиваемый подход дает возможность адекватного описания антропогенных воздействий в возбудимой среде УЭС. Управление параметрами автоволновой среды посредством локальных воздействий активатора может иметь широкие перспективы, особенно в случае слабовозбудимых сред, в которых возможно существование пространственно локализованных импульсов. Внесение внешних локализованных воздействий способно влиять на макроскопическую картину автоволновой динамики самоорганизации УЭС.

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОДУЛЬНЫХ НАНОТРАНСПОРТЕРОВ ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОЙ
НАПРАВЛЕННОЙ ДОСТАВКИ ЭМИТТЕРОВ ЭЛЕКТРОНОВ ОЖЕ
В ЯДРА КЛЕТОК-МИШЕНЕЙ**

**The use of modular nanotransporters for efficient Auger electron emitters delivery
into nuclei of target cells**

Сластникова Т.А.^{1*}, Розенкранц А.А.^{1,2}, Кумариану Е.³, Залутски М.Р.³, Соболев А.С.^{1,2}

1 – Институт биологии гена РАН, 119339, Москва, ул. Вавилова, 34/5;

2 – Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова,
Биологический факультет, кафедра биофизики, 119991, Москва, Ленинские горы

3 – Медицинский центр университета Дюка, 27710, Дюрем, Северная Каролина, США
эл. почта: slacya@gmail.com тел. +7(499)1359902

Физические эффекты, лежащие в основе цитотоксического действия ряда противораковых агентов, распространяются на чрезвычайно коротких – сравнимых с размером субклеточных структур – расстояниях. Для направленной доставки таких агентов в заданный компартмент (ядро) клеток-мишеней мы разработали модульные нанотранспортеры (МНТ), которые состоят из функциональных модулей, обеспечивающих:

- избирательное узнавание клетки-мишени с последующим эндоцитозом, за счёт лигандного модуля к интернализуемому рецептору, сверхэкспрессированному на поверхности клеток опухоли;

- выход из эндосом в цитоплазму за счёт эндосомолитического модуля;

- транспорт в ядро за счёт сигнала ядерной локализации.

Целью работы было исследование эффективности доставки с помощью МНТ эмиттеров электронов Оже, которые в силу своих физических характеристик очень малоэффективны вне клеточного ядра. Для работы были выбраны наиболее изученный и пространственный эмиттер электронов Оже ¹²⁵I, а также ⁶⁷Ga, период полураспада которого (3,2 дня) близок к оптимальному для терапевтических целей. Был использован МНТ, содержащий эпидермальный фактор роста в качестве лиганда к сверхэкспрессированному на клетках многих типов рака рецептору ЭФР. Мечение йодом проводилось при помощи N-сукцинимидил-4-гуадинометил-3-[¹²⁵I]йодобензоата ([¹²⁵I]СГМИБ), дающего меченый продукт, более устойчивый к дейодированию *in vivo* и значительно лучше удерживающийся в клетке, чем белок, йодированный традиционными методами. Для присоединения галлия был выбран хелатирующий агент на основе 1,4,7-триазоциклононан-1,4,7-триуксусной кислоты (НОТА), образующий чрезвычайно стабильный комплекс с галлием. Были подобраны условия проведения реакций мечения, дающие 60-80% выход. Показано, что [¹²⁵I]СГМИБ-МНТ и [⁶⁷Ga]НОТА-МНТ связываются с поверхностью клеток эпидермоидной карциномы человека A431, сверхэкспрессирующими рецепторы ЭФР, и эффективно интернализуются, при этом 50-60% интернализованной радиоактивности обнаружено в ядрах клеток спустя час инкубации. Концентрация радиоактивности в среде, снижающая жизнеспособность клеток до 37% (D₃₇) для [¹²⁵I]СГМИБ-МНТ составляет 2 мКи/мл против 7900 мКи/мл для неспецифического контроля. В случае доставки ⁶⁷Ga значения D₃₇ составляют 9 мКи/мл против 123-462 мКи/мл для двух различных неспецифических контролей. Таким образом, впервые показано, что МНТ перспективны для использования в качестве эффективной системы доставки эмиттеров электронов Оже, усиливая цитотоксический эффект до более, чем 3500 раз.

**ГОМОГЕННЫЙ ИММУНОАНАЛИЗ, ОСНОВАННЫЙ НА БИОЛЮМИНЕСЦЕНТОМ
РЕЗОНАНСНОМ ПЕРЕНОСЕ ЭНЕРГИИ С УЧАСТИЕМ ЛЮЦИФЕРАЗЫ СВЕТЛЯКОВ
*LUCIOLA MINGRELICA***

**Homogeneous immunoassay, based on bioluminescence resonance energy transfer
from firefly luciferase *Luciola mingrelica***

Смирнова Д.В.^{1,2}, Самсонова Ж.В.¹, Осипов А. П.¹, Угарова Н.^{1,2}

1 – Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
119992, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 11;

² – ООО "Люмтек", 119992, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 11

Тел.: +7(495)-939-26-52; факс: +7(495)- 939-26-60; e-mail: S_mir_nova@mail.ru

Одним из перспективных и малоизученных направлений использования биолуминесцентного резонансного переноса энергии (BRET) является гомогенный ИФА, который позволяет значительно упростить схему эксперимента и сократить время проведения анализа. В данной работе была изучена возможность использования люциферазы светляков *L. mingrelica* в гомогенном иммуноанализе для определения низкомолекулярных антигенов на примере прогестерона. Система включала конъюгат термостабильного мутанта люциферазы (4TS) с прогестероном, выступающий в роли донора, и антитела, меченые красителем (акцептор). В качестве акцептора был использован краситель Alexa fluo 610-х, обладающий оптимальным интегралом перекрывания спектра поглощения со спектром биолуминесценции люциферазной реакции и более высоким квантовым выходом флуоресценции по сравнению с циановыми красителями, использованными в работе [1].

В данной работе были оптимизированы условия синтеза конъюгатов люцифераза-прогестерон. Методом гетерогенного сэндвич-ИФА было показано, что полученные конъюгаты сохраняли способность связывать прогестерон. Биолуминесцентная активность конъюгатов зависела от соотношения люцифераза/ прогестерон: возростала от 12 до 63% при уменьшении этого соотношения от 1: 50 до 1: 5 в реакционной смеси. Были синтезированы конъюгаты антител с красителем, содержащие от 3 до 10 молекул красителя на одной молекуле антитела.

Были получены спектры люминесценции для конъюгата люциферазы в отсутствие и в присутствии окрашенных антител при различных концентрациях реагентов. В отсутствие антител наблюдался максимум (590 нм), характерный для биолуминесценции люциферазной реакции. В присутствии окрашенных антител биолуминесценция уменьшалась, и появлялся минимум при 610 нм, соответствующий максимуму поглощения красителя, а так же появлялся пик, при длине волны, соответствующей максимуму испускания красителя (630 нм), который возрастал при увеличении концентрации антител. BRET-сигнал рассчитывали как отношение интенсивности свечения при 630 нм к интенсивности при 610 нм.

Показана линейная зависимость между BRET-сигналом комплекса конъюгат-антитело, меченое красителем, и количеством молекул красителя, приходящегося на 1 молекулу антитела. Выявлена линейная зависимость BRET-сигнала от концентрации антител одной степени окрашивания, а так же установлено, что в присутствии прогестерона BRET-сигнал уменьшался, что может быть использовано для проведения гомогенного ИФА.

Работа поддержана грантом РФФИ 11-04-00624а.

**НЕИНВАЗИВНАЯ ЛАЗЕРНАЯ ФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА
ПАТОЛОГИЧЕСКИХ И ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ.****Noninvasive laser fluorescence diagnostics of pathological and inflammation processes.****Смирнова О. Д., Рогаткин Д. А.**

Государственное Учреждение Московский Областной Научно-исследовательский
Клинический институт (МОНИКИ) им. М.Ф. Владимирского;
129110, Москва, ул. Щепкина, 61/2, тел.: +7 (495) 626-67-00, факс: +7-(495)-681-89-84;
e-mail: smrnovaOksana@ya.ru

Коллаген как эндогенный флюорофор, составляя около 70 % всех белков кожи, может являться маркером структурных патологий ткани при диагностике *in vivo*. В силу высокой мутности и фазовой неоднородности, а также в силу вариации параметров микроциркуляции концентрации других сопутствующих хромофоров, нельзя точно рассчитать концентрацию коллагена в ткани только на основании интенсивности флюоресцентного сигнала. Однако, с учётом измеренных методами лазерной доплеровской флуометрии параметров микроциркуляции, можно выявлять патологические процессы по отклонениям коэффициентов флюоресцентной контрастности для оптически одинаковых и симметричных участков ткани.

На базе комплексных исследований методами лазерной флюоресцентной диагностики и ЛДФ нами было протестировано более 50 пациентов МОНИКИ с такими патологиями как склеродермия, стенозы гортани и клеточно-базалиомный рак. На основе сопоставления спектральных данных оптически однотипных участков кожи было выявлено, что наибольшей информативностью о патологическом нарушении баланса структурных белков является коэффициенты их флюоресцентной контрастности. По нашим данным, дисплазии характеризуются в $1,5 \div 3$ раза меньшим значением коэффициента контрастности для флюоресценции на длине волны 420 нм и в $1,5 \div 2$ раза ниже – при 440 нм. При стенозах гортани рубцовая ткань обладает в $2 \div 3$ раза меньшими значениями коэффициентов флюоресцентной контрастности как для коллагена при 420 нм, так и при 440 нм и 460 нм, где вклад во флюоресценцию вносит также кератин. В последнем случае отмечено также ещё большее снижение контрастности для порфиринов и липофусцина. В случае склеродермии оптическая плотность тканей принципиально оказывается иной, отмечается только увеличение порфиринового индекса.

Моделирование ишемической окклюзии на крысах уже через 15 минут после перекрытия кровотока выявило в 2-3 раза флюоресценции на длине волны 632 ± 2 нм, что, согласно литературным данным, характеризует увеличение концентрации «свободных» порфиринов. Спустя неделю в прилегающих интактных областях было отмечено также повышение флюоресценции в полосе $510 \div 560$ нм, что соответствует флюоресценции флавинов. Коэффициенты флюоресцентной контрастности для коллагена и NADH в зоне воспаления имели значения в $1,3 \div 1,5$ раза выше, чем в интактных тканях.

Таким образом, представление данных лазерной флюоресцентной диагностике в виде относительных коэффициентов флюоресцентной контрастности весьма информативно и продуктивно в диагностике патологических состояний тканей.

**НАНОМЕДИЦИНСКИЕ СРЕДСТВА ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ДОСТАВКИ
ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ, ПОРАЖАЮЩИХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ ОПУХОЛИ****Nanomedical vehicles for targeted intracellular delivery of tumor-damaging
physical factors****Соболев А.С.**

Институт биологии гена РАН, 119339, Москва, ул. Вавилова, 34/5;
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Биологический факультет, каф. биофизики, 119991, Москва, Ленинские горы.
Тел.: (499) 135-3100, e-mail: sobolev@igb.ac.ru

В последнее время всё больший интерес приобретают такие цитотоксические физические факторы, которые действуют на малые расстояния, тем самым не повреждая «немишенные» клетки, и в течение короткого, лучше всего – наперед заданного времени. Примером могут служить: 1) фотосенсибилизаторы (ФС), генерирующие активные формы кислорода с пробегом не более 40 нм лишь пока они возбуждаются светом нужной длины волны; 2) короткоживущие радионуклиды, испускающие электроны Оже (с пробегом 5-20 нм) или альфа-частицы (с пробегом в десятки мкм); 3) нейтрон-захватная терапия, в ходе которой – пока идет облучение нейтронами – происходит ядерная реакция с образованием альфа-частиц. В большинстве этих случаев необходима доставка действующего начала в наиболее чувствительный компартмент клетки – ядро, иначе эффективность воздействия будет снижена или сведена к нулю.

Для доставки такого рода физических факторов нами разработаны модульные нанотранспортеры (МНТ), состоящие из: 1) лигандного модуля, «узнающего» клетки-мишени и способствующего поглощению МНТ этими клетками, 2) модуля, способствующего выходу МНТ из мембранных пузырьков, где оказывается МНТ после поглощения клетками, 3) модуля с аминокислотной последовательностью ядерной локализации для доставки МНТ в ядро клетки-мишени и 4) модуля-носителя. Эти модули, взятые из разных природных молекул, сохраняют свои функции в составе МНТ – химерной искусственной макромолекулы размером около 10 нм. ФС, доставляемые МНТ в раковые клетки *in vitro*, оказываются в 300-3000 раз более эффективными по сравнению со свободными ФС; кроме того, ФС в комплексе с МНТ приобретают клеточную специфичность, которой нет у свободных ФС. Сходные результаты были получены и при использовании эмиттеров электронов Оже и альфа-частиц.

После внутривенного введения накапливаются МНТ в опухолевых клетках, а в них – преимущественно в ядрах. Доставка ФС с помощью МНТ значительно повышает эффективность их действия *in vivo*. ФДТ эпидермоидной карциномы человека, привитой мышам *nude*, с применением МНТ для доставки ФС, вызывает значительную задержку роста опухоли и обеспечивает значительно большую выживаемость мышей с опухолями, чем свободный ФС. Сходные результаты были получены для двух типов меланом на 2-х других линиях мышей. Высокая эффективность терапии с применением различных МНТ *in vivo* позволяет говорить о возможности применения подобного рода транспортеров для применения в клинике.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЦЕРУЛОПЛАЗМИНА И ТРОМБИНА

Interaction between ceruloplasmin and thrombin

Соколов А.В.¹, Костевич В.А.¹, Захарова Е.Т.¹, Аквасальенте Л.², Де Филиппис В.²,
Васильев В.Б.¹

¹ – ФГБУ «НИИ экспериментальной медицины» СЗО РАМН,
197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12;

² – Университет г. Падуя, Италия

Тел. +7(812)234-56-06, e-mail: vadim@biokemis.ru

Чрезвычайная чувствительность медьсодержащей оксидазы плазмы крови церулоплазмина (Ср, 132 kDa) к действию протеиназ приводит к постепенной деградации препарата с образованием протеолитических фрагментов. Фрагментированный Ср не обладает рядом антиоксидантных свойств интактного белка, таких как активность глутатион-зависимой пероксидазы; ингибирование прооксидантов – миелопероксидазы (Мрo) и 5-липоксигеназы; загрузка в ферритин ионов железа по безрадикальному пути. Протеиназа, деградирующая Ср в плазме и его препараты при хранении до сих пор оставались неизвестной. Изучая образцы синовиальной жидкости больных ревматоидным артритом, содержавших недеградированный 132 kDa Ср, мы не выявили активности тромбина (FIIa) и Мрo. Напротив, они были активны в образцах, не содержащих 132 kDa Ср. Известно, что Ср – эволюционный родственник факторов свертывания крови V и VIII, являющихся субстратами тромбина (FIIa). Нами была высказана гипотеза об участии FIIa в деградации Ср. Рекомбинантные ингибиторы FIIa, гирудин 2 (HM2) и его фрагмент (1-43), полностью блокировали деградацию Ср в сыворотке крови при ее хранении в стерильных условиях. Проведённая масс-спектрометрия показала, что FIIa, осуществляя ограниченный протеолиз Ср, вызывает образование набора фрагментов, идентичных фрагментам «спонтанного протеолиза» при хранении препаратов Ср, описанного ранее независимо несколькими группами.

Выделение препарата Ср из плазмы крови человека с помощью разработанного нами двухстадийного метода, включающего ионообменную хроматографию на UNO-Sphere Q и аффинную хроматографию на неомицин-агарозе, позволяет отделить от Ср примеси протромбина (FII) и FIIa. Однако эффективное разделение происходит только при элюции белков с аффинного сорбента градиентом хлористого кальция. Учитывая сказанное выше, мы предположили возможность взаимодействия Ср и FIIa. При титровании меченного флуоресцеином фрагмента гирудина (54-65) рекомбинантным мутантным FIIa (S195A), происходило дозо-зависимое падение флуоресценции за счет взаимодействия фрагмента гирудина с экзосайтом I в FIIa. Добавление Ср в эту систему приводило к увеличению флуоресценции, что свидетельствует о вытеснении Ср меченного фрагмента гирудина из комплекса с FIIa. В контрольных опытах добавление Ср к меченному фрагменту гирудина не вызывало падения флуоресценции. Константа диссоциации Ср-FIIa приближается к 1 мкМ.

Работа поддержана грантами РФФИ (10-04-0820, 12-04-00301) и грантом президента РФ МК-1484.2012.4.

**ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ ЗВЕНЬЕВ
В ИСКУССТВЕННЫХ ЭКОСИСТЕМАХ****Ecological role of different types of interactions of links in artificial ecosystems****Сомова Л.А., Письман Т.И., Михеева Г.А.**

Институт Биофизики СО РАН, Академгородок, Красноярск-36;
Сибирский Федеральный университет, Россия.
Тел. 89504152861, e-mail: lidsomova@mail.ru

Развитие экосистемы, ее устойчивость, выживаемость входящих в экосистему организмов, требует изучения механизмов биорегуляции, основанных на эколого-биохимических взаимодействиях звеньев экосистемы.

В простых наземных и водных экосистемах были изучены основные типы взаимоотношений между организмами.

1. В экспериментах с агроценозами было исследовано взаимовлияние микробиоценозов и растений. Микробиоценоз, созданный для повышения продуктивности растений, был создан с учетом трофических и метаболических взаимоотношений между видами микроорганизмов.

2. Изучена экспериментальная модель замкнутой по газу системы «автотроф – гетеротроф», в которой гетеротрофное звено является смешанной популяцией дрожжей (*Candida utilis* и *Candida guilliermondii*). В качестве автотрофа использованы водоросли *Chlorella vulgaris*. Показано, что исход конкуренции в гетеротрофном звене зависит от стратегии популяций дрожжей по отношению к субстрату и кислороду.

3. В результате экспериментального и теоретического моделирования конкуренции микроводорослей *Chlorella vulgaris* и *Scenedesmus quadricauda* при непрерывном культивировании показана невозможность их сосуществования в условиях лимитирования по азоту.

4. В замкнутой экосистеме были изучены конкурентные взаимоотношения между водорослями (*Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus quadricauda*) и взаимодействие (хищник-жертва) между водорослями и простейшими

**ВЛИЯНИЕ ДИЕТЫ НА ИНДУКЦИЮ АДАПТИВНОГО ОТВЕТА И РОСТ АСЦИТНОЙ
КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА У МЫШЕЙ,
ОБЛУЧЁННЫХ РЕДКО - И ПЛОТНОИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИЕЙ**

**Effect of diet on the induction of adaptive response and the growth of Ehrlich ascite
carcinoma in mice exposed to a low - and high-LET radiation**

**Сорокина С.С.¹, Заичкина С.И.¹, Розанова О.М.¹, Аптикаева Г.Ф.¹, Смирнова Е.Н.¹,
Романченко С.П.¹, Дюкина А.Р.¹, Вахрушева О.А.¹, Шемяков А.Е.¹, Балакин В.Е.²**

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

² – Физико-технический центр Физического Института Академии Наук им. Лебедева,
г. Протвино,

Тел.: +7 (4967) 73-94-39; факс: +7 (4967) 33-05-5; e-mail: sv0723@yandex.ru

В последнее время особый интерес вызывают исследования биологического действия малых доз плотнoионизирующих излучений в связи с поиском новых видов излучений для более эффективной терапии рака и возможных способов защиты. Целью настоящей работы является изучение влияния специальной диеты на рост асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ), радиочувствительность и индукцию адаптивного ответа (АО) у мышей, облучённых редко- и плотнoионизирующей радиацией.

Исследования проводили на 2-месячных самцах мышей линии ШНК. Животных облучали низкоинтенсивным плотнoионизирующим излучением (НПИ) в дозе 11.6 сГр (0.5 сГр/сут) за верхней бетонной защитой ускорителя заряженных частиц с энергией 70 ГэВ (г. Протвино) и рентгеновским излучением на установке РУТ (1 Гр/мин). В состав диеты были включены продукты, содержащие большое количество биологически активных веществ: соевое мясо, гречневая крупа, листья салата и аптечный препарат рыбьего жира. Отношение количества добавки продукта к стандартному корму были подобраны нами экспериментально. Одну группу мышей кормили исследуемыми продуктами во время всего периода облучения НПИ (22 дня), а другая группа получала только диету. Для определения радиочувствительности, сразу после облучения, мышей из обеих групп подвергали рентгеновскому облучению в дозе 1.5 Гр, а для индукции АО - по стандартной схеме - 10сГр+1.5Гр. Солидную опухоль формировали путём внутримышечной трансплантации АКЭ в количестве $1.5 \cdot 10^6$ клеток в заднюю лапку мыши. Измерение объема опухоли осуществляли в течение месяца. Критерием определения уровня цитогенетических повреждений служил процент полихроматофильных эритроцитов (ПХЭ) с микроядрами в костном мозге. На каждую экспериментальную точку брали не менее пяти мышей и подсчитывали не менее десяти тысяч ПХЭ. При проверке статистической достоверности различий между группами пользовались критерием Стьюдента.

В результате проведённых экспериментов было обнаружено, что пищевая диета, содержащая соевое мясо, гречневую крупу и зелень, в отличие от рыбьего жира, уменьшает чувствительность мышей к рентгеновскому излучению в дозе 1.5 Гр, т.е. индуцирует АО, не влияет на величину радиационного АО по стандартной схеме и вызывает достоверное торможение роста АКЭ. Сочетанное действие НПИ и данной диеты (кроме рыбьего жира) уменьшает чувствительность мышей к облучению в дозе 1.5 Гр, индуцирует АО и вызывает торможение роста АКЭ в отличие от мышей, облучённых только НПИ в дозе 11.6 сГр, при которой перечисленные эффекты отсутствуют.

ДЕЙСТВИЕ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР НА ПИГМЕНТНЫЙ СОСТАВ И ТЕПЛОВУЮ ДИССИПАЦИЮ СВЕТОВОЙ ЭНЕРГИИ У РАСТЕНИЙ *EPHEDRA MONOSPERMA***The effect of low temperatures on pigment composition and thermal dissipation of light energy in *Ephedra monosperma*****Софронова В.Е.**

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН,
677980, Якутск, проспект Ленина, 41;
Тел.: +7(411)233-56-90; факс: +7(411)233-58-12; e-mail: vse07_53@mail.ru

Провели сравнительное изучение пигментного состава, параметров флуоресценции хлорофилла (Фл Хл) в летнезеленых, осенних и зимних молодых побегах растений эфедры односемянной. Одновременно проводили мониторинг температуры воздуха, освещенности. По наблюдениям за 2009 – 2011 гг. при формировании морозоустойчивого состояния содержание Хл ($a + b$), β -каротина в побегах уменьшается на 33.9-36.7 и 46.4-50.6% соответственно, а отношение Хл/Каротиноиды с 3.8 до 2.7. Падение уровня хлорофиллов и β -каротина отмечается в первую (+2 - + 10°C) и вторую фазы (-2 - -15°C) закалывания растений. В период первой фазы закалывания происходило появление и рост содержания нефотосинтетического вторичного каротиноида родоксантина (Rhd), не передающего энергию возбуждения на молекулы Хл. Его максимальный уровень (10.4-11.2 % от суммы Кар) достигался к началу второй фазы закалывания.

Используя измеренные параметры Фл Хл, рассчитывали: 1) максимальную фотохимическую активность ФС II как F_v/F_m ; 2) долю тепловой диссипации поглощенного ФС II света (D) по уравнению $D = 1 - (F_v/F_m)$ в зависимости от температурно-световых условий. Значение F_v/F_m снижалось с 0.81 до 0.35 в диапазоне температур +9 - -6°C в светлое время суток. Дальнейшее снижение температуры до -30-45°C практически не влияло на значения F_v/F_m . В период формирования морозоустойчивого состояния доля тепловой диссипации (D) возрастает почти в два раза и достигает максимального уровня (65-67 %) при -4.6±4.0 и -7.4±4.7°C в светлое и ночное время суток соответственно. Существенное повышение пула пигментов виолаксантинового цикла (ВКЦ), степени их дезпоксидации в 3.1 раза по сравнению с летними значениями при дневных и ночных температурах 0.4±4.3 и -2.0±4.6°C, позволяет нефотохимическому тушению, ассоциированному с ВКЦ, отводить роль как одного из основных составляющих регуляторного компонента (D_{REG}) тепловой диссипации. При наступлении отрицательных температур возрастали также значения параметра $Y(NO)$ - квантового выхода нерегулируемого рассеяния энергии в виде Фл и нефотохимического тушения, кроме тушения вызванного рассеиванием энергии возбужденного антенного Хл. Эффективным дополнением тепловой диссипации является накопление Rhd, задерживающего значительную часть ФАР в зеленой области спектра и экранирующего хлоропласты [1], а также исключение прямого действия солнечной инсоляции в зимний период снежным покровом.

ТРОМБОДИНАМИКА В НОРМЕ И ПРИ НАРУШЕНИЯХ В СИСТЕМЕ СВЕРТЫВАНИЯ**Thrombodynamics in normal and pathological states of coagulation system.**

Сошитова Н.П.¹, **Баландина А.Н.**³, **Липец Е.Н.**², **Полохов Д.М.**², **Васильев С.А.**^{1,2},
Зиннатуллина Э.Т.⁴, **Жданов Р.И.**⁴, **Пантелеев М.А.**^{1,3}, **Атауллаханов Ф.И.**^{1,2,3}

¹ – ООО «ГемаКор», 125319, Москва, 4-я улица 8 Марта, д.3;

² – Гематологический научный центр МЗСР РФ,
125167, Москва, Новый Зыковский проезд, 4;

³ – Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН,
119991, Москва, Ленинский просп., 38А, к.1;

⁴ – Институт фундаментальной медицины и биологии, Казанский Федеральный
Университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18.
Тел.: +7(495)258-25-38; e-mail: mail@hemacore.com

Рост фибринового сгустка *in vivo* пространственно неоднороден. Диффузия факторов свертывания и автоволновое распространение тромбина – важные компоненты, регулирующие этот процесс. Эта особенность свертывания была учтена в методике наблюдения за ростом фибринового сгустка в пространстве, которая легла в основу нового теста состояния системы свертывания крови - Тромбодинамики.

Целью данного исследования было сравнить результаты Тромбодинамики в образцах плазм здоровых добровольцев и больных с гипо- и гиперкоагуляцией.

Ключевым принципом теста Тромбодинамики является регистрация сигнала светорассеяния от растущего фибринового сгустка в неперемешиваемом тонком слое свободной от тромбоцитов плазмы, содержащей ингибитор контактной активации. Активация свертывания в тесте производится иммобилизованным на поверхности тканевым фактором. В исследование было включено 37 здоровых добровольцев, 10 больных с ишемической болезнью сердца на гепаринотерапии и 48 больных лимфомой Ходжкина на химиотерапии. Гипо- и гиперкоагуляция во второй и третьей группах была подтверждена показателями теста времени свертывания (отличие от нормы в 2-2.5 и 0.7 раза, соответственно).

В работе определялись следующие параметры Тромбодинамики: время задержки роста сгустка (Tlag), **стационарная скорость роста сгустка (Vst), наличие/отсутствие спонтанных сгустков** в объеме плазмы (показатель гиперкоагуляции). **Vst и спонтанные сгустки** – принципиально новые параметры, появившиеся при учете неоднородности процесса. Гомогенные тесты моделируют поведение системы вблизи активатора и не дают представление о дальнейшем ее поведении. Tlag не отличался между группами. Vst отличалась ($p < 0.05$), средние значения \pm стандартное отклонение равны: 24 ± 3 мкм/мин (здоровые добровольцы), 5.5 ± 1.8 мкм/мин (гипокоагуляция), 30 ± 9 мкм/мин (гиперкоагуляция). Спонтанные сгустки отсутствовали в норме и при гипокоагуляции, но они образовывались у 40% больных с гиперкоагуляцией.

Наиболее чувствительными параметрами Тромбодинамики к состояниям гипо- и гиперкоагуляции являются скорость роста сгустка и спонтанные сгустки. Полученные данные свидетельствуют о том, что пространственно-распределенные экспериментальные модели свертывания крови имеют хороший диагностический потенциал.

Работа была частично поддержана грантами РФФИ 11-04-00303, 11-04-12080, 12-04-00652-а, 12-04-00438-а, 12-04-00111-а и программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине», «Молекулярные механизмы физиологических функций».

КАЛЬЦИЙ КАК МОДУЛИРУЮЩИЙ ФАКТОР ПРИ МОРФОГЕНЕЗЕ КОЛОНИЙ ГРИБОВ-БИОДЕСТРУКТОРОВ**Calcium as modulating factor for morphogenesis of biodestructing fungi colonies****Стручкова И.В., Безухова О.В.**

Нижегородский государственный университет им.Н.И.Лобачевского,
Н.Новгород, пр.Гагарина, 23, корп. I
Тел: +7(910)8818822; факс:+7(831) 465-61-04; e-mail: bezuhova.olga@gmail.com

Тип пространственной упорядоченности мицелия микроскопических грибов напрямую связан с интенсивностью выделения экзометаболических веществ, участвующих в деструкции промышленных материалов. В качестве условий, включающих определенный режим морфогенеза грибных колоний - от "сплошного газона" до кольцевых зон - различными авторами рассматривались температура, pH среды, концентрация доступного источника углерода и ряд других внешних параметров, но не концентрация кальция в среде роста микроорганизмов. В то же время кальций является компонентом многих промышленных материалов, поражаемых грибами-биодеструкторами. Его функции внутри грибной клетки и при вытяжении гиф чрезвычайно многообразны. В связи с этим мы исследовали тип морфологических паттернов колоний микроскопических грибов-биодеструкторов *Trichoderma viridae* и *Fusarium moniliforme*, формирующихся под влиянием различных концентраций экзогенного кальция, вносимого в виде CaCl_2 в твердую питательную среду до конечной концентрации 0,025 - 5%.

Установлено, что у *T.viridae* максимальная скорость роста колоний наблюдалась при 0,025% и 0,5% CaCl_2 , у *F.moniliforme* – при 0,25%. Концентрации 2,5 и 5% замедляли рост грибов. При 1-5% CaCl_2 и 28°C в колонии *T. viridae* образовывались зоны – кольца из мицелия разной плотности с разной степенью пигментированности среды под ним. Рост при 20°C способствовал у *T. viridae* формированию зон начиная с 0,25%. При увеличении концентрации CaCl_2 в ряду 0,25; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0% ширина плотных колец в колониях *T.viridae* убывает в 1,3 – 1,5 раза с каждой сменой концентрации.

У *F. moniliforme* при температуре 28°C ни одна из вводимых нами концентраций CaCl_2 образования кольцевых структур не вызвала. Снижение температуры культивирования до 20°C вызвало переход к зонообразованию при концентрациях кальция 1%; 2,5%; 5%.

Полученные результаты могут быть использованы для формирования морфологии мицелия, обладающей определенной ферментативной активностью.

**АЛЬТЕРАЦИИ СТРУКТУРЫ ЦИТОПЛАЗМЫ КЛЕТОК РАСТИТЕЛЬНЫХ ОБЪЕКТОВ
В ДИАПАЗОНЕ ГИПЕРФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ДАВЛЕНИЙ.****Alterations of plant cells cytoplasm structure under hyper physiological pressure.****Суслов М.А., Абдрахимов Ф.А., Анисимов А.В.**

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН,
420111, Казань, ул. Лобачевского, 2 а/я 30
Тел: +7(843)2927347, +7(843)2927535; факс: +7(843)2927347; e-mail: makscom87@mail.ru

В оптимальных условиях произрастания растений величина их внутриклеточного давления варьирует в диапазоне 0.3-0.8 МПа. Повышение давления до 1.3-2.0 МПа и более в условиях стресса, в частности обезвоживания, приводит к существенным альтерациям в физиологии растительных организмов вплоть до их гибели в результате метаболических нарушений.

Анализировали изменение организации клеток корня при повышении гидростатического давления до 2-4 МПа, которое создавалось с помощью пневмосистемы, состоящей из баллонов сжатого воздуха, редуктора давления, электроклапанов подачи и сброса давления, объединенных пневмомагистралями с камерой давления. В последнюю помещались сегменты корневых проростков кукурузы 7-дневного возраста. Фиксация образцов для электронной микроскопии проводилась непосредственно в камере после выдерживания образцов под давлением (30 мин) или после его сброса до атмосферного.

При давлениях 2 МПа наблюдали кластеризацию элементов эндоплазматической сети с образованием участков эргастоплазмы. Увеличение в цитоплазме числа мелких вакуолей и мультивезикулярных структур, а на транс стороне диктиосом везикул с электронно-плотным содержимым сопровождалось редукцией электронной плотности мембраны тонопласта и уменьшением в вакуолях количества осмиофильных включений, что указывает на торможение трафика в мембранной системе растительных клеток. Ингибирование внутриклеточного везикулярного транспорта проходило на фоне просветления матрикса митохондрий. Повышение гидростатического давления до 4 МПа существенно не влияло на характер структурных изменений, но приводило к нарушению целостности мембраны центральной вакуоли. При сбросе гидростатического давления до атмосферного частота мембранных структурных нарушений была пропорциональна разнице давлений: минимальной при сбросе от 2 до 0 МПа и максимальной при сбросе от 4 до 0 МПа. Ни в одном из вариантов не выявлялось нарушение целостности плазмалеммы, что подтверждалось окраской Эвансом голубым. Заключение, что структурная организация клеток отвечает на внешнее давление, по крайней мере, в области выше верхней границы физиологических значений, и одной из мишеней давления является эндомембранная система.

Работа поддержана грантом РФФИ № 08-04-01258

ВЛИЯНИЕ ВЯЗКОСТИ НА ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТЬ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ БИФЕРМЕНТНОЙ СИСТЕМЫ NAD(P)H:FMN-ОКСИДОРЕДУКТАЗА-ЛЮЦИФЕРАЗА**Сутормин О.С.¹, Суковатая И.Е.¹, Кратасюк В.А.^{1,2}**

1 – Сибирский федеральный университет, 660049, Красноярск, пр. Свободный, 79

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

Тел.: +7(391)206-23-07; факс: +7(391)206-21-65; e-mail: sutormin.oleg@yandex.ru

В настоящее время большое внимание уделяется развитию физико-химических основ биолюминесцентного анализа, расширению области использования биолюминесцентного анализа, повышению активности и чувствительности люцифераз. Например, было показано, что вязкая среда стабилизирует сопряженную бактериальную биферментативную систему NAD(P)H:FMN-оксидоредуктаза-люцифераза, так же значение константы Михаэлиса повышается с увеличением концентраций органических растворителей [1]. В данной работе определены кинетические и термодинамические параметры биолюминесцентной биферментной системы, изучен механизм термоинактивации NAD(P)H:FMN-оксидоредуктаза-люцифераза в присутствии глицерина и сахарозы, а так же проведены флуоресцентные исследования влияния вязких сред на конформацию исследуемых ферментов.

Полученные результаты показали, что увеличение вязкости реакционной среды, путем увеличения концентраций глицерина и сахарозы, приводит к увеличению термостабильности биферментной системы. Термоинактивация биферментной системы в моделях повышенной вязкости описывается уравнением первого порядка. Константа скорости инактивации первого порядка уменьшается, следовательно, стабильность ферментов увеличивается, с увеличением вязкости реакционной среды для исследуемых экспериментальных моделей одинаково и не зависит от природы растворов, которыми варьируется вязкость.

В экспериментальной модели в присутствии различных концентраций глицерина при высоких температурах происходит уменьшение времени жизни долгоживущего интермедиата ферментативной реакции, а в экспериментальных моделях с сахарозой - увеличение. Величина энергии активации зависит не только от вязкости реакционной среды, но и от природы растворов, которыми варьируется вязкость. Сахароза является эффективным протектантом биферментной бактериальной биолюминесцентной системы от термоинактивации.

По флуоресцентным характеристикам ферментов входящих в состав биферментной системы, сделан вывод об отсутствии значительных конформационных изменений их структуры в исследуемых вязких средах.

Работа подготовлена по мега-проекту «Биолюминесцентные биотехнологии» (договор № 11.G34.31.0058) в рамках Постановления Правительства РФ № 220 от 9 апреля 2010 г. «О мерах по привлечению ведущих ученых в российские образовательные учреждения высшего профессионального образования».

1. Sukovataya IE, Tyulkova NA. Kinetic analysis of bacterial bioluminescence in water-organic media. Luminescence 2001; 16: 271-273.

**КОНФОРМАЦИОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В АЛЬБУМИНЕ, ИНДУЦИРОВАННЫЕ
ИЗМЕНЕНИЕМ pH: ИЗУЧЕНИЕ С ПОМОЩЬЮ РАЗРЕШЕННОЙ ВО ВРЕМЕНИ
ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ**

**Conformational changes in albumin induced by pH change: study by time resolved
fluorescent spectroscopy**

Т.И. Сырейщикова¹, Г.Е. Добрецов², Н.В. Смолина², В.П. Свербиль¹, А.А. Комар¹

¹Физический институт им. П.Н.Лебедева РАН

²ФГБУН НИИ физико-химической медицины Фед.Медико-биол.агентства РФ
Тел.: +7(499)135-85-32; факс: +7(499)135-78-80 ; e-mail: syrej@sci.lebedev.ru

Сывороточный альбумин человека (САЧ) отвечает за связывание, распределение и метаболизм большинства лигандов в системе кровообращения. При ряде патологических процессов происходит изменение конформации молекулы САЧ. Эти изменения детектируются флуоресцентным зондом К-35. Для понимания связи между конформацией и физико-химическими свойствами САЧ, с одной стороны, и флуоресценцией К-35, с другой стороны в данной работе индуцировали изменения молекулы САЧ путем изменения pH. Определяющий вклад в интенсивность флуоресценции зонда вносят молекулы, связанные с альбумином в 1-ом лекарственном центре (субдомен IIa). **Изменение конформации САЧ приводит к перестройке окружения зонда и к изменению характера его свечения.** Измерения проводились на установке ФИАН с пикосекундным лазером и регистрацией кинетики затухания флуоресценции зонда К-35 в пикосекундной области. Использовался препарат обезжиренного сывороточного альбумина (САЧ) в фосфатном буфере.

Ранее [1] было показано, что кинетика затухания флуоресценции зонда К-35 в САЧ является гетерогенной и с хорошей точностью аппроксимируется суммой трех экспонент с тремя различными временами затухания (9, 3 и 1нс). Выполненные измерения и применение метода амплитудного анализа позволили получить новую информацию о связывании зонда с молекулой САЧ при pH от 2,6 до 11,3. Показано, что возрастание интенсивности флуоресценции зонда К-35 при кислотном N-F переходе происходит в основном за счет молекул зонда, имеющими время затухания 9 нс. В **F-конформации альбумина эти молекулы имеют предельно высокий квантовый выход флуоресценции (0,68), и их число возрастает в 1,7 раза по отношению к N-конформации при pH 7.** Из литературы известно, что **F-конформация САЧ характеризуется максимальным растягиванием молекулы.** Наши данные дают возможность предположить, что такое растягивание молекулы альбумина приводит к возрастанию связывающих свойств гидрофобного кармана.

Показано, что возрастание интенсивности флуоресценции при щелочном **N-B переходе** происходит в основном за счет увеличения числа молекул зонда, связанных с альбумином во всех 3-х временных центрах в 1,9, 2.4 и 2,7 раз соответственно. Времена затухания флуоресценции зонда при этом не меняются с точностью лучшей 0,1 нс. Это согласуется с данными литературы об уменьшении жесткости молекулы альбумина и увеличении связывания лигандов.

1.Добрецов Г.Е., Сырейщикова Т.И., Грызунов Ю.А., Смолина Н.В., Комар А.А. Биофизика, 2010, т. 55, вып.2, с.213-219.

АНАЛИЗ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА И КОЛЕБАНИЙ СКОРОСТИ КОЖНОГО КРОВОТОКА В УСЛОВИЯХ ГЛУБОКОГО КОНТРОЛИРУЕМОГО ДЫХАНИЯ**Analysis of heart rate variability and skin blood flow oscillations under conditions of deep controlled breathing****Танканга А.В.¹, Красников Г.В.², Тюрина М.И.², Пискунова Г.М.², Чемерис Н.К.^{1,2}**

¹ – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биофизики клетки Российской академии наук, 142290, Московская обл., г. Пущино, ул. Институтская, д. 3

² – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н.Толстого», 300026, г. Тула, пр. Ленина, д. 125
Тел.: +7(4967)73-91-98; факс: +7 (4967)330509; e-mail: tav@icb.psn.ru

Цель работы – исследование эффектов контролируемого глубокого дыхания на колебательные характеристики variability сердечного ритма (ВСР) и микроциркуляторного кровотока кожи человека. В исследовании принимали участие 29 условно-здоровых нормотензивных некурящих девушек 18-25 лет нормального телосложения. Параметры ВСР регистрировали с помощью комплекса CONAN-m (InCo, Россия). Параметры кровотока регистрировали двухканальным лазерным доплеровским флоуметром ЛАКК-02 (ЛАЗ-МА, Россия) в коже предплечья и подушечки пальца кисти. Глубину, форму и частоту дыхательных движений регистрировали с использованием ленточного датчика, закрепленного на грудной клетке испытуемых. Аналоговый сигнал датчика оцифровывали посредством АЦП E-154 (L-Card, Россия) и выводили на монитор компьютера. Испытуемые, управляя глубиной, формой и частотой экскурсий грудной клетки, визуально совмещали показания с грудного пневмографического датчика (собственную кривую дыхания) с эталонной кривой (синусоида с задаваемыми амплитудой и частотой), демонстрируемой на мониторе. Регистрировали 7 последовательных 5-ти минутных серий: первую при естественном ритме дыхания, последующие шесть – в режиме управляемого дыхания с частотами 0.25, 0.16, 0.11, 0.07, 0.05 и 0.03 Гц. Для всех частот контролируемого дыхания глубина дыхания была фиксированной и составляла 40% от индивидуальной максимальной величины экскурсии грудной клетки, измеренной в ходе процедуры оценки жизненной емкости легких. Анализировали амплитудно-частотные спектры зарегистрированных сигналов. В режиме управляемого дыхания для всех используемых частот дыхательного ритма спектры пневмограмм представлены единственным пиком с частотой, соответствующей частоте эталонного сигнала, что свидетельствует об успешном контроле частоты задаваемого профиля дыхания испытуемыми. Обнаружено, что зависимость амплитуды респираторно-связанного отклика в спектрах сердечного ритма от частоты дыхания может быть описана колоколообразной кривой с центральной частотой 0.1 Гц. Показан колоколообразный характер зависимости амплитуд дыхательных осцилляций кожного кровотока подушечки пальца и предплечья от частоты управляемого дыхания. Для кровотока кожи пальца максимум отклика соответствует частотам дыхания 0.05-0.07 Гц, в то время как для кровотока кожи предплечья – частоте 0.1 Гц. Характер зависимости позволяет предположить пассивный механизм отклика микроциркуляторного русла на контролируемое дыхание.

Работа поддержана грантом РФФИ №12-04-01378.

**ФОТОНИКА ПОЛИМЕТИНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ В КОМПЛЕКСАХ
С БИОМАКРОМОЛЕКУЛАМИ****Photonics of cyanine dyes in complexes with biomacromolecules****Татиолов А.С.¹, Акимкин Т.М.¹, Пронкин П.Г.¹, Панова И.Г.², Ярмолюк С.М.³**¹ – Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН,
119334, Москва, ул. Косыгина, 4;² – Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 119334, Москва, ул. Вавилова, 26;³ – Институт молекулярной биологии и генетики НАНУ,
Украина, 03143, Киев, ул. Заболотного, 150Тел.: +7(495)939-71-71; факс: +7(499)137-41-01; e-mail: tatokolov@mail.ru

Метод спектрально-флуоресцентных зондов – эффективное средство изучения биологических систем. В качестве таких зондов перспективно использование полиметиновых (цианиновых) красителей. С целью разработки новых зондов для биомолекул изучена фотоника карбоцианиновых красителей в комплексах с биомакромолекулами.

Было показано, что 3,3',9-триметилтиакарбоцианин (Суан 2), 3,3'-диметилкарбоцианин (Суан 45) и 3,3'-диэтил-9-метилтиакарбоцианин (DMTC) образуют Н-агрегаты (тримеры) на молекулах гиалуроновой кислоты (НА), что отражается в появлении коротковолновой полосы поглощения с максимумом 440-450 нм в присутствии НА (исходный краситель имеет максимум поглощения при 535-560 нм). По тенденции к Н-агрегации в присутствии НА красители можно расположить в ряд Суан 2 > Суан 45 > DMTC > DTC (DTC - 3,3'-диэтилтиакарбоцианин). Поскольку заметные изменения в спектрах поглощения Суан 2 наблюдаются уже при низких концентрациях НА (порядка 5×10^{-7} моль/л), мы предложили этот краситель в качестве спектрального зонда для обнаружения НА в биологических объектах и успешно его применили для обнаружения НА в стекловидном теле глаза.

Несмотря на сходство структур мономерных единиц НА и хондроитин-4-сульфата (C4S), взаимодействие Суан 2 с этими биополимерами резко различается: его связывание с C4S приводит к длинноволновому сдвигу спектра поглощения и росту флуоресценции. Из математического моделирования роста флуоресценции получена константа связывания K Суан 2 с C4S при различных pH: $K = 5 \times 10^5 - 1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ и $n = 70-230$ (n – число мономерных единиц C4S в комплексе). Зависимость квантового выхода флуоресценции Суан 2 в комплексе с C4S необычна: она достигает минимума (0.24) при pH ~ 7 и максимумов (0.64-0.69) при низком (pH 4.5) и высоком (pH 9.0) значениях pH. Это можно объяснить изменением заряда и конформации биополимера с изменением pH. Таким образом, Суан 2 может служить зондом для конформационных изменений в таких биополимерах.

Изучен также перенос энергии возбуждения между молекулами цианиновых красителей, нековалентно связанных с ДНК.

Методом импульсного фотолиза изучены фотохимические процессы в молекулах полиметиновых красителей в комплексах с биомакромолекулами. Наряду с генерацией триплетного состояния, мы обнаружили необычный эффект роста фотоизомеризации красителей, стимулированного биомолекулами. Эффект объясняется на основе изменения потенциальных поверхностей процесса изомеризации.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 10-03-00647).

ФОТОТЕРМИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПРИ ЛАЗЕРНОМ НАГРЕВЕ ЗОЛОТЫХ НАНОЧАСТИЦ**Photothermal effects induced by laser heating of gold nanoparticles**

**Терентюк Г.С.^{1,2}, Иванов А.В.³, Полянская Н.И.³, Терентюк А.Г.¹, Чумаков Д.С.¹,
Хлебцов Б.Н.⁴, Хлебцов Н.Г.^{1,4}**

¹ – Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского,
Россия, 410012 Саратов, ул. Астраханская, 83;

² – Ульяновский государственный университет,
Россия, 432970 Ульяновск, ул. Л.Толстого, 42

³ – Российский онкологический научный центр им. Н.Н.Блохина РАМН,
Россия, 115478 Москва, Каширское ш., 24

⁴ – Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН,
Россия, 410049 Саратов, просп. Энтузиастов, 13
Тел.: +79272261302; e-mail: vetklinika@front.ru

Цель настоящей работы – исследование фототермических эффектов и пространственно-временного распределения температуры в тканях мышей с привитой опухолью и в модельных суспензиях в зависимости от дозы вводимых наночастиц, их биораспределения и параметров лазерного излучения.

Основные результаты данной работы состоят в следующем:

1. Покрытые ПЭГ наностержни размером 40 X 10 нм через сутки после системного введения их мышам с привитой карциномой Эрлиха накапливаются в опухоли в количестве ~4 мкг/г (1 % от концентрации вводимого препарата). Через сутки после введения концентрация наночастиц максимальна в селезёнке, несколько меньше в печени и превышает концентрацию наночастиц в опухоли в 10 – 15 раз. Содержание золота в здоровой мышечной ткани примерно в 3 – 4 раза меньше, чем в опухоли. Наши результаты подтверждают хороший контраст накопления покрытых ПЭГ наностержней только за счёт пассивного механизма накопления (EPR-эффект).

2. Слишком высокие концентрации наночастиц в опухоли могут приводить к нежелательному эффекту поглощения света в поверхностных слоях и крайне неравномерному выделению тепла. С клинической точки зрения это ограничивает возможности применения интерстициального способа введения наночастиц золота в опухоль при ПФТТ.

3. При одинаковой средней концентрации наночастиц в суспензиях и в опухолевых тканях лазерный нагрев тканей (по данным ИК термографии) происходит более эффективно. Это увеличение оптического нагрева в тканях с введёнными в них наночастицами может быть связано с комплексом причин, включая различие в теплофизических параметрах воды и биоткани, агрегацию наночастиц в тканях и влияние многократного рассеяния в биоткани.

4. Накопление золотых наностержней в количестве 5 – 10 мкг/г в ткани опухоли позволяет снизить плотность мощности лазерного облучения до 1 – 2 Вт/см², что примерно в два раза меньше, чем в случае накопления нанооболочек (4 Вт/см² [14]). С учётом этих данных можно предположить, что золотосеребряные наноклетки также могут быть эффективными термосенсибилизаторами для ПФТТ.

5. По нашему мнению, слабая гипертермия с использованием плазмонных наночастиц неэффективна для лечения опухолей. Более оптимальным является подход, направленный на достижение термодеструкции (термолиза) опухолей за счёт кратковременного быстрого нагрева их до температуры деструкции тканей. В наших экспериментах даже в случае значительного фототермического воздействия на опухолевую ткань её полная резорбция не достигалась, а начиная с 12-го дня после ПФТТ рост опухоли возобновлялся. Эти результаты лишней раз подчеркивают необходимость использования фототермотерапии в комбинации с химиотерапией и лучевой терапией с целью повышения эффективности комплексного лечения.

ДИНИТРОЗИЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ЖЕЛЕЗА, КАК СТАБИЛИЗИРОВАННЫЕ ФОРМЫ NO И РЕГУЛЯТОРЫ ЕГО УРОВНЯ В ОРГАНИЗМЕ МЛЕКОПИТАЮЩИХ**Dinitrosyl iron complexes, as natural stabilized NO forms and regulation factors of NO level in mammalian organism**

Тимошин А.А.¹, Лакомкин В.Л.¹, Дроботова Д.Ю.¹, Цкитишвили О.В.¹, Рууге Э.К.¹, Ванин А.Ф.²

¹ – ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздравсоцразвития России, 121552 Москва, ул. 3-я Черепковская, 15А;

² – ФГБУН «Институт химической физики РАН», 119991 Москва, ул. Косыгина, 4
Тел.: +7(495)414-72-54; факс: +7(495)414-66-99; e-mail: timoshin_a_a@mail.ru

Известно, что моноядерные и биядерные динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) с тиол-содержащими лигандами в организме являются природными депо и переносчиками оксида азота. Целью данной работы являлось исследование влияния введения ДНКЖ с глутатионом на уровни как свободного, так и связанного NO в разных частях организма нормотензивных крыс в условиях как естественного кровообращения, так и при его нарушениях. Для оценки содержания NO применялись спиновые ловушки, а для регистрации парамагнитных спиновых аддуктов NO использовался метод ЭПР. Мониторинг содержания моноядерных ДНКЖ в крови и ткани органов также проводился методом ЭПР по характерному для этих комплексов сигналу при $g=2,03$.

Установлено, что в результате введения ДНКЖ в крови и ткани органов происходило образование этих комплексов, связанных с белками, концентрация которых сразу достигала своих максимальных значений и далее постепенно снижалась, что отражало их распад с высвобождением NO. **В таких условиях регистрировалось увеличение уровня свободного NO в ткани сердца, печени и почки, а также в выдыхаемом воздухе, причём степень увеличения была приблизительно одинаковой для всех исследуемых органов.** При этом пул общего NO (ДНКЖ, S-нитрозотиолы, свободный NO) в наибольшей степени увеличивался в сердце крысы, причём данный эффект существенно превышал рост уровня свободного NO.

В другой части работы изучалось действие ДНКЖ в условиях региональной ишемии и реперфузии миокарда, создаваемых путём наложения и снятия окклюзии передней нисходящей коронарной артерии левого желудочка миокарда. Показано, что в результате введения ДНКЖ происходило как некоторое увеличение уровня свободного NO в ткани интактной зоны сердечной мышцы, так и подавление его гиперпродукции в ишемизируемой области сердца во время окклюзии. Показано, что полученный эффект достигался вследствие образования новых ДНКЖ и накопления этих комплексов, связанных с белками, в условиях ишемии. Далее, в ходе реперфузии ДНКЖ выступали, как перехватчики супероксидных анион-радикалов, в результате чего происходил необратимый распад этих комплексов. В результате подавления гиперпродукции свободного NO и супероксида достигалось кардиопротекторное действие ДНКЖ.

Таким образом, динитрозильные комплексы железа, вводимые внутривенно, способны выполнять роль донора и регулятора уровня свободного NO, а также антиоксиданта, что определяет их гипотензивное и кардиопротекторное действие.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 11-04-00998а.

**КАЛОРИМЕТРИЧЕСКИЙ СЕНСОР ОТКРЫВАЕТ НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ
В ИЗУЧЕНИИ МЕТАБОЛИЗМА ОКСИДА АЗОТА****The calorimetric sensor open new possibilities for studying nitric oxide (NO) metabolism****Титов В.Ю.¹, Иванова А.В.¹, Петров В.А.¹, Крейнина М.В.¹, Болдырихин В.С.¹,
Осипов А.Н.¹, Ванин А.Ф.².**¹ – РНИМУ им. Н.И.Пирогова, 117977, Москва, ул. Островитянова, 1;² – ИФХ РАН им. Н.Н. Семенова, 119991, Москва, ул. Косыгина, 4.*e-mail: vtitov43@yandex.ru*

Разработанный нами высокоспецифичный ферментный сенсор основан на уникальном свойстве нитрозосоединений ингибировать фермент каталазу в присутствии галоид-ионов и на утрате ими этого свойства под действием определенных химических агентов, различных для каждой группы соединений. Других эффективных ингибиторов каталазы биообъекты в норме не содержат. Под воздействием VCl_3 все нитросоединения восстанавливаются до нитрозосостояния и приобретают способность ингибировать каталазу. Калориметрическая регистрация активности каталазы (по кинетике теплопродукции, сопровождающей разложение перекиси) позволяет с высокой точностью (до 50 нМ) определять основные группы метаболитов **NO в биообъекте без его предварительной очистки** [1]. Установлено, что все основные физиологические жидкости: кровь, амниотическая жидкость, молоко, сперма в норме, практически, не содержат нитрит (NO_2^-) и N-нитрозосоединения (RNNO) – **их концентрация менее 100 нМ. Амнион и сперма содержат в следовых количествах не только нитрит, но и нитрат, а метаболиты NO в этих объектах представлены, преимущественно, соединениями – донорами NO, хотя классические методы определяют эти соединения как нитрат и нитрит.** В связи с этим широко распространенная оценка интенсивности синтеза **NO по величине суммарной концентрации нитрита и нитрата не видится корректной** [2].

Нитрит и RNNO зарегистрированы в плазме крови больных, страдающих различными воспалительными заболеваниями. Их содержание в суммарной конц. выше 150 нМ оказалось значительно более чувствительным критерием воспаления, чем показатели СОЭ, числа лейкоцитов.

При добавлении в плазму зимозана – активатора лейкоцитов, наблюдалось появление NO_2^- и RNNO **при пропорциональном снижении содержания нитрозосоединений – доноров NO.** Содержание нитрата при этом не изменялось. В присутствии оксигемоглобина – ловушки **NO происходит снижение содержания соединений – доноров без образования нитрита.** Система аскорбат + глутатион – ловушка активных форм кислорода, предотвращала изменения в составе нитрозосоединений плазмы [2].

Следовательно, появление нитрита и RNNO **в плазме крови при воспалительных заболеваниях является, главным образом, результатом деструкции соединений – доноров NO, предположительно, под воздействием активных форм кислорода, продуцируемых активированными лейкоцитами, а не интенсификации синтеза NO, как считается классически.**

1. Титов В.Ю., Петренко Ю.М., Ванин А.Ф., Степура И.И. / Биофизика, 2010. Т.55, С.95-106.

2. Titov V. / Current Enzyme Inhibition, 2011. V.7, P.56-70.

**ОТВЕТ СЕТЧАТКИ НА ДЕЙСТВИЕ ГЕНОТОКСИЧЕСКИХ АГЕНТОВ
КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ДЕГЕНЕРАЦИИ И РЕГЕНЕРАЦИИ СЕТЧАТКИ *IN SITU*****Response of retina to genotoxic agents as a model for study
of degeneration and regeneration of retina in situ****Тронов В.А.¹, Виноградова Ю.В.², Поплинская В.А.³, Островский М.А.³**

1 – Институт химической физики им. Н.Н.Семенова РАН, 119991, Москва, ул Косыгина, 4;

2 – Объединенный институт ядерных исследований, Дубна;

3 – Институт биохимической физики им. Н.М.Эмануэля РАН,
119991, Москва, ул. Косыгина, 4

Тел.: +7(495)939-74-92; e-mail: vtronov@yandex.ru

Ретинальные фоторецепторы (ФР) это светочувствительные нейроны глаза, функция которых заключается в абсорбции света и в формировании первичного зрительного сигнала. ФР насыщены митохондриями, характеризуются высокой метаболической активностью и высоким потреблением кислорода. Таким образом, ФР функционируют в условиях постоянной угрозы окислительного стресса, повреждающего все клеточные компоненты сетчатки. Как следствие этого, ДНК в сетчатке мышей содержит большое количество спонтанно поврежденных оснований по сравнению с другими органами [1]. Помимо кислорода гибель клеток сетчатки вызывает воздействие химических веществ и ионизирующей радиации. Поскольку сетчатка состоит из постмитотических клеток, утративших свой регенеративный потенциал, функцию восстановления сетчатки выполняет немногочисленная субпопуляция глиальных клеток Мюллера (КМ). Цель работы состояла в исследовании дегенерации сетчатки, индуцированной генотоксическими агентами (ионизирующей радиации и метилнитрозомочевины, МНМ) и в ценке роли КМ в ее восстановлении.

Сетчатку повреждали локальным облучением головы животного в дозе 14-24 Гр или внутрибрюшинным введением МНМ в дозе 70 мг/кг. Дегенерацию оценивали по деструкции ткани и клеточной гибели (микро-морфометрия), по экспрессии в сетчатке белков, сопутствующих апоптозу (P53, ATM, PARP, Caspase 3 – метод иммуноцитохимии), по формированию повреждений в ДНК сетчатки (метод ДНК-комет) и по утрате функциональной активности сетчатки (снижение амплитуды а- и b-волн электроретинограммы, ЭРГ). Регенерацию оценивали по репарации ДНК (метод ДНК-комет), по гибели клеток (морфометрически), по пролиферативной активации КМ (иммуногистохимически) и по возрастанию амплитуды волн ЭРГ.

Показано, что повреждение ДНК и утрата функциональной активности сетчатки на много опережают по времени проявление остальных показателей дегенерации. В ответ на повреждение возрастает полиферация КМ и их миграция во внешние (ФР) слои сетчатки. Генотоксиканты имеют дозовый порог токсического действия на сетчатку. Субтоксическая доза МНМ вызывает повышенную устойчивость к последующему действию летальной дозы агента. Эта адаптация сетчатки повидимому связана с возрастанием в сетчатке уровня эндогенных нейропротекторных факторов, одним из продуцентов которых являются КМ.

АМПЛИТУДНО-ВРЕМЕННЫЕ ПАРАМЕТРЫ МИНИАТЮРНЫХ ТОКОВ КОНЦЕВОЙ ПЛАСТИНКИ В СИНАПСАХ МЫШЦ РАЗНОГО ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ТИПА ПРИ 7-ДНЕВНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ ГИПОГРАВИТАЦИИ**Amplitude-temporal miniature end plate currents parameters in synapses of muscles of different functional types during 7 days of hypogravity modeling****Тяпкина О.В., Нуруллин Л.Ф., Петров К.А., Никольский Е.Е.**

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН,
420111, Казань, Лобачевского, 2/31;
Тел.: +7(843)292-76-47; факс: +7(843)292-73-47; e-mail: anti-toxin@mail.ru

Ранее нами было установлено, что длительное (35 дней) антиортостатическое вывешивание задних конечностей крыс (модель гипогравитации по Morey-Holton, 2002) приводило к функциональным перестройкам в работе синаптического аппарата и в «быстрой» m. EDL и в «медленной» m. soleus (уменьшение амплитуды миниатюрных токов концевой пластинки (МТКП) в обеих мышцах); затягивание заднего фронта МТКП в синапсах m. EDL. Эти данные свидетельствуют об уменьшении чувствительности постсинаптической мышечной мембраны к ацетилхолину в обеих мышцах, а также о возможном снижении плотности ацетилхолинэстеразы в синапсах m. EDL подопытных животных, либо об изменении количества или функционирования рецепторно - канального комплекса. Однако остается неисследованным влияние короткосрочного пребывания крыс в условиях моделирования гипогравитации на амплитудно-временные параметры МТКП в синапсах мышц разного функционального типа. Целью работы явилось изучение амплитудно-временных параметров МТКП в синапсах мышц «быстрого» (m. EDL) и «медленного» (m. soleus) типов у контрольных крыс и у подопытных, находившихся в условиях 7-дневного антиортостатического вывешивания задних конечностей. Все процедуры с животными проводили, используя правила, рекомендованные Физиологической секцией Российского национального комитета по биологической этике (Генин А.М. и др., 2001). Для регистрации МТКП использовали метод двухэлектродной фиксации потенциала мышечного волокна (на уровне -60 мВ). В контрольной группе крыс средняя амплитуда МТКП в синапсах m. soleus составила 4.0 ± 0.18 нА, а в m. EDL 4.6 ± 0.2 нА. После 7 дневного «вывешивания» амплитуда МТКП уменьшалась в синапсах обеих мышц: в m. soleus до 2.0 ± 0.2 нА, в m. EDL до 3.6 ± 0.02 нА. Средние значения постоянной времени спада в контрольных синапсах составили: в m. soleus 1634 ± 73 мкс, в m. EDL 1313 ± 71 мкс. В подопытных синапсах обеих мышц постоянная времени спада сигналов не изменялась (в m. soleus - 1671 ± 95 мкс, в m. EDL 1245 ± 31 мкс). Уменьшение амплитуды МТКП без изменения заднего фронта свидетельствует об уменьшении чувствительности постсинаптической мембраны к ацетилхолину в обеих мышцах. Таким образом, при моделировании гипогравитации на Земле изменение работы синаптического аппарата мышц разного функционального типа происходит на ранних сроках пребывания в условиях моделирования гипогравитации.

Поддержано грантами: РФФИ, Президента РФ НШ, Программа фундаментальных исследований Отделения биологических наук РАН.

**РЕЗОНАНСНЫЙ ПЕРЕНОС ЭНЕРГИИ
В БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ СИСТЕМАХ *IN VIVO* И *IN VITRO*****Bioluminescence resonance energy transfer *in vivo* and *in vitro* systems****Угарова Н.Н.**

**Химический факультет Московского государственного университета имени
М.В.Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр.11, ООО «Люмтек»,
Тел./факс: +7(495)939-26-60; e-mail: nugarova@gmail.com**

Резонансный перенос энергии в биолюминесцентных системах (BRET) – это явление безызлучательного переноса энергии от электронно-возбужденного продукта люциферазной реакции (донора) на акцептор - хромофор, который, поглощая энергию донора, переходит в возбужденное состояние и флуоресцирует в более длинноволновой области спектра. Для эффективного BRET необходимы следующие условия: 1) спектр поглощения акцептора должен перекрывать-ся со спектром эмиссии донора; 2) акцептор должен иметь высокий коэффициент экстинкции и высокий квантовый выход флуоресценции; 3) донор и акцептор должны быть максимально сближены в пространстве для протекания Ферстеровского переноса энергии, эффективность которого обратно пропорциональна расстоянию в шестой степени между реакционными центрами донора и акцептора. Механизм BRET реализуется во многих природных системах. Например, активное светящееся вещество медузы *Aequorea victoria* представляет собой белок, акворин, который излучает синий свет в присутствии ионов Ca^{2+} . Экстракт медузы содержит кроме того зеленый флуоресцирующий белок (GFP). Широкий спектр биолюминесценции акворина имеет $\lambda_{max} = 460$ нм, а флуоресценция зеленого белка характеризуется узким спектром с λ_{max} при 508 нм. Зеленый белок превращает синее излучение акворина в зеленое свечение живого организма. Аналогичный сдвиг цвета описан и для родственных кишечнорастворимых *Obelia* и *Renilla*, что указывает на существование безызлучательного переноса энергии как механизма возбуждения GFP кишечнорастворимых *in vivo*. У бактерий, в клетках которых присутствует желтый флуоресцентный белок (YFP), наблюдается желтое свечение, в то время как в отсутствие его – зеленое. Особенно информативным метод BRET оказался при изучении белок-белковых взаимодействий в различных внутриклеточных физиологических процессах, Использовались пары слитых белков, один из которых включал люциферазу *Renilla*, а другой – GFP. Сдвиг λ_{max} от 480 до 510 нм свидетельствовал об образовании комплекса между изучаемыми белками. Таким образом были исследованы многочисленные системы, включающие белки-рецепторы. В последние годы возрос интерес к использованию в системах BRET люцифераз светлячков благодаря высокому квантовому выходу светлячковой биолюминесценции и тому факту, что λ_{max} свечения в люциферин-люциферазной реакции находится в области более 550 нм. В качестве акцепторов стали использоваться белки, модифицированные различными флуоресцентными красителями и квантовыми точками, что позволило резко увеличить квантовую эффективность BRET и перейти к разработке количественных методов гомогенного иммуноанализа. В нашей лаборатории получены различные мутантные формы люциферазы светлячков *Luciola mingrelica*, для которых λ_{max} биолюминесценции варьируется от 560 до 590 нм. Разработаны методы получения конъюгатов люциферазы с низкомолекулярными гаптенами и методы получения антител с ковалентно связанными красителями. Показана зависимость эффективности BRET от количества красителя, связанного с антителами, от степени модификации люциферазы молекулами гаптена. Разработаны методики анализа данных и показана применимость данной системы для гомогенного анализа низкомолекулярных гаптенов.

Работа поддержана грантом РФФИ 11-04-00624а.

МЕТАБОЛИЧЕСКОЕ КУПИРОВАНИЕ ОСТЕОПОРОЗА РЕГУЛЯТОРНЫМИ НЕГОРМОНАЛЬНЫМИ СРЕДСТВАМИ**Metabolic treatment of osteoporosis by means of regulatory non-hormonal supplements**

Учитель М.Л.^{1,2}, Болотанова М.К.^{1,3}, Васильева А.А.¹, Байрамов А.А.⁴, Погорелов А.Г.¹, Погорелова В.Н.¹, Гришина Е.В.¹, Симонова М.А.¹, Богданова Л.А.¹, Мурашев А.Н.⁵, Трунин Р.А.², Шабанов П.Д.⁴, Маевский Е.И.¹

¹ – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290, г. Пущино, Моск. обл., ул. Институтская, 3;

² – ООО «ЭКОМЕДСЕРВИС», 300026, г.Тула, пр. Ленина, 102, к.3. оф. 246;

³ – Городская поликлиника №6, г. Москва, Рублевское шоссе, 1;

⁴ – ФГБУ «Федеральный Центр сердца, крови и эндокринологии им В.А.Алмазова, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2;

⁵ – Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 142290, Московская обл., г. Пущино, проспект Науки, 6.

Тел.+7(4967)73-26-48; +7(985)910-01-32; e-mail: oliveant3@yahoo.com

Митохондрии (МХ) играют особую роль в функционировании тканей регуляторной оси гипоталамус-гипофиз-яичники [1]. Уже в 1976 г [2] показано «омоложение» крыс под влиянием сукцината и глутамата, восстанавливавших у старых самок чувствительность гипоталамуса к сигналам обратной связи до уровня половозрелых животных. МХ субстраты обладают множественностью действия в энергетическом обмене, лигандном связывании с рецепторами, в специфическом влиянии на экспрессию регуляторов типа гипоксии-индуцируемого фактора. Клинические исследования [3] выявили более высокую эффективность купирования у женщин климактерического синдрома с помощью курса метаболического препарата, главными компонентами которого были сукцинат аммония и глутамат, по сравнению с плацебо. Для уменьшения остеопороза нами разработаны новые негормональные препараты на основе МХ метаболитов, показавшие эффективность при возрастной инволюции, искусственном гипогонадизме и при «вывешивании» самцов, имитирующем невесомость. Причем метаболические композиции не содержали ни избытка кальция, ни гормонов, ни высоких доз витамина Д3, но требовали учета гендерных различий самцов и самок. Противоостеопорозное действия метаболических композиций оценивали по влажному и сухому весу костей, содержанию в них минеральных и органических компонентов, соотношению остеокластов и остеобластов, ультраструктуре срезов костей, рентгеноденситометрически. Метаболические препараты позволяют минимизировать риски онкогенеза, инициируемого гормональной заместительной терапией, и неблагоприятные последствия влияния избытка кальция на миокард и сосуды. Мы установили, что исключение из оси гипоталамус-гипофиз-гонады яичников, продуцирующих эстрогены, приводит к утрате антиостеопорозной активности метаболической негормональной композиции у самок. Представленный материал опровергает догму о необратимой потере эндокринной активности при старении и гипогонадизме, согласуется с современными данными о возможности стимуляции стволовых клеток эндокринных тканей при возрастной инволюции.

1. M.Bonomi, E. Somigliana, M. Busnelli, et al., Mitochondrial DNA content in peripheral blood cells and premature ovarian aging. //Endocr. Rev. 2012. V. 32 (03_MeetingAbstracts): P1-311.

2. Дильман В.М., Анисимов В.Н., Кондрашова М.Н. //Фармакология и токсикология. 1976. № 3: С. 540-549.

3.Песков А.Б., Маевский Е.И., Учитель М.Л. Оценка эффективности «малых воздействий» в клинике внутренних болезней. Ульяновск, 2005. 197 с.

**ВОЗДЕЙСТВИЕ НЕКОРНЕВОЙ ОБРАБОТКИ МИКРОЭЛЕМЕНТНЫМ КОМПЛЕКСОМ
И САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТОЙ НА ПОКАЗАТЕЛИ АКТИВНОСТИ
АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ**

**The influence of leaves treatment by microelements complex and salicylic acid on
indicators of antioxidant activity of spring wheat**

Фазилов Р.Н., Половинкина Е.О., Веселов А.П.

ГОУ ВПО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»
(Национальный исследовательский университет),
603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина-23
Тел.: (831)465-61-04; факс: (831)465-97-58; e-mail: r.fazilov@gmail.com

В условиях рискованного земледелия культурные растения постоянно подвергаются стрессирующим воздействиям. В активации механизмов адаптации к таким экстремальным условиям важную роль имеет антиоксидантная система, работа которой зависит от множества факторов, в частности от фитогормонального статуса, обеспеченности растений элементами питания и микроэлементами. В связи с этим исследовали влияние некорневой обработки микроэлементами и салициловой кислотой на антиоксидантную активность растений пшеницы при воздействии теплового шока.

Испытывали 2 типа обработки растений: МЭ - обрабатывали составом, содержащим только элементы питания и микроэлементами (N - 0,49%, K - 0,06%, S - 5,04%, Cu - 0,64%, Zn - 1,36%, Mg - 0,89%, Ni - 0,006%, Li - 0,04%, Co - 0,084%, Fe - 0,4%, Mn - 0,29%, Mo - 0,44%, B - 0,15%, Se - 0,009%), и составом на основе тех же элементов с добавлением салициловой кислоты – МЭ+СК. Далее часть растений подвергали тепловому шоку (ТШ-30 мин при 42°C). Контролем являлись растения, обработанные водой и не подвергнутые ТШ. Оценивалось содержание низкомолекулярного антиоксиданта – аскорбиновой кислоты (Аск) и активность антиоксидантных ферментов: каталазы (Кат) и глутатионтрансферазы (ГТ).

Аскорбиновая кислота в растениях является важным антиоксидантом, который участвует в утилизации свободных радикалов, являясь как самостоятельным восстановителем, так и субстратом антиоксидантных ферментов глутатион-аскорбатного цикла. После обработки растений МЭ+СК количество аскорбиновой кислоты в растениях пшеницы уменьшалось на 32,5% под действием теплового шока. Другие варианты обработки не сказывались на содержании Аск после воздействия ТШ.

В клетках растений, обработанных МЭ и МЭ+СК, активность каталазы под действием теплового шока достоверно увеличивалась на 66% и 24% соответственно. В контрольных растениях ТШ не приводил к активации этого фермента. Активность ГТ под действием теплового шока достоверно не изменялась в контрольных растениях и предварительно обработанных МЭ, и снижалась на 40% в растениях после обработки МЭ+СК.

ГТ – важнейший фермент, участвующий в детоксикации продуктов перекисного окисления биологических молекул в клетке. Снижение его активности может свидетельствовать об уменьшении образования токсичных продуктов.

Таким образом, введение в состав микроэлементного раствора салициловой кислоты вызывало при тепловом шоке активацию первичных процессов антиоксидантной защиты - окисление Аск и повышение активности Кат, что могло приводить к остановке перекисидации в стрессовых условиях уже на начальных этапах, о чем говорит снижение активности ГТ на этом фоне.

ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА СТРУКТУРУ МЕМБРАН И ПАРАМЕТРЫ ПОЛ КЛЕТОК КРОВИ ЧЕЛОВЕКА В ЭКСПЕРИМЕНТАХ IN VITRO**The action of low-intensity irradiation on the structure of the membranes and LPO parameters of the human blood cells in vitro****Фаткуллина Л.Д., Аткарская М.В., Андреев С.Г., Бурлакова Е.Б.**

ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН;
119334, Москва, ул. Косыгина, 4;
Тел.: +7(495)9397181; Факс: +7(499)1374101; E-mail: bcp-lfat@mail.ru

Повреждения мембранных систем клетки при действии малых доз ионизирующей радиации занимают существенное место либо как первая повреждаемая мишень, либо как система, определяющая дальнейшую судьбу клетки. Реакции различных клеток на действие ионизирующего излучения лежат в основе радиационного поражения сложных биологических систем. Поэтому актуальной задачей является изучение механизма действия γ -излучения в различных дозах, включая малые, на состояние мембран в опытах *in vitro*. В данной работе использованы клетки крови человека, поскольку кровь наиболее адекватно отражает состояние всего организма. Мы провели облучение пробирок с венозной донорской кровью человека в разных дозах (1, 10, 50, 100 и 200 сГр ^{137}Cs). В каждом образце облученной крови исследовали накопление малонового диальдегида (продукта ПОЛ) в эритроцитах, резистентность мембран (по степени гемолиза эритроцитов), а также микровязкость мембран эритроцитов и лимфоцитов методом ЭГР-спектроскопии по времени вращательной корреляции двух спиновых зондов, один из которых локализуется в *bulk*-липидах, а другой в прилежащих к белкам участках липидного бислоя. Контролем служил образец крови без облучения. Следует отметить, что дозы набирались при высокой мощности дозы облучения (уникальные возможности экспериментального канала хранилища отработанных ТВЭЛов при реакторе НИЯУ МИФИ) и малом времени воздействия радиации, когда можно пренебречь процессами репарации. Уже при дозе 1 сГр на фоне увеличения степени гемолиза наблюдалось снижение количества МДА в эритроцитах и некоторое уменьшение микровязкости мембран. Также обнаружено существенное изменение микровязкости мембран лимфоцитов в интервале доз от 1 до 50 сГр. Важно, что статистически достоверные радиационно-индуцированные изменения некоторых параметров (гемолиз, микровязкость плазматической мембраны лимфоцитов) обнаружены уже при дозе облучения 1 сГр. До настоящего времени подобные показатели измерялись только в диапазоне доз на порядок выше (2 Гр и более), либо при малых дозах, но с малой мощностью дозы (длительное время облучения), и в основном на клетках крови мышей. Нами обнаружены разные закономерности изменения изученных параметров для разных диапазонов облучения: от 1 до 50 сГр, и начиная с 50 до 200 сГр. В диапазоне малых доз изменения несут более выраженный характер практически по всем изученным показателям. Выявлено, что эритроциты проявляют большую резистентность к действию радиации по сравнению с лимфоцитами, в частности, по такому показателю как микровязкость мембран: для эритроцитов микровязкость мембран не зависит от дозы облучения в областях локализации обоих зондов, тогда как для лимфоцитов изменения происходят только в глуболежащей области липидного бислоя (для доз облучения до 10 сГр). Дозовые зависимости повреждения мембран в области малых доз для большой мощности дозы облучения существенно иные, чем для малой мощности дозы. Следовательно, полученные нами данные подтверждают предположение о том, что цитоплазматические мембраны выступают в качестве мишеней радиационно-индуцированного эффекта.

**СОЧЕТАНИЕ АКУСТИЧЕСКИХ И СВЕТОВЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ,
УПРАВЛЯЕМЫХ ЭЭГ ОСЦИЛЛЯТОРАМИ СУБЪЕКТА,
ПРИ КОРРЕКЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ РАССТРОЙСТВ**

**Combination of acoustic and photic stimuli controlled by EEG oscillators of the subject,
in human functional disturbance correction**

Федотчев А.И., Бондарь А.Т.

Институт биофизики клетки РАН, 142290, Пущино, ул. Институтская, 3
Тел.: +7(4967)73-91-17; факс: +7(4967)33-05-09; e-mail: fedotchev@mail.ru

Акустические и световые воздействия, синхронизированные с параметрами электроэнцефалограммы (ЭЭГ) человека, широко применяются в клинике при коррекции различных функциональных расстройств. В частности, в лечебных процедурах адаптивного биоуправления, которые получили название **Neurofeedback** или **Neurotherapy**, они используются в качестве информационных сигналов обратной связи, помогающих пациенту направленно модифицировать собственную ЭЭГ и тем самым добиваться требуемых лечебных эффектов. Однако в существующих подходах лишь менее половины пациентов могут успешно справляться с задачей ЭЭГ биоуправления. Главная причина этого - трудность осознания и активного использования сигналов обратной связи от биопотенциалов мозга, которые эволюционно не предназначены для произвольного контроля. Кроме того, серьезным недостатком метода, значительно ограничивающим его эффективность, является отсутствие индивидуального on-line анализа ЭЭГ и использование заранее заданных в широких границах традиционных ЭЭГ ритмов, которые на самом деле представляют собой композицию из нескольких узконастроенных и динамичных ЭЭГ осцилляторов с разными функциональными характеристиками. Нами разработана оригинальная технология нелекарственной коррекции функциональных расстройств у человека, в которой упомянутые ограничения существующих методов ЭЭГ биоуправления преодолеваются за счет двух уникальных нововведений. Во-первых, в технологии используются не заранее заданные, излишне широкополосные традиционные ЭЭГ ритмы (тета – 4-8 Гц, альфа – 8-13 Гц, бета – 13-25 Гц и т.д.), а автоматически выявляемые в реальном времени, характерные и значимые для индивида узкочастотные (0.2-0.4 Гц) ЭЭГ осцилляторы. Во-вторых, в ней обучение человека саморегуляции своего состояния облегчается за счет введения дополнительного контура обратной связи, работающего автоматически одновременно с контуром осознанного адаптивного биоуправления. Данный контур обеспечивает резонансную световую стимуляцию без сознательного участия пациента, автоматически настраиваясь на доминирующий у него альфа ЭЭГ осциллятор. Благодаря этому эффективность лечебных процедур значительно увеличивается, а также устраняется известный недостаток традиционных подходов биоуправления, заключающийся в зависимости эффективности лечебных процедур от уровня мотивации субъекта. Представлены положительные результаты экспериментального тестирования технологии, намечены перспективы ее дальнейшего развития.

Работа поддержана Российским Гуманитарным научным фондом, грант № 12-06-00198.

**ВОЗМОЖНОСТЬ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ
НА ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ИМПУЛЬСНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ
ПО ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ХРОМАТИНА И СИСТЕМ РЕПАРАЦИИ ДНК**

**The possibility for predicting of individual reactions to low-intensity pulsed magnetic
field based on chromatin state and DNA repair system estimation**

Хаймович Т.И., Никанорова Е.А., Иванов К.Ю., Паточка Г.Л., Поленова И.А.

ФГУП «Российский Федеральный Ядерный Центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики»,
606188, г.Саров, Нижегородская обл., пр.Мира 37
Тел. +7(83130) 2 25 99, факс +7(83130) 2 53 00, e-mail: tatiana@orb2.vniief.ru

Проведено исследование действия низкоинтенсивного (11,8 мТл) импульсного магнитного поля на функциональное состояние клеток крови лабораторных животных (беспородных крыс самцов) *in vivo* и *in vitro*. **Оценивали конформационное состояние ядерного хроматина в лизатах клеток крови по параметрам аномальной временной зависимости вязкости, реактивность хроматина на тепловой шок (нагрев до 46°C в течение 30 мин), а также эффективность УФ-индуцированного репаративного синтеза ДНК в клетках крови.**

Показано, что действие низкоинтенсивного импульсного магнитного поля на лабораторных животных *in vivo* в течение 15 и 30 мин вызывало формирование комплекса внутриклеточных реакций: выраженную релаксацию ядерного хроматина и незначительное увеличение бета-активности проб крови за счет включения меченного тритием тимидина в ДНК в спонтанных вариантах теста. Использование нагрузочных тестов выявило значимое снижение реактивности клеток по сравнению с контролем (снижение реактивности хроматина на тепловой шок и снижение эффективности УФ-индуцированной репарации ДНК). Выявленные изменения являлись, видимо, следствием формирования адаптивного ответа клеток на действие внешнего фактора – магнитного поля.

Результаты, полученные при действии низкоинтенсивного магнитного поля *in vivo* и *in vitro*, **практически совпадали. Выявлена четкая зависимость выраженности и направленности реакции клеток различных индивидуумов на действие магнитного поля от их исходных характеристик.** Наиболее выраженные изменения основных внутриклеточных параметров в ответ на действие низкоинтенсивного импульсного магнитного поля получены у животных, для клеток которых характерны исходно конденсированный хроматин, значительная реактивность хроматина на тепловой шок и исходно высокий уровень УФ-индуцированной эксцизионной репарации. Сделан вывод о перспективности разработки методических подходов к прогнозированию индивидуальных реакций на действие низкоинтенсивного магнитного поля на основе исходных характеристик основных внутриклеточных процессов.

**МОДЕЛИРОВАНИЕ СВОЙСТВ БИОСЕНСОРОВ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ
НА ОСНОВЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ БЕЛКОВ****Modeling properties of biosensors for matrix metalloproteinase
based of fluorescent proteins****Хренова М.Г.^{1,2}, Немухин А.В.², Савицкий А.П.¹**¹ – Институт биохимии имени А.Н. Баха РАН, 119071, Москва, Ленинский проспект, 33/2;² – Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова,
119991, Москва, Ленинские Горы, 1/3Тел.: +7(495)9392035; факс: +7(495)9390283; e-mail: wasabiko13@gmail.com

Матриксные металлопротеиназы (ММП) относятся к семейству внеклеточных цинк-зависимых эндопептидаз. Они играют важную роль как в нормальных физиологических процессах как репродукция и ремоделирование ткани, так и в патологических процессах, включая злокачественный опухолевый рост. Их протеолитическая активность регулируется в организме тканевыми ингибиторами металлопротеиназ (ТИМП); нарушение баланса приводит к возникновению болезней.

Для определения активности ММП второго и девятого типа (ММП-2 и ММП-9) ранее были предложены биосенсоры, механизм функционирования которых основан на резонансно-индуктивном переносе энергии (FRET). Они состоят из флуоресцентного белка TagRFP и разгорающегося белка KFP, соединенных аминокислотной последовательностью, включающей фрагмент, специфически распознаваемый матриксной металлопротеиназой заданного типа.

В данной работе было проведено определение пространственной структуры подобных биосенсоров и определение параметров эффективности FRET методами современного компьютерного моделирования. На первом этапе проводилось определение взаимного расположения белков TagRFP и KFP с помощью процедуры молекулярного докинга, далее проводился молекулярно-динамический расчет для релаксации структуры. В результате была получена структура биосенсора, состоящая из тетрамерного остова KFP и четырех молекул TagRFP на периферии. Геометрическое расположение молекул донора и акцептора объясняет наличие двухэкспонентного характера затухания флуоресценции в экспериментальных условиях. Для полученной модельной системы проведен учет параметра, характеризующего взаимную ориентацию донора (TagRFP) и акцептора (KFP) FRET пары, что открывает возможность разработки новых сенсоров, обладающих улучшенными характеристиками, а именно большей эффективностью индуктивно-резонансного переноса энергии.

Работа выполнена при поддержке Фонда Дмитрия Зимина «Династия» (проект Maria. Khrenova).

**МОДЕЛИРОВАНИЕ ИЗОМЕРИЗАЦИИ ГЛЮТАМИНА
ВО ФЛАВИН-СОДЕРЖАЩИХ БЕЛКАХ – РЕЦЕПТОРАХ СИНЕГО СВЕТА****Modeling glutamine isomerization in photoreceptor proteins containing flavin.****Хренова М.Г.¹, Немухин А.В.¹**

¹ – Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова,
119991, Москва, Ленинские Горы, 1/3
Тел.: +7(495)9392035; факс: +7(495)9390283; e-mail: wasabiko13@gmail.com

BLUF (blue light using flavin) – фоторецепторный белок с хромофорной группой флавином или его производными, чувствительный к синему свету. Функционирование BLUF доменов обусловлено незначительными изменениями в области хромофорного кармана в результате фотореакции; а именно происходит реорганизация сети водородных связей хромофора с ближайшими остатками и таутомеризация функциональной группы аминокислотного остатка Gln63 (нумерация для BLUF домена белка AppA).

Согласно литературным данным облучение системы приводит к фотореакции, в результате которой происходит перенос протона и электрона с Tyr21 на флаavin через Gln63; при этом происходит таутомеризация Gln63. Эти процессы происходят на поверхностях возбужденных электронных состояний, однако, окончательное формирование бирадикального состояния Tyr21• + FADH• происходит в основном электронном состоянии. Механизм дальнейших превращений, позволяющий перейти из бирадикального состояния в сигнальное выявлен в данной работе.

Переход системы из бирадикального состояния, соответствующего одному из первичных интермедиатов, к сигнальному состоянию возможен по двум различным схемам: (А) конформационные изменения боковой цепи Gln63 в бирадикальном состоянии и последующая рекомбинация радикалов; (В) рекомбинация радикалов с последующими конформационными изменениями, преимущественно с боковой цепью Gln63.

На основании рассчитанных в данной работе профилей реакции на поверхности потенциальной энергии основного состояния сделан вывод о предпочтительности пути А. Барьеры реакций на всех стадиях не превышают 9 ккал/моль, что указывает на высокие скорости элементарных стадий реакции. По пути В скорость лимитирующей является стадия переноса протона в –C=N-H фрагменте; для нее получен барьер в 29 ккал/моль. Все расчеты выполнены в приближении теории функционала электронной плотности DFT/PBE0//cc-pvdz.

Работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 12-03-00149-а.

**ОТКЛИК СИСТЕМЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ТКАНЕЙ МЫШЕЙ
НА ОДНОКРАТНОЕ ВВЕДЕНИЕ АЛФА-ТОКОФЕРОЛА.****The response of the lipid peroxidation processes in mice tissues to the single injection
of alfa-tocopherol.****Хрустова Н.В., Кушнерева Е.В., Шишкина Л.Н.**

Институт Биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН,
119334, г. Москва, ул. Косыгина, д.4
Тел.: +7(495)9397186; e-mail: shishkina@sky.chph.ras.ru

Широко известна роль альфа-токоферола, природного антиоксиданта как в регуляции окислительных процессов, так и в структурной организации мембран. Целью работы было сравнение отклика системы перекисного окисления липидов селезенки, печени и эритроцитов крови мышей SHK (самцы, апрель-май) при однократном введении *per os* подсолнечного масла (0.2 мл на 20 г массы мыши).

Было обнаружено, что через месяц после введения масла величина антиоксидантной активности в липидах селезенки и эритроцитов крови мышей выравнивалась, по сравнению с группой мышей возрастного контроля. Содержание продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой, в гомогенате селезенки и в плазме крови мышей стало идентичным, в отличие от группы мышей возрастного контроля. Аналогичный эффект наблюдался и для относительного содержания сфингомиелина в фосфолипидах, стеринов в общих липидах, суммарной доли фосфатидилинозита и фосфатидилсерина в фосфолипидах. Равным стало относительное содержание лизоформ и кардиолипина в фосфолипидах печени и эритроцитов крови мышей через месяц после введения подсолнечного масла.

Выявлены параметры липидного состава тканей мышей, не подверженные действию введения подсолнечного масла. Во всех изученных тканях таким параметром является молярное соотношение [стерины] / [фосфолипиды] – через месяц после введения масла это соотношение восстанавливается до исходной величины. В липидах эритроцитов крови мышей через месяц нормализовались такие параметры, как доля фосфатидилхолина в фосфолипидах и соотношение сумм более легкоокисляемых к более трудноокисляемым фракциям фосфолипидов. В липидах печени мышей осталась неизменной доля фосфатидилхолина и фосфатидной кислоты в фосфолипидах. Отметим интересный факт – уменьшение содержания альфа-токоферола вдвое в липидах селезенки через месяц после введения подсолнечного масла, тогда как в липидах печени и эритроцитов крови замечено значительное его увеличение, в четыре раза.

Результаты позволяют сделать вывод о том, что анализ системы перекисного окисления и состава липидов эритроцитов крови мышей через месяц после введения подсолнечного масла является хорошим маркером для анализа процессов, происходящих в тканях различных органов мышей.

Работа поддержана Программой фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные науки - медицине» 2012.

**БИОСОВМЕСТИМЫЕ И БИОРАЗЛАГАЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ
НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА И ПОЛИЛАКТИДА****Biocompatible and biodegradable materials based on chitosan and polylactide****Цверова Н.Е.¹, Мочалова А.Е.¹, Смирнова Л.А.¹, Корягин А.С.¹, Павлов Д.В.²**¹ – Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
Нижний Новгород, 603950, пр. Гагарина, 25/3² – Нижегородский научно – исследовательский институт травматологии и ортопедии,
Нижний Новгород, 603155, Верхне - Волжская набережная, 18
E-mail: smirnova_la@mail.ru

Получение биоразлагаемых и биосовместимых полимерных материалов в настоящее время является актуальным. Они широко применяются в медицине и используются для изготовления перевязочных, ранозаживляющих материалов, создания имплантов и носителей лекарственных препаратов пролонгированного действия.

Синтетические полиэфиры - полилактид, полигликолид являются биоразлагаемыми и биосовместимым, допущены для применения в медицине в качестве рассасывающихся хирургических нитей («Дехон» и «Vicryl»). В настоящее время ведутся исследования получения имплантов на их основе.

Представляется возможным изготовление имплантов и на основе природных полимеров - класса полисахаридов - хитозан - не токсичен, гипоаллергенен, является биоразлагаемым и биосовместимым. Но для использования хитозана в производстве изделий медицинского назначения необходима его модификация, что связано с хрупкостью полимера. Сочетание свойств композиций хитозана и полилактида было бы перспективно для создания ряда многофункциональных материалов с регулируемым временем биоразложения в организме. [1,2]

Целью работы явилось получение блок-сополимеров хитозана и полилактида с различным соотношением компонентов и изучение их свойств.

Синтезированы композиты с различным содержанием природного и синтетического компонентов с достаточным уровнем прочности до 52 МПа и деформацией до 12 %. Методом АФМ изучена их структура. В опытах *in vivo* показана способность к их биодеградации: при введении под кожу лабораторным животным выявлена их полная биоутилизация в течение 28 – 30 дней без признаков воспаления и аллергических проявлений.

Таким образом, полученные материалы перспективны для применения в качестве ортопедических при травматических повреждениях и ранозаживляющих материалов в виде пленок и губок.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (государственный контракт №16.740.11 0035).

1. Вихорева Г.А., Варламов В.П., Скрыбин К.Г. Хитин и хитозан: Получение, свойства и применение.// М.:Наука,2002. - 368 с.

2. Штильман М.Н. Полимеры медико-биологического назначения.//М.:ИКЦ «Академкнига»,2006. - 400с.

**ИЗМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ У ЖИВОТНЫХ
- ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ ПРИ ГИПЕРТЕРМИИ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ЯДА
ЩИТОМОРДНИКА**

**Change electrokinetic properties erythrocytes in animals - tumor at hyperthermia on
the background of copperhead venom**

Шабалин М.А., Морозов И.Д., Крылов В.Н.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского
E-mail: shabalin-mihail@ramler.ru

Адаптивный или повреждающий эффект любого фактора, а тем более комплекса факторов, как стресс, реализуется в условиях целостного организма опосредовано – через мембранные системы клеток. Биологическое состояние мембраны клетки напрямую связано с поверхностным зарядом, о наличии которого можно судить об электрофоретической подвижности (ЭФП). ЭФП эритроцитов позволяет оценить не только интегральное состояние мембранных функций, но и состояние организма в целом. Известно, что онкологические заболевания снижают электрофоретическую подвижность эритроцитов [1], а зоотоксины повышают устойчивость к гипертермии. В связи с этим представляет интерес изучение влияния высоких температур и зоотоксинов на ЭФП у животных-опухоленосителей. Цель работы – изучение электрокинетических свойств эритроцитов у животных-опухоленосителей при гипертермии на фоне введения яда щитомордника.

Эксперименты были проведены на 50 самках белых лабораторных крыс массой 200 г с перевитой опухолью РС-1. Опухолевый штамм приобрели в НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. Использовался яд щитомордника. Экспериментальные животные подвергались тепловому стрессу в течение 15 минут в климатической камере с автоматической стабилизацией температуры. Измеряли ЭФП эритроцитов. Полученные данные были подвергнуты статистической обработке по критерию Стьюдента.

В результате экспериментов были получены следующие результаты. В контрольной серии у животных-опухоленосителей наблюдалось снижение ЭФП по отношению к интактным животным с $1,21 \pm 0,03$ мкм·см·с⁻¹·В⁻¹ до $0,95 \pm 0,09$ мкм·см·с⁻¹·В⁻¹. При гипертермии 42,5 °С у экспериментальных животных ЭФП незначительно увеличивается (до $0,99 \pm 0,74$ мкм·см·с⁻¹·В⁻¹), статистически не отличаясь от контроля (при $p \leq 0,05$).

При гипертермии 42,5 °С, на фоне введения яда щитомордника ЭФП увеличивалось на 36,4% по отношению к интактным животным, и на 71.8% по отношению к контрольной группе. Через неделю происходила нормализация ЭФП до уровня показателей интактной группы. Полученные результаты могут свидетельствовать об адапционном эффекте яда щитомордника, повышая резистентность организма – опухоленосителя к высоким температурам.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг. (госконтракт № П604)

Литература

1. Дерюгина А.В. Исследование типовых изменений электрокинетических свойств эритроцитов в норме и при альтерации функций организма. Дисс... доктора биологических наук: 03.03.01 / Дерюгина Анна Вячеславовна. Н. Новгород, 2012.-248 с.

**ФОТОЦИТОТОКСИЧНОСТЬ И МЕМБРАНОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ
ПРОИЗВОДНЫХ ХЛОРОФИЛЛА А****Photocytotoxicity and membrane protective activity of chlorophyll *a* derivatives****Шевченко О.Г.¹, Тарабукина И.С.², Белых Д.В.².**

1 - Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, 167000, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28

2 - Институт химии Коми НЦ УрО РАН, 167982, Сыктывкар, ул. Первомайская, 48

Тел.: +7(8212)43-04-78; факс: +7(8212)43-04-78; e-mail: shevchenko@ib.komisc.ru

Фотодинамическое уничтожение раковых опухолей является интенсивно развивающимся направлением фотомедицины. Постоянно растущий интерес к порфиринам как фотосенсибилизаторам фототерапии (фотодинамической терапии, ФДТ) опухолей определяет активный поиск соединений данного типа с наиболее оптимальными физико-химическими характеристиками. Варьирование периферических заместителей в хлориновом макроцикле существенно изменяет способность пигментов накапливаться в клетках, что может определять их эффективность при ФДТ онкологических заболеваний. Удобной моделью для скрининга биологической активности новых фотосенсибилизаторов клеток является гемолиз эритроцитов.

В настоящей работе исследованы мембранопротекторные и фотодинамические свойства ряда производных хлорофилла *a* (метилпирофеофорбид **а** (**1**), феофорбид *a* 13(2)-N,N-дibuтилaмид-17-метилoвый эфир (**2**), хлорин e_6 13-N-метиламид-15,17-диметилoвый эфир (**3**) и хлорин e_6 3(1),3(2)-бис-(N,N-диметиламино)метил-13-N-метиламид-15,17-диметилoвый эфир (**4**)), отличающиеся заместителями на периферии хлоринового макроцикла. Фотодинамическую активность оценивали по способности соединений индуцировать гемолиз эритроцитов крови мышей в условиях постоянного освещения и в темноте. Мембранопротекторную активность оценивали по способности производных хлорофилла ингибировать индуцированный H_2O_2 гемолиз.

Показано, что соединения (**3**) и (**4**) обладают выраженной фотодинамической активностью, на что указывает зависимость периода индукции развития гемолиза и его максимальной степени от уровня освещенности при проведении экспериментов. При тех же условиях проведения эксперимента у соединений (**1**) и (**2**), содержащих в структуре экзоцикл, фотодинамическая активность не обнаружена. Оценка мембранопротекторного эффекта соединений (**1**) и (**2**) в условиях H_2O_2 -индуцированного гемолиза эритроцитов выявила двойственный эффект. При проведении экспериментов в затемнении (**1**) и (**2**) обладали выраженным мембранопротекторным эффектом (полностью ингибировали гемолиз), тогда как в условиях освещения защитный эффект наблюдали только на начальных этапах инкубации, в дальнейшем отмечалось потенцирование эффекта (гибель 92-99% клеток). Анализ экспериментальных данных позволил предположить, что при инкубации эритроцитов с этими порфиринами в присутствии H_2O_2 происходит образование новых соединений, обладающих ярко выраженным фотодинамическим эффектом, что и обуславливает гибель клеток. Возможные механизмы данного явления требуют дальнейшего изучения.

МЕМБРАНОПРОТЕКТОРНАЯ, АНТИОКСИДАНТНАЯ И АНТИРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ТЕРПЕНОФЕНОЛ–ХЛОРИНОВЫХ КОНЪЮГАТОВ**Membrane protective, antioxidant and antiradical activity of terpenophenol–chlorin conjugates****Шевченко О.Г.¹, Плюснина С.Н.¹, Мазалецкая Л.И.³, Шелудченко Н.И.³, Тарабукина И.С.², Белых Д.В.², Буравлёв Е.В.², Чукичева И.Ю.²**

1 – Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, 167000, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28;

2 – Институт химии Коми НЦ УрО РАН, 167982, Сыктывкар, ул. Первомайская, 48;

3 – Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН,

119334, Москва, ул. Косыгина, 4

Тел.: +7(8212)43-04-78; факс: +7(8212)43-04-78; e-mail: shevchenko@ib.komisc.ru

Одним из подходов в создании эффективных антиоксидантов является сочетание в одной молекуле нескольких фармакофорных групп. В качестве подобных соединений могут выступать производные хлорофилла *a*, в состав молекул которых входят антиоксидантные группы, такие как фрагменты *орто*-изоборнилфенолов.

В настоящей работе исследовали мембранопротекторную (МПА), антиоксидантную (АОА) и антирадикальную (АРА) активность терпенофенол-хлороиновых конъюгатов: метилфеофорбид *a* 13(2)-*N*-*n*-бутил-*N*-(2-гидрокси-3-изоборнил-5-метилбензил)амида (**1**), метилфеофорбид *a* 13(2)-*N*-*n*-гексил-*N*-(2-гидрокси-3-изоборнил-5-метилбензил)амида (**2**), метилфеофорбид *a* 13(2)-*N*-*n*-октил-*N*-(2-гидрокси-3-изоборнил-5-метилбензил)амида (**3**), метилфеофорбид *a* 13(2)-*N*-бензил-*N*-(2-гидрокси-3-изоборнил-5-метилбензил)амида (**4**).

МПА и АОА конъюгатов оценивали по способности ингибировать H₂O₂-индуцированный гемолиз эритроцитов и тормозить накопление вторичных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Об особенностях распределения соединений в плазматической мембране и их мембранотропности судили по характеру и степени морфологической трансформации эритроцитов, исследованных методом сканирующей электронной микроскопии. АРА оценивали в модельной реакции инициированного окисления этилбензола (Т 333К).

По величинам fk_7 (f – стехиометрический коэффициент ингибирования, k_7 – константа скорости взаимодействия с пероксирадикалами), изменяющимся в диапазоне $(1.8-7.3) \times 10^3$ л/(моль с), исследованные соединения можно расположить в ряд: **1** < **2** ≈ **3** < **4**. Изучение поверхностной структуры эритроцитов показало способность конъюгатов взаимодействовать с плазматической мембраной. Характер морфологической трансформации клеток позволяет предположить, что исследуемые вещества интеркалируют во внешний монослой эритроцитарной мембраны. Наибольшая МПА выявлена у конъюгата **4**, содержащего бензильный фрагмент и отличающегося самой высокой из изученных соединений АРА, однако именно это соединение в наименьшей степени вызывало морфологические изменения эритроцитов. Для остальных соединений МПА снижалась с уменьшением размера фрагмента при атоме азота. Соединения, характеризующиеся наибольшей МПА, существенно тормозили накопление продуктов ПОЛ в суспензии эритроцитов. Анализ полученных данных позволяет заключить, что МПА и АОА конъюгатов существенно зависит как от способности интеркалировать в эритроцитарную мембрану, так и от АРА, что определяется природой заместителя амидной группы в положении 13(2).

ВЛИЯНИЕ УРАНИЛА В ШИРОКОМ ДИАПАЗОНЕ КОНЦЕНТРАЦИЙ НА ЭРИТРОЦИТЫ КРОВИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ**The influence of uranyl in large concentration range on mammalian red blood cells****О. Г. Шевченко**

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, 167000, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28
Тел.: +7(8212)43-04-78; факс: +7(8212)43-04-78; e-mail: shevchenko@ib.komisc.ru

Уран – естественный радиоактивный элемент, широко распространенный в биосфере вследствие биогеохимических процессов. Несмотря на то, что уран представляют опасность и как химический токсикант, и как β -излучатель, молекулярные и клеточные механизмы токсичности его соединений изучены недостаточно. В качестве одного из возможных механизмов действия урана рассматриваются процессы, связанные с генерированием активных форм кислорода (АФК) и развитием окислительного стресса.

Удобной клеточной моделью исследования механизмов развития окислительных повреждений являются эритроциты крови млекопитающих. Отсутствие у зрелых эритроцитов ядра позволяет исключить эффекты, связанные с генотоксическим действием соединений.

В работе представлены результаты исследования выживаемости и ряда биохимических параметров эритроцитов крови, инкубированных в присутствии уранил хлорида в широком диапазоне концентраций (5 нМ-100 мкМ). Инкубацию суспензии эритроцитов лабораторных мышей линии BALB/c и полевок-экономок проводили в термостатируемом шейкере при 37° С и медленном перемешивании. Оценивали степень гемолиза, содержание в суспензии вторичных продуктов ПОЛ, соотношение концентрации нативного гемоглобина и продуктов его окисления (metHb/oxuHb и ferrylHb/oxuHb).

Показано, что кратковременная инкубация (4 ч) эритроцитов крови животных обоих видов в присутствии ионов уранила в низких концентрациях (5-1000 нМ) ведет к снижению уровня спонтанного гемолиза во всех вариантах эксперимента. При увеличении времени экспозиции (24 ч) выявлена цитотоксичность уранила, нелинейным образом зависящая от концентрации. Для полевок-экономок отмечена статистически значимая связь между уровнем гемолиза и содержанием вторичных продуктов ПОЛ.

Присутствие уранила в микромолярных концентрациях вызывает быстрое развитие гемолитического процесса, которое сопровождается накоплением продуктов окисления гемоглобина и, в ряде вариантов, интенсификацией ПОЛ. Отмечено, что эффект воздействия уранила существенным образом зависит от его концентрации и вида животных, использованных для получения эритроцитов, что может быть связано с выявленным нами ранее различным количественным составом их липидов.

Таким образом, экспериментально показана высокая чувствительность эритроцитов двух видов грызунов к действию уранила в широком диапазоне концентраций. Развитие дисбаланса АФК может рассматриваться как один из механизмов, обуславливающих высокую биологическую активность ионов уранила.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ АМФИФИЛЬНЫХ ПОЛИМЕРОВ
НА НАКОПЛЕНИЕ ХЛОРИНА Е6 В ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ ЖИВОТНЫХ**

Study of influence of amphiphilic polymers on accumulation of chlorin e6 in tumor xenografts

Ширманова М.В.¹, Гаврина А.И.², Минакова Е.А.², Загайнова Е.В.¹, Соловьёва А.Б.³

¹ – Нижегородская государственная медицинская академия,
603005, Н.Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

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

³ – Институт химической физики РАН, 119991, Москва, ул. Косыгина, 4.

В фотодинамической терапии (ФДТ) опухолей важной задачей является повышение селективности накопления фотосенсибилизаторов (ФС) в опухолевой ткани и фотодинамической активности. В ряде публикаций показано усиление фотодинамической активности хлориновых ФС, модифицированных амфифильными полимерами, в отношении опухолевых клеток в культуре *in vitro*, и при ФДТ раневых процессов [1, 2, 3.] Однако особенности и механизмы накопления модифицированных хлоринов в солидных опухолях мало изучены.

Целью данной работы является исследование влияния амфифильных полимеров на накопление хлорина е6 в опухолевой ткани животных.

В работе использовались мыши линии СВА (28 животных) массой 28-32 г и перевивная опухолевая модель – рак шейки матки мышей РШМ-5. Исследовали ФС: хлорин е6 и его комплексы с поливинилпирролидоном (ПВП) и поливиниловым спиртом (ПВС). Препараты вводили внутривенно в дозе 10 мг/кг. **In vivo** оценивали динамику накопления ФС в опухоли методом поверхностного флуоресцентного имиджинга на установке IVIS-Spectrum. Абсолютные концентрации ФС в опухолях определяли методом тканевой экстракции.

Установлено, что модификация ФС амфифильными полимерами увеличивает время наибольшего содержания ФС в опухоли с 30 мин до 1.5-2 ч. Максимальное отношение флуоресцентного сигнала в опухоли к нормальной ткани (контраст опухоль/норма) составляло для хлорина е6 – 2 в период 0.5-6 ч, е6-ПВП – 1.2 через 6-7 ч, е6-ПВС 2.5 через 4 ч после введения. Абсолютные концентрации ФС в опухолевой ткани по данным тканевой экстракции составили: для хлорина е6 9.22 мкг/г ткани, для комплекса е6-ПВС 6.49 мкг/г, е6-ПВП 4.06 мкг/г. Несмотря на то, что исследованные амфифильные полимеры не оказали влияния на избирательность накопления хлорина е6 в опухоли, предполагается, что они могут повысить их фотодинамическую активность за счет снижения степени агрегации ФС. Поэтому противоопухолевое действие хлорина, модифицированного амфифильными полимерами, требует дальнейшего изучения.

Работа выполняется при поддержке РФФИ (проект № 11-02-01090-а) и Минобрнауки РФ (ГК № 16.740.11.0632)

1. Аксенова Н.А., Глаголев Н.Н., Соловьёва А.Б./ ВМС, 2009, Т. 51, №5, с.с.757-767.

2. Соловьёва А.Б., Мелик-Нубаров Н.С. и др./ ЖФХ, 2006, Т. 80, №1, с.с. 137-143.

3. Michael R. Hamblin, Jaimie L. Miller, Imran Rizvi, et al./ Photobiol, 2006. В. 26(2): 147-57.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИ-КОДИРУЕМОГО ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА KILLER-RED НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ОПУХОЛИ**Study of phototoxic effects of genetically encoded photosensitiser Killer-Red in tumor xenografts**

**Ширманова М.В.¹, Серебровская Е.В.², Лукьянов К.А.², Сироткина М.А.¹,
Минакова Е.А.³, Снопва Л.Б.¹, Бугрова М.Л.¹, Евтеева Н.И.¹, Турчин И.В.⁴,
Лукьянов С.А.², Загайнова Е.В.¹**

¹ – Нижегородская государственная медицинская академия,
603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

² – Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

³ – Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского,
603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

⁴ – Институт прикладной физики РАН, 603950, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46

Генетически-кодируемой фотосенсибилизатор Killer-Red представляет собой флуоресцентный GFP-подобный белок, с молекулярной массой 27 кДа, максимумом возбуждения на 585 нм, флуоресценции – на 610 нм. Killer-Red создан группой С.А. Лукьянова (ИБХ РАН) в 2005 г. Предполагается, что белок работает по I типу фотодинамических реакций с генерацией супероксид-анион радикала. Цитотоксическое и цитостатическое действие этого белка на опухолевые клетки при облучении их зеленым светом продемонстрировано в системах *in vitro*. Задачей нашей работы было изучение фототоксичности белка KillerRed на опухолях животных методами флуоресцентного биоимиджинга и патоморфологического анализа.

Эксперименты проводились на мышах *nude* с подкожно привитой опухолью HeLa – рак шейки матки человека. Опухолевые клетки стабильно экспрессировали красный флуоресцентный белок KillerRed. Наблюдение за изменением размеров опухолей и интенсивности флуоресценции выполнялось *in vivo* методом поверхностного флуоресцентного имиджинга. После многократного лазерного облучения образцы опухолей были отправлены на гистологическое исследование, электронную и конфокальную флуоресцентную микроскопию. Контролем служили опухоли трех групп животных: без белка и без облучения, без белка с облучением, с белком без облучения.

При *in vivo* наблюдении флуоресценции было обнаружено снижение интенсивности сигнала в опухоли после облучения, обусловленное фотовыгоранием белка. Низкая интенсивность флуоресценции сохранялась в течение 3-4 ч и постепенно восстанавливалась к следующим суткам. Патоморфологическое исследование показало наличие выраженных дистрофических изменений в опухолях опытной группы с увеличением числа поврежденных клеток в 9 раз и двукратное увеличение числа клеток с признаками апоптоза.

Полученные результаты позволяют рассматривать генетически-кодируемый фотосенсибилизатор Killer-Red как принципиально новый инструмент для фотодинамического воздействия на опухоли и представляют интерес для онкологии.

Работа выполняется при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (проекты № 11.Г 34. 31.0017, 16.740.11.0632) и РФФИ (проекты №11-04-01427а, 11-02-00916).

**ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОТОКСИЧНОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКИ КОДИРУЕМОГО
ФЛАВОПРОТЕИНА MINISOG НА ОПУХОЛЯХ ЖИВОТНЫХ****The study of phototoxicity of the genetically encoded flavoprotein miniSOG
on experimental tumors**

**Ширманова М.В.¹, Минакова Е.А.², Кузнецова М.М.², Серебровская Е.О.³,
Лукьянов С.А.³, Евтева Н.И.¹, Павликов А.И.¹, Клементьева Н.В.¹, Загайнова Е.В.^{1,2}**

1 - ГБОУ ВПО НижГМА Минздравсоцразвития России,
603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;
2 - ННГУ им. Н.И. Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр Гагарина, 23;
3 - ИБХ РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10.
Тел.: +7(904)7915333; e-mail: kuznetsova.m.m@yandex.ru

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – это метод лечения различных заболеваний, основанный на способности фотосенсибилизаторов (ФС) под действием лазерного излучения генерировать активные формы кислорода, вызывающие повреждение клеток [1]. В качестве перспективных потенциальных ФС в литературе обсуждаются генетически-кодированные фототоксичные белки [2]. Один из них – флавопротеин MiniSOG, состоящий из 106 аминокислот и имеющий два максимума поглощения на 448 нм и 473 нм и максимумы экстинкции на 500 и 528 нм [2, 3]. Его особенностью является способность к восстановлению при связывании с рибофлавином с повторной генерацией синглетного кислорода [4].

Целью работы было изучение фототоксичности генетически кодируемого флавопротеина MiniSOG на опухолях животных.

Эксперименты выполнены на иммунодефицитных мышах линии nude с подкожно привитыми опухолями HeLa Kyoto (рак шейки матки человека). Опухоли клетки были трансфицированы геном фототоксичного флавопротеина MiniSOG митохондриальной и ядерной локализаций. Воздействие проводилось многократно лазером с длиной волны 473 нм в двух режимах, апробированных для другого фототоксичного белка KillerRed [5]. До и после облучения животных наблюдали методом поверхностного флуоресцентного биоимиджинга in vivo. После забоя опухоли были отправлены на гистологический анализ.

Было установлено, что интенсивность флуоресценции опухолей при митохондриальной локализации MiniSOG выше, чем при ядерной (2144,5 отн. ед и 2107,6 отн. ед. соответственно). Обнаружено, что интенсивность флуоресценции опухолей, которые подвергались лазерному воздействию, снижается. В результате перевода клеток леченых опухолей в культуру и анализа их флуоресценции было установлено, что вероятной причиной снижения флуоресценции является то, что флавопротеин MiniSOG в опухоли не восстанавливается. Изучение динамики роста опухолей HeLa и гистологический анализ не выявили фототоксического эффекта белка. Дальнейшие исследования будут направлены на подбор адекватной опухолевой модели и оптимизацию режима воздействия.

Работа выполняется при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (проект 11.G 34. 31.0017) и РФФИ (проекты No.11-04-01427а, 11-02-00916).

1. Castano A.P., Demidova T.N., Hamblin M.R. // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy. 2005. 2(2), 91-106.
2. Shu X, Lev-Ram V et al. / PLoS Biol. 2011. V. 9. № 4.
3. Yingchuan B. Q, Emma J. Garren, et al. / PNAS. 2012. V. 9. P. 1-6.
4. Xiaokun Shu, Varda Lev-Ram et al. / PLoS Biol 2011. 9(4): e1001041.
5. Shirmanova M, Serebrovskay E et al. // J. Biophotonics 1–9 (2012)

СОВМЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭТАНОЛА И РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ НА РЕГУЛЯЦИЮ БИОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ТКАНЯХ МЫШЕЙ**Combined effect of the ethanol and X-ray radiation at low doses on the biochemical processes regulation in tissues of mice****Шишкина Л.Н., Климович М.А., Козлов М.В., Микурова А.В.**

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4;
Тел.: +7(495)939-71-86; факс: +7(499) 137-41-01; e-mail: shishkina@sky.chph.ras.ru

Биологические последствия действия факторов разной природы существенно зависят от дозы и времени после воздействия вследствие неодинаковой чувствительности и способности к восстановлению показателей регуляторных систем организма к этим воздействиям. Как известно, этанол и ионизирующее излучение в малых дозах оказывают выраженное влияние на структурное состояние, физико-химические свойства и состав липидов мембран. Это обуславливает необходимость детального изучения их совместного действия на регуляцию биохимических процессов в тканях мышей.

Работа проведена на мышах линии **Balb/c (самки)**. **Исследованы морфофизиологические** показатели животных и параметры физико-химической системы регуляции перекисного окисления липидов (ПОЛ) в печени и плазме крови мышей в начале эксперимента и спустя месяц после однократного введения 0,5%-ного раствора этанола за 40 мин до рентгеновского облучения мышей в дозе 16 сГр (мощность дозы 16 сГр/мин). Выявлена тенденция снижения относительной массы (индекса) селезенки и способности липидов печени разлагать пероксиды через 30 сут после совместного действия изученных факторов по сравнению с аналогичными показателями как в группе возрастного контроля, так и после введения этанола в малой дозе. Содержание диеновых конъюгатов и кетодиенов в липидах печени достоверно возрастает, а интенсивности ПОЛ в плазме крови мышей уменьшается относительно соответствующих величин в группе контрольных особей после введения и этанола, и последующего за введением этанола облучением мышей.

Анализ взаимосвязей между исследованными параметрами, проведенный с использованием специально разработанных программных модулей, позволил установить, что совместное действие этанола и рентгеновского излучения в малых дозах обуславливает появление ряда новых корреляционных взаимосвязей, отсутствующих в группе контрольных мышей. Так, обнаружены взаимосвязи между индексом печени и массой селезенки, антипероксидной активностью липидов печени и индексом органа, массой печени и относительным содержанием кардиолипина в ее фосфолипидах.

Следовательно, параметры физико-химической системы регуляции ПОЛ в тканях и морфофизиологические показатели могут быть использованы в качестве тестов для оценки биологических последствий совместного действия факторов разной природы в малых дозах на организм.

**ИЗУЧЕНИЕ АГРЕГАЦИИ МЕРОЦИАНИНА 540 В ПРИСУТСТВИИ СОЛЕЙ
МЕТОДАМИ РЕЗОНАНСНОГО И ДИНАМИЧЕСКОГО СВЕТОРАССЕЙНИЯ****Resonance and Dynamic Light Scattering study of Merocyanine 540 aggregation
in the presence of salts****Шмиголь Т.А.¹, Решетов В.А.², Кожина Е.А.¹, Малахов М.В.¹, Потапенко А.Я.¹**

1 – Российский национальный исследовательский медицинский университет им.Н.И. Пирогова, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1.

2 - Centre de Recherche en Automatique de Nancy, Université de Lorraine, CNRS, Centre Alexis Vautrin, Avenue de Bourgogne, 54511, Vandoeuvre-les-Nancy, France.

Тел., +7(495)434-66-76, e-mail: potapenkoalexander@hotmail.com

Мероцианин 540 (МЦ540) – анионный фотосенсибилизатор, применяемый для инактивации бактерий и в фотодинамической терапии. Фотофизические и фотохимические свойства МЦ540 сильно зависят от микроокружения и агрегатного состояния. Известно, что в дистиллированной воде МЦ540 присутствует в мономерной и димерной формах, тримеры образовываться не могут из-за электростатического отталкивания анионных групп. При добавлении солей происходит экранировка анионных групп МЦ540 катионами соли и агрегация красителя становится возможной. Возникающие в присутствии солей изменения спектров поглощения описаны в литературе, однако спектрофотометрия недостаточно специфична для выявления различных агрегатных форм красителя. В настоящей работе нами в сочетании со спектрофотометрией использован метод резонансного светорассеяния (РСР), позволяющий избирательно и с высокой чувствительностью регистрировать агрегаты красителей даже в многокомпонентных системах, в которых присутствуют значительные количества мономеров или других красителей. Обнаружено, что при малых концентрациях соли наблюдается гипохромный эффект без изменения формы спектров поглощения, указывающий на формирование рыхлых агрегатов красителя, РСР отсутствует. Начиная с критической концентрации соли (ККС) происходит изменение формы спектров поглощения и появляется быстро увеличивающийся с ростом концентрацией соли сигнал РСР, свидетельствующий о формировании вызванных добавлением соли плотно упакованных агрегатов МЦ540 с экситонным взаимодействием между пи-электронными системами молекул в агрегатах. Величина ККС зависит от концентрации МЦ540. Обнаружено, что в растворах солей одновалентных катионов существует произведение растворимости ионизированных форм МЦ540 (подобно произведению растворимости воды), равное $(1,34 \pm 0,11) \cdot 10^{-6} \text{ M}^2$. Величина ККС для солей с одинаковыми анионами (Cl^-) сильно зависит от валентности катионов и убывает в ряду $\text{K}^+ = \text{Na}^+ \gg \text{Ca}^{2+} = \text{Mg}^{2+} \gg \text{Al}^{3+}$, что согласуется с известным в коллоидной химии правилом Шульце-Гарди. Методом динамического светорассеяния определены размеры агрегатов МЦ540, оказалось, что если концентрация соли превышала величину ККС в 2-3 раза, то, независимо от валентности катионов, гидродинамический диаметр агрегатов составлял около 500-700 нм.

**ВЛИЯНИЕ АГРЕГАТНОГО СОСТОЯНИЯ МЕРОЦИАНИНА 540 НА ЕГО
ФОТОВЫЦВЕТЕНИЕ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ****Influence of the aggregation state of Merocyanine 540 on its photobleaching
and antibacterial photodynamic effects****Шмиголь Т.А., Малахов М.В., Потапенко А.Я.**

Российский национальный исследовательский медицинский университет
им.Н.И. Пирогова, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1.
Тел., +7(495)434-66-76, e-mail: potapenkoalexander@hotmail.com

Мероцианин 540 (МЦ540) – анионный фотосенсибилизатор, применяемый для фотинактивации бактерий. В дистиллированной воде МЦ540 присутствует в форме мономеров и димеров, а при добавлении солей происходит его агрегация, обнаруживаемая по возникновению интенсивного резонансного светорассеяния (РСР). Существует критическая концентрация соли (ККС), выше которой возникает и быстро растет сигнал РСР, свидетельствующий о появлении агрегатов красителя. Исследование фотовыцветания растворов МЦ540 показало, что наименьшая скорость фотолиза наблюдалась в дистиллированной воде, где агрегатов нет. С увеличением концентрации соли выше величины ККС происходит резкий рост скорости фотовыцветания. Из литературы известно, что только мономеры МЦ540 способны фотогенерировать синглетный кислород. Нами обнаружено, что ловушки свободных радикалов аскорбат и ионол не влияют на фотовыцветание МЦ540 в дистиллированной воде и значительно ингибируют фотолиз агрегированных форм красителя в солевых растворах. Сделан вывод, что в отсутствие соли доминирует фотовыцветание МЦ540 с участием синглетного кислорода, а агрегация облегчает перенос электронов между электронно-возбужденными и невозбужденными молекулами красителя. В многочисленных публикациях по антибактериальному фотодинамическому действию МЦ540 не было попыток повлиять на эффективность процесса путем изменения агрегатного состояния этого красителя. В настоящей работе фотосенсибилизированную 25 мкМ МЦ540 гибель бактерий *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* изучали в дистиллированной воде и в 0,25 М растворе NaCl, где краситель в основном находился в форме крупных агрегатов. Показано, что в присутствии соли скорость гибели *P. aeruginosa* возросла в 15 раз, а *S. aureus* – в 25 раза по сравнению с дистиллированной водой. Одновременно в солевом растворе фотоокисление МЦ540 ускорялось примерно в 20 раз. Т.о., вызванная добавлением соли агрегация МЦ540 способствовала значительному повышению эффективности фотодинамической гибели бактерий путем переключения механизма с фотогенерации МЦ540 синглетного кислорода на свободнорадикальный. Наивысшая антибактериальная эффективность наблюдалась, если облучение проводилось сразу после смешивания агрегатов МЦ540 с бактериями, и снижалась, если агрегаты предварительно инкубировали с клетками в течение 40 минут, по-видимому, за счет мономеризации красителя при длительном контакте агрегатов с клетками.

РОЛЬ НИТРОКСИЛЬНОГО АНИОНА В ОБРАЗОВАНИИ ДИНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА С РАЗЛИЧНЫМИ ЛИГАНДАМИ**The role of nitroxyl anion in the formation of dinitrosyl iron complexes with different ligands****Шумаев К.Б.^{1,2}, Свириева И.В.¹, Космачевская О.В.², Хапчаева С.А.², Ванин А.Ф.³, Ланкин В.З.¹, Рууге Э.К.¹**

¹ – ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздрава России, 121552 Москва, 3-я Черепковская ул., 15а;

² – Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, 119071 Москва, Ленинский пр., 33;

³ – Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, 119991 Москва, ул. Косыгина, 4
Тел.: +7(495)414-67-52; факс: +7(495)414-66-99; e-mail: tomorrow@mail.ru

В живых системах оксид азота может существовать в виде нейтральной молекулы (NO), нитрозония (NO⁺) и нитроксильного аниона (NO⁻). Катион нитрозония входит в состав таких физиологически активных производных NO как нитрозильные комплексы железа. В то же время, NO⁻ является наименее изученным метаболитом NO. Известно, что NO⁻ и динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) обладают гипотензивным, кардиопротекторным и антиоксидантным действием. С другой стороны, прооксидантные свойства нитроксильного аниона связаны с продукцией пероксинитрита в реакции NO и O₂.

Обнаружено, что в отличие от NO нитроксильный анион не участвует в формировании ДНКЖ в системе, содержащей ионы Fe²⁺ и цистеин. Однако, цистеиновые ДНКЖ образуются в присутствии коэнзима Q₁ (CoQ₁). При этом в результате одноэлектронного окисления NO⁻, возникают оксид азота и убисемихинон. Напротив, ДНКЖ, лигандами которых является дипептид карнозин, образуются в условиях генерации NO⁻. Можно предположить, что железо карнозиновых ДНКЖ координировано с азотом имидазола, который с участием NO⁻ восстанавливается до имидазолят-аниона. Известно, что карнозин защищает биополимеры от модификации соединениями, содержащими реакционно-способную карбонильную группу. Накопление активных карбонильных соединений, в том числе метилглиоксаль, происходит при диабетической гипергликемии. В наших экспериментах метилглиоксаль стимулирует синтез карнозиновых ДНКЖ. В связи с этим, представляется вероятным, что в образовании ДНКЖ могут участвовать редокс-активные продукты реакции метилглиоксаль и карнозина. Необходимо отметить, что окислительную модификацию биологических молекул может вызывать оксоферрильная форма гема (порфирин-Fe^{IV}=O). Нами установлено, что различные ДНКЖ и NO⁻ восстанавливают оксоферрилмиоглобин до метмиоглобина. Более того, под действием NO⁻ происходит восстановительное нитрозилирование метмиоглобина. Интересно, что CoQ₁ ингибирует вызванную нитроксильным анионом деструкцию плазмидной ДНК. Образование в этих условиях динитрозильных комплексов железа также предотвращает свободнорадикальное повреждение ДНК. Мы полагаем, что исследованные процессы играют важную роль при патологиях, связанных с окислительным и карбонильным стрессом. Причём, взаимодействие NO⁻ с другими редокс-активными компонентами живых систем определяет баланс его токсических и протекторных свойств.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (гранты 12-04-01246-а и 12-04-01809-а).

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ БИОФИЗИКО-БИОХИМИЧЕСКИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ХИМИЧЕСКИХ МУТАГЕНОВ И МОДИФИКАТОРОВ С БИОЛОГИЧЕСКИМИ СИСТЕМАМИ. ВНЕДРЕНИЕ В ПРАКТИКУ.**Some aspects of biophysical – biochemical interrelations of chemical mutagens and modifiers with biological systems. Introduction in practice.****Эйгес Н.С., Волченко Г.А., Волченко С.Г.**

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН. 119334 Москва, Косыгина 4.
volchenkos@mail.ru

Иосифу Абрамовичу Рапопорту удалось среди множества химических соединений найти свыше 300 сильных химических мутагенных веществ, включая наиболее сильно действующие, которые сыграли столь большую роль при внедрении в разные области, включая сельское хозяйство. Вызывают большой интерес соединения, также глубоко изученные Рапопортом, которые вызывают ненаследственные изменения – модификации, в частности фенкопии, имитирующие мутации. Из химических мутагенов наиболее эффективны супермутагены – этиленимин, нитрозоалкилмочевины, и многие другие. Среди модификаторов наибольший интерес представляет антиоксидант пара-аминобензойной кислоты (ПАБК), которая была внедрена с нашим участием в сельское хозяйство в 90-е годы 20-го века. Механизмы действия химических мутагенов и модификаторов различны. Но основа действия тех и других (т.е. ключ, по выражению О.Г. Строевой) одна и та же. Это дипольный момент. Рапопортом открыты различия в его величине у химических мутагенов и у модификаторов. Величина дипольного момента у супермутагенов ниже, чем у модификаторов и составляет 2,4 – 2,7Д (Д – единица измерения дипольного момента – 1 Дебай). У модификаторов дипольный момент значительно сильнее и составляет от 4Д и выше. В этом и состоит ключ, по которому Рапопорт подбирает сильные хим. мутагены и модификаторы. Дипольный момент молекул хим. мутагенов соответствует дипольному моменту генетического материала клетки. По-видимому, на этом основано сродство хим. мутагенов с генетическим материалом. На основе этого сродства заключаем о специфичности действия хим. мутагенов. Очевидно, имеется некоторая вероятность в будущем приближения к направленному действию хим. мутагенов в отличие от ионизирующей радиации, действие которой более случайно. Мы показали, что в диапазоне наиболее эффективных доз, возникают преимущественно генные мутации, определяющие широкий спектр хозяйственно-полезных признаков, на основе чего была создана крупная коллекция хозяйственно-ценных хемомутантов озимой пшеницы и новые сорта. В диапазоне высоких доз преобладают разрывы углеродной цепи ДНК и возникают перестройки хромосом. Этот феномен мы определяем как радиомиметический эффект хим. мутагена в высоких дозах, для которого характерен узкий спектр мутаций и низкая частота мутаций, определяющих хозяйственно-ценные признаки. Модификаторы с более сильным дипольным моментом мутаций не вызывают, но вступают в комплексы с ферментами, активируя их. Морфозы часто отличаются положительными свойствами, что используется нами для повышения урожая и снижения поражения фитопатогенами. Модификаторы не вызывают наследственных изменений признаков по-видимому по причине несоответствия их дипольного момента дипольному моменту генетических структур клетки. Рапопорт называет ПАБК сильным фенотипическим активатором, который можно широко использовать в сельском хозяйстве и других областях, но уже на ненаследственном уровне.

**ОСОБЕННОСТИ МАГНИТНОГО РЕЗОНАНСА КРИСТАЛЛИЧЕСКИХ ЧАСТИЦ
ОКСИДОВ ЖЕЛЕЗА В ОПУХОЛЕВЫХ ТКАНЯХ ЧЕЛОВЕКА****Magnetic resonance characteristics of iron oxide crystalline particles
in human tumor tissues**

**Юртаева С.В.¹, Ефимов В.Н.^{1,2}, Родионов А.А.², Бурмистров М.В.³, Рагинов И.С.³,
Панов А.В.³, Скворцова Л.С.³**

¹ – Казанский физико-технический институт КазНЦ РАН им. Е.К. Завойского,
420029, Казань, Сибирский тракт, 10/7;

Тел.: + (843)272-05-03, факс: + (843)272-57-50; e-mail: yurtaeva@mail.knc.ru

² – Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, Кремлевская, 18;

³ – Приволжский филиал РОНЦ им Н. Н. Блохина РАМН,
420029, Казань, Сибирский тракт, 29

Известно, что опухолевые ткани могут содержать повышенное количество кристаллических наноразмерных частиц оксидов железа в форме наночастиц магнетита, местом локализации которых могут служить молекулы белка ферритина. В настоящее время наблюдается рост интереса исследователей к молекулам ферритина в связи с возможностью их участия в развитии онкологических заболеваний и в возникновении резистентности опухолевых клеток к лучевой и химиотерапии.

Одним из методов, позволяющих получать информацию о свойствах кристаллических наночастиц, является метод электронного магнитного резонанса (МР). Целью данной работы было изучить свойства кристаллических частиц, содержащихся в опухолях, методом МР-спектроскопии и сравнить характеристики спектров МР магнитных наночастиц в здоровой и опухолевой тканях. Знание химической структуры таких кристаллических частиц может способствовать пониманию их роли в возникновении и развитии онкологических заболеваний.

Методом МР были изучены образцы лиофилизированных опухолевых тканей шейки матки, подвергавшихся и не подвергавшихся лучевой терапии. Измерения проводились в диапазоне температур 4 - 280 К. У 25% образцов в спектре МР обнаружены сигналы ферромагнитного резонанса (ФМР) железосодержащих наночастиц, которые, по-видимому, принадлежат белку ферритину с ядром, обладающим кристаллической структурой магнетита. Обнаружено два типа сигналов ФМР изотропный низкополевой и анизотропный высокополевой, изучены их угловые и температурные характеристики. Обнаружены аномалии в температурных зависимостях спектров МР этих частиц вблизи температуры 125К, характерные для фазового перехода Вервея в магнетите. Предполагается, что высокополевой сигнал ФМР соответствует упорядоченным массивам из молекул ферритина с кристаллическим ядром в форме магнетита. Характеристики спектров МР частиц ферритина опухолевых тканей имеют отличия от характеристик МР суперпарамагнитных частиц ферритина здоровых тканей, изучавшихся ранее.

В спектрах всех облученных опухолевых тканей возникают низкополевые сигналы (g~5), соответствующие агрегатам магнитных частиц, возможно в форме гемосидерина. Сигнал МР с g~5, может отражать разрушительные последствия облучения опухоли.

Полученные результаты коррелируют с результатами работ, выполненных другими методами. Результаты изучения наночастиц ферритина могут иметь и прогностическое значение при лечении онкозаболеваний.

Работа частично поддержана грантом РНП-6183 Министерства образования и науки РФ.

ИССЛЕДОВАНИЕ АГРЕГАЦИИ И СЛИЯНИЯ ФОСФОЛИПИДНЫХ НАНОЛИПОСОМ ИНИЦИИРУЕМЫХ ФЛАВОНОИДАМИ В ПРИСУТСТВИИ Fe^{2+} И Ca^{2+} **The study of aggregation and fusion of phospholipid nanoliposome initiated flavonoids in the presence of Fe^{2+} and Ca^{2+}** **Ягольник Е.А.¹, Тараховский Ю.С.², Музафаров Е.Н.¹, Махмутов Б.Б.³, Ким Ю.А.⁴**¹ – Тульский государственный университет, 300600, г.Тула, пр-т Ленина, 92;² – Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино, Московской обл., ул. Институтская, 3;³ – КГУ им Коркыт Ата, 060012, г. Кызылорда, Республика Казахстан, ул. Айтеке Би, 29А;⁴ – Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, Московской обл., ул. Институтская, 3.
Тел.: +7(920)272-60-83; e-mail: yea_88@mail.ru

Растительные полифенолы: кверцетин, таксифолин, катехин и морин в присутствии ионов железа способны инициировать агрегацию липосом из пальмитоил-олеоил-фосфатидилхолина, что сопровождается ростом светорассеяния. В присутствии катионов кальция указанный эффект усиливается. Анализ величины резонансного переноса энергии (FRET) между флуоресцентно мечеными липидами NBD-фосфатидилэтаноламин и лиссамин-родамин-В-фосфатидилэтаноламин показало, что кальций инициирует медленный процесс обмена липидов между липосомами, развивающийся в течение десятков минут. При этом фотонно-корреляционная спектроскопия и электронная микроскопия замораживания-скальвания обнаруживают увеличение размеров частиц, слияние липосом и образование гигантских везикул. Указанные явления не наблюдались при использовании флоретина, не способного образовывать комплекс с молекулами двухвалентного железа, а также рутина, не взаимодействующего с фосфолипидным бислоем.

Экспериментальные данные и компьютерные расчеты липофильности и распределения зарядов в молекулах комплексов позволяют предположить, что молекулы кверцетина, таксифолина, катехина и морина, находящиеся в соседних мембранах, могут взаимодействовать друг с другом через мостик, образуемый катионами железа, что вызывает адгезию липосом. Катионы кальция способствуют сближению мембран и инициируют слияние липосом, поскольку могут образовывать мостики между фосфатными группами липидов соседних бислоев.

Возможное участие флавоноидов в процессах адгезии мембран является еще одним важным аспектом их влияния на организм и предположительно может оказывать влияние на динамику процессов эндо- и экзоцитоза в клетке. Эти явления могут пролить свет на роль растительных полифенолов в защите клеток от различных видов инфекции, протекающих с участием эндоцитоза, или в развитии воспалительных процессов.

Возможно, что флавоноиды, участвуют также в процессах межклеточного взаимодействия и коммуникации, где адгезия мембран играет существенную роль.

Способность полифенольных соединений участвовать в процессах адгезии мембран из фосфатидилхолина исследовалась ранее на примере таниновой кислоты [1]. Полифенолы, например кверцетин, способны оказывать влияние на адгезию мембран, а также на экспрессию белков адгезии, участвующих в процессах эндоцитоза и транспорта веществ в клетку [2].

1. Simon, S.A., E.A. Disalvo, K. Gawrisch, et al. / Biophys.J., 1994. V. 66. P. 1943-1958.

2. Mochizuki M.K., Kajiji et al., Biofactors, 2004. V.22. P.201-204.

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВНУТРЕННЕЙ МЕМБРАННОЙ СИСТЕМЫ ЗЕЛЕННОЙ ВОДОРОСЛИ CHLAMYDOMONAS REINHARDTII P.A. DANG В УСЛОВИЯХ ПРОДУЦИРОВАНИЯ ВОДОРОДА

Cytological features of inner membrane system of green alga *Chlamydomonas reinhardtii* P. A. DANG during hydrogen production

Якимова О.В., Белявская Н.А.

Институт ботаники им. Н.Г.Холодного НАН Украины
ул. Терещенковская, 2, 01601, Украина, e-mail: membrane@ukr.net

Использование фотосинтеза как эффективного и экологически безопасного природного механизма трансформации солнечной энергии для создания современной альтернативной энергетики особенно актуально в связи с кризисом традиционной невозобновимой энергетической системы. Одним из наиболее известных и изученных живых продуцентов альтернативного топлива будущего является одноклеточная зеленая водоросль *Chlamydomonas reinhardtii*.

Без кислорода и серы метаболический аппарат водоросли претерпевает принципиальные изменения, которые, в конечном счете, приводят к остановке световой фазы фотосинтеза в результате повреждения белка D1 второй фотосистемы и к активации продукции водорода в результате работы ферредоксин-зависимых гидрогеназ.

Однако взаимосвязь этих изменений недостаточно изучена. А работы по изучению данных процессов на клеточном уровне до сих пор практически отсутствуют.

В работе нами использовалась альгологически чистая культура *Chlamydomonas reinhardtii*. Для сравнения с экспериментальными данными были взяты 2-х дневные клетки культуры, выращенные в присутствии серы и кислорода.

Показано, что в условиях продуцирования водорода общая структура клеток сохраняется. Она представлена ядром с ядрышком, крупной пластидой, содержащей пиреноид, крупной вакуолей с электроноплотным содержимым, представляющим собой непереработанные остатки клеточных компонентов.

Обращает внимание низкая плотность компонентов клеточной оболочки, что предполагает их структурные изменения, а в некоторых участках – утончение. Количество и размеры митохондрий не изменяются, однако возрастает плотность матрикса и появляются интрамитохондриальные гранулы, что свидетельствует об изменении ионного состава матрикса митохондрий. Четко видны изменения упаковки мембран в хлоропластах. Гранны приобретают извилистую форму. В ряде случаев наблюдается разрыхление гран и увеличение ширины межтилакоидного пространства.

Нашими морфометрическими исследованиями показано уменьшение площади, липидных тел, полифосфатных гранул, ядра, крахмальных зерен и хлоропласта. Соответственно, увеличивается площадь цитоплазмы. Кроме того увеличивается высота гран.

Исследование относительных объемов клеточных компонентов показало, что в экспериментальных условиях происходит уменьшение объема хлоропласта, что может свидетельствовать о снижении фотосинтеза.

Уменьшение объема крахмальных зерен хорошо согласуется с данными, полученными в лаборатории Мелиса.

ОЖИРЕНИЕ – СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНАЯ ПАТОЛОГИЯ**Ярош О.Г., Журавлев А.И.**

Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И.Скрябина, 109472, Москва, ул.Акад.Скрябина, д.23, Тел. 8(495)377-77-16, 451-70-84; e-mail:mitinki@mail.ru

Ожирение крыс вызывали скормливанием избытка жиров, и к 28-м суткам показатель ожирения – индекс Ли увеличивался с 132 до 430 (норма 300).

К 28 суткам проявились все критерии свободно-радикальной патологии:

1. В сыворотке крови увеличилась концентрация продуктов свободно-радикального (перекисного) окисления: диеновых конъюгатов усл.ед/мл до 9,10 по сравнению с 2,57 в 1-ой контрольной группе; малонового альдегида н.моль/мл до 9,05 при норме 2,24.

2. Интенсивность спонтанного сверхслабого свечения (ССС) увеличилась с 18,6 до 62,7 имп/10с.

3. Снизилась емкость антиокислительной системы: содержание токоферола в сыворотке снизилось с 4,2 до 2,2 мкМ/л. Эти физико-химические изменения привели к повреждениям мембран, для эритроцитов их устойчивость к гемолизу снизилась по времени полного гемолиза с 670 до 280 секунд.

4. Компенсаторно увеличилась активность СОД с 4,08 до 45,6 усл.ед/мг белка.

Возникновение свободно-радикальной патологии подтверждается выраженным профилактическим действием антиоксиданта ДИЛУДИНА, вводимого в рацион 4-ой группы 12 мг/кг в течение всего опыта.

К 28-м суткам дилудин снижает: ожирение – индекс Ли с 430 до 360; концентрацию диеновых конъюгатов с 9,10 до 4,08 усл.ед/мл; малонового альдегида с 9,05 до 4,10 н.моль/мл; интенсивность СССР с 62,7 до 26,8 имп/10с. Увеличивает концентрацию токоферола с 1,6 до 2,2 мкМ/л, время полного гемолиза эритроцитов с 280 до 505 секунд, и снижает необходимость компенсаторного действия сод с 45,6 до 7,2 усл.ед/мг белка.

Выводы: Тесты: СССР и критерии СРО являются объективными характеристиками тяжести процесса ожирения. Для профилактики и лечения ожирения помимо сокращения калорийности рациона и длительных регулярных физических нагрузок необходим рацион с высоким содержанием антиоксидантов: любой зелени, черной смородины, моркови, ржаного хлеба на дрожжах, капуста, лимон.

STRUCTURE CHARACTERISTICS OF THE WATER-KOH-PEQ (4000) SYSTEMS

Masimov E.A., Hasanov H.S., Pashayev B.G., Musayeva S.İ.

Baku StateUniversity, Institute of Problems of Physic p.g.bakhtiyar@gmail.com

It is well known that studying of structural parameters of biological systems is one of the key problems in modern biophysics and physical chemistry. Investigations on a complex set of variable parameters determining the system are required to achieve the goals of the study. Obviously the use of different investigative techniques and experimental methods should be established and then exploited to study the same biological system so that a suitably broad range of information about the structure can be collected; processed and brought up to accurate conclusion.

In this work the Water -KOH-PEQ (4000) systems dynamic viscosity and density have been measured over the PEQ molar concentration range 0 - 0.001 mol/kg at a temperature interval 293.15 - 323.15 K. The 0.01 molar concentration solution of KON has been used as a solvent.

Based on experimental results the entropy of activation of viscous flow (ΔS_{η}^*), the structure temperature of the solution (T_o), the partial molar volume of the substance solved in solution (\tilde{V}) have been identified and the influence of concentration on these parameters have been analyzed.

It has been established that for both the Water -PEQ and Water- KOH-PEQ (4000) systems ΔS_{η}^* and T_o increase with increasing the concentration of PEQ. In contrast, \tilde{V} was determined decreased as the concentration of PEQ increased. This led to the suggestion that the systems became more orderly structured with increase of the concentration of PEQ.

When a Water-KOH solution was used it has been observed that as the concentration of PEQ increased the values of the ΔS_{η}^* , T_o and \tilde{V} parameters were dropped. It brings to conclusion that the system when influenced by KOH became destructured.

By referring to the cluster formation in water model suggested by Nemeti and Sheraga to study water structures it can be assumed that in the systems under investigation the water molecules (primarily nonbonded molecules of water) through the meditation of hydrogen bonds surround the PEQ molecules and as a result some heavier molecular weight aggregates are formed.

Increase of the concentration of PEQ results in increasing the number of such aggregates in solution and as the aggregates grow in molecular weght the solution structure becomes more stuctured.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

А		Алова А.В. I 19	Ахвердиева Г.А. I 29
Абаева А.А.	I 7	Амерханов З.Г. I 20, I 145	Ахмедов Н.А. I 30, I 126
Абатурова А.М.	I 297	Ананьева Ю.Е. III	Ахмедова Р.Ш. IV 63, IV 64
Аббаслы Р.М.	I 30, I 126	11, III 201	Ахмедова С.Р. I 30
Аббасов Х.Ф.	III 153	Анашкина А.А. I 21	Ахметшин М.О. II 33
Абдрахимов Ф.А. III 14, III 103, III 220		Андреев А.А. II 60, IV 10	Аюпов Р.Х. IV 17
Абдуллаев Х.Д. I 153		Андреев В.П. III 12	
Абдуллаева Э.А. III 149		Андреев С.Г. III 233	Б
Абдуллин А. II 7		Андреева Л.А. I 22	Бабаев А.А. III 193
Абдулнасыров Э.Г. I 160		Андреева Ю.В. III 13	Бабушкина Т.А. III 18
Абдурахманов Р.Г. I 90		Андрианов В.В. II 13, II 24	Баврина А.П. II
Аболтин П.В. II 8		Андропова В.Л. I 85, I 285, III 19	16, III 165
Абрамов Е.Г. IV 7		Анисимов А.В. I 23, I 268, III 14, III 15, III 103, III 220, IV 11, IV 88	Багиров Т.О. IV 63, IV 64
Абрамов М.Е. III 169		Аносов А.А. I 216	Багирова Э.Д. III 63
Аветисян А.В. II 9		Антал Т.К. I 192	Баграев Н.Т. I 31
Авилова Е.А. IV 42		Антипов С.С. I 240	Баграташвили В.Н. I 154
Авсиевич Т.И. I 8		Антоненко Ю.Н. I 253, I 269, I 276, IV 12	Багров Д.В. IV 33
Автономов Д.М. III 39		Антонец В.А. II 14, II 121, IV 13	Бажич В.Б. I 167
Агаева Г.А. I 9, I 10		Антонец М.А. IV 13	Бажулина Н.П. I 85, III 19
Агаева Л.Н. I 75		Антонов В.Г. I 169, I 202	Базиян Б.Х. IV 100
Агаева У.Т. I 11		Антонов В.Ф. I 24, I 216, I 224, I 245	Байдер Л.М. III 20
Агапов И.И. I 253		Антропова И.Г. III 118	Байжуманов А.А. I 131
Агладзе К.И. I 124, II 52		Аптикаева Г.Ф. III 216	Байрамов А.А. II
Агрба П.Д. III 7, III 115		Арефьев А.Б. IV 14	143, III 231
Адакеева С.И. I 95		Аржаник В.К. I 25	Байрамова С.А. III 50
Адашевская Л.В. III 166		Ариповский А.В. III 51	Бакшаева Е.А. III 7, III 115
Адельянов А.М. I 12		Артамонов Д.Н. III 169	Балабаев Н.К. I 33,
Акатов В.С. III 121		Артеева Н.В. I 173	I 74, I 177
Акберова Н.И. IV 17		Артемова Н.В. I 26, I 272	Балабанова Л.А. IV 56
Аквасальенте Л. III 214		Артемьев М.В. III 98	Балаев Н.В. I 148, I 237
Акимкин Т.М. III 8, III 224		Артюхов В.Г. I 32, I 35, I 180, I 208, IV 15, IV 96	Балакин В.Е. III 216
Акимов Н.Б. IV 8		Артюшенко С.В. I 27	Балалаева И.В. III 21, III 59, III 79, III 110, III 119, III 140, III 147, IV 34
Акимов С.А. I 36		Архипова В.С. I 85, III 19	Баландина А.Н. II 41, III 17, III 56, III 218
Акинчиц Е.К. I 13, I 286		Арчаков А.И. I 130, I 325	Балахнина И.А. III 22
Аксенова Г.Е. I 299		Арчакова Л.И. I 277	Балашенко Н.А. IV 46
Албантова А.А. I 203		Асадов Ч.Д. I 83	Балашов С.П. III 23
Алексеев А.А. II 10, IV 65		Асланиди К.Б. I 111	Балнокин Ю.В. I 324
Алексеева О.М. I 14, I 203		Астафуров В.И. II 15, III 16, IV 16	Балобанов В.А. I 34
Алексеенко Л.Л. III 9		Астафурова М.В. IV 16	Баранов И.А. III 24
Алексейчук И.В. II 11		Асташев М.Е. I 28, I 275	Баркин В.В. III 43, III 53, III 162
Аленина К.А. I 15, I 16		Атауллаханов Ф.И. I 7, I 25, I 64, I 225, II 41, II 139, III 17, III 56, III 88, III 142, III 218	Барон А.В. IV 81
Алесенко А.В. II 12		Аткарская М.В. III 233	Баррет Г. II 7
Алескерова Л.Э. I 15, I 16		Ахадов Т.А. II 144	Бартон Х.А. II 21, II 66
Алиев Г.Н. I 197, III 155			Бартуник Г. I 274
Алиев Р.Э. I 17, IV 9			Барцез С.И. I 17, 42
Алиев Т.К. III 75			Барцева О.Д. II 17
Алиева И.Н. I 70			Басырова А.М. I 115
Алиева М.Ю. III 10, III 149			
Алифов А.А. I 18			
Алишева Д.А. IV 89			

Батищев О.В.	I 189	Богданов М.В.	I 89	Булыгин Ф.В.	I 171
Батяновский А.В.	I 209	Богданова А.Б.	III 28	Бульчев А.А.	I 19, I 53, II
Бахметьева О.И.	I 35	Богданова Л.А.	II	22, III 186	
Бахмутова А.А.	II 18	143, III 231		Бункин А.Ф.	I 235
Бахолдина С.И.	I 89	Богданова Л.Р.	I 112	Буравлев Е.А.	III 156
Бахчина А.В.	IV 18	Богдвид Т.Х.	II 24	Буравлев Е.В.	III 242
Башкатов А.Н.	III 52	Богомолова Е.В.	III 33	Бураков А.О.	IV 20
Башкиров П.В.	I 12, I 36,	Божков А.И.	II 101	Бурлакова Е.Б.	I 14, I 104,
I 37, I 269		Болдырихин В.С.	III 227	I 203, I 296, III 42, III 86, III 233	
Башмаков Д.И.	III 206	Болотанова М.К.	II 143, III	Бурмистров М.В.	III 252
Безруких А.Е.	III 25	34, III 231		Бурова Е.Б.	III 36
Безсонов Е.Е.	I 38,2 I 49	Болотина Л.Н.	III 196	Бутанаев А.М.	II 161
Безухова О.В.	III 219	Большевцева Ю.В.	II 102	Бутов С.Н. I 202	
Бейлина С.И.	I 195, I	Большакова А.В.	II 79	Бутылин А.А.	II 139
196, II 138		Бондарь А.Т.	II	Бухараева Э.А.	II 29, II
Белашева И.Б.	I 205	25, III 234		108, II 125, II 155	
Белая М.Л.	I 174	Бондарь В.С.	II 37, IV 81	Бухман В.М.	II 89
Белая О.Л.	III 20	Борзинов В.В.	III	Бушук Б.А. I 54	
Беленко А.И.	III 26, III 27	35, III 135		Бушук С.Б. I 54	
Белецкая Е.А.	III 80	Борзова В.А.	I 46	Буянов Л.С.	III 43
Белкин А.В.	III 28	Борисова М.М.	I 118	Быков Н.А.	I 183
Белкина Н.А.	III 28	Борисова М.П.	I 47, IV 29	Быкова О.В.	I 55, I
Беллюстин Н.С.	III 29	Боровиков Ю.С.	I 270	143, III 151	
Белов В.В. III 148		Бородин А.В.	I 48	Быстрицкая Е.П.	IV 58
Белов Д.Р. II 11		Бородкина А.В.	III 36	Быстрова М.Ф.	IV 21
Белова А.С.	III 30	Бороновский С.Е.	I 176, I	Бычкова А.В.	III
Белова Л.П.	I 39	198, I 293, II 26, II 55, II 80		200, IV 22	
Белова М. II 19		Боряк О.А.	IV 51	Бычкова В.Е.	I 34
Белова Н.А.	III 83, III 97	Бошкова Е.А.	I 49		
Белова С.П.	I 60	Брагин В.А.	I 50, I 302	B	
Белозерская Т.А.	III 31	Браже А.Р. I 171, I 228, II 27		Вагабова З.С.	I 56
Белолипецкий П.В.	II 42	Браже Н.А.	I 228	Вайнштейн Г.Б.	III 13
Белослудцев К.Н.	I 40	Бражников Е.В.	I 51	Валеев Н.В.	II 36
Белослудцева Н.В.	I 40	Брайловская И.В.	I 149	Валиулина А.Ф.	III 54
Белостоцкий А.А.	I 41, I 42	Брандт Н.Н.	I 48, III 22	Валиуллина Ю.А.	I 57
Белостоцкий А.А.	II 20	Брегадзе В.И.	III 87	Валуева Т.А.	I 120
Белоусов В.В.	III 30	Бржевская О.Н.	I 210	Ванг Дж.М.	III 23
Белых Д.В.	III	Брилинская Е.С.	I 31	Ванг К.Дж. I 48	
241, III 242		Брилкина А.А.	III 21, III	Ванин А.Ф.	III 44, III
Белых С.В. II 21		30, III 79		130, III 226, III 227, III 250	
Белявская Н.А.	I 62, III 254	Брусков В.И.	III 37, III 60	Ванюшин Ю.	II 7
Беляева Е.А.	I 43	Буглак А.А.	I 289, II	Вапняр В.В.	III 45
Беляева Н.Е.	II 22	28, III 46		Вартанов А.В.	II
Бенсон Н. II 45		Бугрова А.Е.	III 38, III	71, III 120	
Бережная Е.В.	II 23, II 72	39, III 130		Варшавский М.А.	IV 45
Береза Н.С.	III 113	Бугрова М.Л.	III	Василевич И.Б.	I 241
Березняк Е.Г.	I 44, I 45	82, III 245		Василевский А.А.	IV 53
Березовский В.А.	III 32, IV 19	Будкевич Р.О.	I 52	Василевский Ю.В.	II 40
Бершицкий С.Ю.	I 307	Буко И.В. III 58		Васильев А.Н.	I 138, II 82
Бинюков В.И.	I 203	Букреева Т.В.	III 40	Васильев В.Б.	I 77, I 274,
Бичан О.Д.	III 58	Булай П.М.	I 312, II 46,	III 185, III 214	
Бобров М.Ю.	II 100	II 47, II 118		Васильев В.Д.	I 34
Бобылёв А.Г.	I 238	Булгаков А.А.	IV 57	Васильев М.М.	III 84
Бобылёва Л.Г.	I 238	Булгаков Н.Г.	III.41	Васильев Н.С.	I 119
Богатырёва Н.С.	I 71	Булойчик Ж.И.	IV 75, IV	Васильев С.А.	III
Богданов И.В.	III 113	101, IV 102			

56, III 218		Г		Головко В.А.	I 173
Васильева А.А.	II			Головченко А.Н.	II 24
143, III 231				Голомысова А.Н.	II 38
Васильева-		Гаврилюк Б.К.	IV 25	Голощапов А.Н.	I 14, I
Вашакмадзе Н.С.	II 30	Гаврилюк В.Б.	IV 25	203, I 296	
Вахромеева Т.А.	I 15, I 16	Гаврина А.И.	III 244	Голубев А.В.	IV 27,
Вахрушева О.А.	III 216	Гаджиев З.И.	I 70	IV 47, IV 84	
Вашанов Г.А.	I 172, I 256	Гаджиева Л.С.	I 69	Голубева Е.А.	I 204
Вашченко О.В.	IV 23	Гайворонский В.В.	IV 26	Голубева Е.Н.	I 188
Вдовин В.А.	IV 98	Гайнутдинов Х.Л.	II 24, II 162	Голубятников Г.Ю.	III 154, III
Ведунова М.В.	II 100, II	Галегов Г.А.	I 85, I	183, III 188, III 193	
128, II 160		285, III 19		Гольшев М.А.	IV 28
Веланский П.В.	III 67	Галзитская О.В.	I 74,	Гольдт А.С.	IV 29
Велиева Л.И.	I 58	I 92, I 282		Гомов Е.Е.	III 97
Великанов Г.А.	I 59	Галиева А.Р.	IV 89	Гончаренко А.О.	III 81
Величковский Б.М.	II 144	Галкина О.В.	II 33	Горбачева Е.В.	I 68
Венедиктова Н.И.	I 60	Галль Л.Н.	II 34	Горбачева Л.Б.	III 57
Вериго Е.Н.	III 39	Галль Н.Р.	II 34	Горбачева О.С.	I 60
Верхлютов В.М.	II 144	Ганиева Р.А.	III 50	Горбенко Г.П.	I 105
Верхоланцева А.Р.	III 28	Гапеев А.Б.	II	Гордеев А.Б.	I 76
Веселов А.П.	III	154, III 51		Гордлеева С.Ю.	I 280, II 63
108, III 232		Гарбузинский С.А.	I 71	Гордова А.Ф.	III 186
Веснин С.Г.	IV 24	Гарипова М.И.	IV 99	Горелов А.В.	III 202
Вечтомова Ю.Л.	I 289, II	Гаррье Ж.	III 196	Горина С.С.	I 291
28, III 46		Гасан А.И.	I 73	Горохов В.В.	II 114
Виноградова Н.В.	IV 27	Гасанов Г.М.	II 35	Гороховатский А.Ю.	I 190
Виноградова Ю.В.	III 228	Гасанов Р.А.	III 50	Горудко И.В.	I 77, III 58
Вихлянцев И.М.	I 238	Гахова Э.Н.	II 60	Горшкова Е.Н.	I 78, III 194
Вихорев П.Г.	III 47	Гахраманов Ф.С.	III 64	Горюнов А.С.	I
Вихорова Н.Н.	III 47	Гвоздева Е.Л.	I 120	252, III 198	
Владимиров Ю.А.	III 184	Гендель Л.Я.	I 72, I 229	Горючко В.В.	I 183
Воденеев В.А.	I 13, I 61, I	Генина Э.А.	III 52	Горячев С.Н.	IV 65
137, I 257, I 286		Герасимова Л.К.	I 312	Горященко А.С.	II 126, III
Водка М.В.	I 62	Герасимова М.А.	I 8	55, III 89, III 205	
Войцехович К.О.	I 169	Гесслер Н.Н.	III 31	Грачева Л.М.	I 313
Волгушева А.А.	I 63	Гизатуллина А.Н.	II 36	Грачева М.А.	III 56
Волков В.А.	I 25, I 64	Гиззаткулов Н.М.	II 133	Гребцова Е.А.	I 79
Волков И.Л.	IV 45	Гиниатуллин Р.А.	II	Грехова А.К.	III 57
Волкова Э.В.	II 31, II 119	131, II 155		Гречкин А.Н.	I 291
Воловик М.Г.	III 48	Гительзон И.И.	II 37	Грибков А.Л.	I 137
Вологжанникова А.А.	I 65	Гладкова Н.Д.	III 59, III	Грибкова И.В.	III 56
Волотовский И.Д.	I 66, I 312	110, III 119		Григоренко Б.Л.	I 215, II
Волохина И.В.	I 88	Гладковская Н.А.	I 44	126, III 205	
Волченко Г.А.	III 251	Глазкова Н.А.	I 129	Григорчик Р.	I 236
Волченко С.Г.	III 251	Глибицкий Г.М.	I 73	Григорьева Д.В.	III 58
Воробей А.В.	III 49	Глибицкий Д.М.	I 73	Григорьева Л.В.	I 259
Воробьев В.Н.	I 67	Глухов А.С.	I 20	Григорьева О.А.	I 152
Воробьева Н.С.	III 67	Глухова О.В.	III 53, III	Грин М.А.	III 87.
Воронин М.А.	I 121	135, III 162		Гриневич А.А.	I 28, II 39
Воронов И.В.	III 93	Глушкова О.В.	III 180	Гринчук Т.М.	III 9
Воронова В.М.	II 32	Глякина А.В.	I 33, I 74	Гриссом П.М.	I 64
Воронова Е.Н.	II 31, II 119	Гнеденко О.В.	I 130, I 325	Гришанова А.Ю.	I 80
Воронцов И.Е.	I 167	Гоголев Ю.В.	I 291, I 304	Гришанова Н.П.	I 108
Вульфийус Е.А.	I 68	Годжаев Н.М.	I 9, I 75	Гришин Е.В.	IV 53
Выдрякова Г.А.	II 37	Голованова Т.И.	III 54	Гришина Е.В.	I 81, II
		Головкин М.В.	I 85, I	143, III 231	
		220, III 19			

Грищенко В.М. 135, I 136	I 103, I	Дашинимаев Э.Б. Дашкевич Н.М.	III 159 II 41	Долотов Л.Е. Домаш В.И.	III 52 I 120, III
Грищенко Е.Р.	III 109	Де Филиппис В.	III 214	76, III 77	
Гришук Е.Л.	I 64	Деяткин А.А.	I 287	Доронин Ю.К.	II 68, II 69,
Громова Л.В.	I 82	Деяткова Н.С.	III 43, III 53,	III 116, III 117	
Гроховский С.Л. I 220, I 285, III 19	I 85, I 219,	III 69, III 162		Дрибинский Б.А.	IV 45
Грудинина Н.В.	I 77	Дегерменджи А.Г.	II 42	Дроботова Д.Ю.	III 226
Груздков А.А.	I 82	Дегерменджи Н.Н.	III 70	Дрозд Е.В. I 77	
Грызунов Ю.А.	III 18	Дегтярев Е.Н.	I 210	Дроздов А.В.	III 78
Губарькова Е.В. 110, III 119	III 59, III	Деев С.М. III 21, III 147		Дромашко С.Е.	I 94, I 250,
Гуда О.В. II 156		Демарева В.А.	II 43	III 128, IV 46	
Гудимчук Н.	I 64	Демин О.В.	II 18, II 21,	Дружинин Е.А.	II 16
Гудков С.В. 37, III 60	II 154, III	II 44, II 45, II 66, II 133		Дубасова Л.В.	III 79
Гужова И.В.	I 187	Демин О.О.	II 18, II 21,	Дубинин М.В.	I 95, I 259
Гуковская А.С.	I 226	II 32, II 45, II 66		Дубровский А.В.	IV 31
Гулиева Р.Т.	I 83, III 61	Демин С.А.	III 72	Дувури С. II 21	
Гулий О.И. I 84		Демо В.И. IV 20		Дудкин С.В.	III 106
Гуляев А.А.	I 113, IV 37	Демухамедова С.Д.	I 70	Дуля Е.В. III 134	
Гуляев Ю.В.	IV 98	Демченков Е.Л.	I 52	Дурыманов М.О.	III 80, IV 79
Гумматова С.Т.	I 153	Денисов А.А.	II 46, II	Духович Ф.С.	III 42
Гурвиц Б.Я.	I 272	47, II 118		Духопельников Е.В.	I 44, I 45
Гуревич С.М.	III 42	Дергузов А.В.	III 73	Дыкман Л.А.	I 84
Гурия Г.Т. II 124		Дерюгина А.В.	III 134	Дынник В.В.	I 96,
Гурский Г.В. 285, III 19	I 85, I	Джамалудинова К.	I 90	II 49, II 59	
Гурский Я.Г.	I 85, III 19	Джафаров А. И.	I 83, III 61,	Дьяконова А.Н.	I 97
Гуртовенко А.А.	I 86	III 64, III 65, III 74		Дюкина А.Р.	III 216
Гусев В.А. I 87		Джафарова А.М.	I 197, I	Дюмаев А.К.	III 23
Гусев Н.Б. I 310		200, III 155		Дячук О.А.	III 168
Гусев Ю.С. I 88		Джафарова Д.Р.	III 50		
Гусейнзаде А.С.	III 62	Джафарова С.А.	II 35, III	Е	
Гусейнов Г.Г.	II 89	61, III 74		Евстифеев А.И.	II 36
Гусейнов Т.М.	III 63	Джелядин Т.Р.	IV 90	Евстюхина Т.А.	I 313
Гусейнова А.А.	III 64, III 65	Дивуури Ш.	II 66	Евтеева Н.И.	III 82, III
Гусейнова С.Я.	III 68	Дидковский Н.А.	III 84	245, III 246	
Гуськова Р.А.	I 119, I 178	Дикусар В.В.	II 48	Евтодиенко Ю.В.	I 226
		Дитятев А.Э.	I 280, II 63	Евтушенко Е.Г.	IV 32
		Дмитриев А.А.	I 158	Егорова А.Г.	I 34
		Дмитриев А.В.	I 91,	Егорова А.С.	III 31
		IV 26, IV 30		Егорова К.В.	IV 47, IV 84
		Дмитриев В.А.	IV 30	Езерская А.А.	III 81
		Дмитриева Г.С.	III 195	Елагин В.В.	III 82,
		Добрецов Г.Е.	III	IV 34, IV 85	
		18, III 222		Еланская И.В.	I 278
		Добрецов С.Л.	IV 16	Елисеева И.А.	I 34, I 92
		Добржанская А.В.	I 270	Емельяненко В.И.	I 65
		III 178		Еремеев С.А.	II 50
		Добрынина Н.Г.	III 28	Еременко З.С.	II 156
		Довженко М.А.	I 38, I 249	Еремин А.Л.	II 51
		Довидченко Н.В.	I 92, I 282	Ерлыкина Е.И.	I 265
		Дойникова А.Н.	I 93	Ермаков А.А.	II 53
		Докрунова А.А.	IV 33	Ермаков А.М.	III 83, III 84
		Докукин А.А.	IV 69	Ермаков Ю.А.	I 99, I
		Долгачева Л.П.	I 96, II 49	189, I 218	
		Долгих Д.А.	I 34, I	Ермакова Д.Э.	III 87
		228, III 75		Ермакова Е.А.	I 57, I 98, I
		Долинская Е.В.	III 54		
Д					
Д.В.Рисник	III 197				
Дегтярева О.В.	I 290, III 71				
Давлетшина Л.Н.	I 263				
Давлетшина М.Р.	III 66				
Давыденко Д.В.	III 170				
Давыдова Г.А.	II				
154, IV 29					
Давыдова Л.А.	I 89, III 67				
Дадашов М.З.	III 68				
Данилов А.А.	II 40				
Дарашкевич Л.О.	I 54				
Дарашкевич О.Н.	I 54				
Даринский А.А.	I 212, I 292				
Даутова Н.Р.	III 15				

182, I 291, I 304		30, III 82, III 159, III 244, III 245, III 246, IV 34, IV 85		Зорин В.П.	III 98, III 99, III 196
Ермакова О.Н.	III 84	Загидуллин В.Э.	I 108	Зорина С.В.	I 183
Ермилова М.Э.	II 148	Зажогин А.П.	IV 75, IV 101, IV 102	Зорина Т.Е.	III 98
Ермолаев В.С.	II 16	Зайцев А.В.	I 64, I 109, I 253	Зоров Д.Б. I 276	
Еронина Т.Б.	I 310	Зайцев Б.Д.	I 84	Зотов В.С. III 109	
Ерофеева Е.А.	III 85	Зайцев К.С.	II 55	Зубков А.С.	I 210
Ерохин В.Н.	III 86	Зайцева Г.В.	I 110, I 193	Зубов И.И.	II 57
Ерошенко Л.В.	I 326, II 52	Заичкина С.И.	III 216	Зув Ю.Ф. I 57, I 98, I 112, I 121, I 295, I 304	
Ершов А.П.	I 123	Зак П.П.	II 129	Зуза В.А.	III 189
Ершов Н.И.	I 167	Закаров А.М.	II 89	Зуза С.Г.	III 189
Ершова А.В.	IV 36	Закирьянов Ф.К.	I 327	Зыкова А.В.	II 129
Есимбекова Е.Н.	II 81, III 25	Закладная А.В.	III 158		
Есипова Н.Г.	I 21, I 209, I 300, III 164, IV 92	Залутски М.Р.	III 210	И	
Ефименко И.А.	I 134, III 57	Замятнин А.А.	IV 35	Ибрагимов Р.И.	I 115, IV 99
Ефимов А.В.	I 49, I 51, I 76, I 100, I 132	Зарицкий А.Р.	I 110, I 193	Ибрагимова Л.Г.	III 113
Ефимов В.Н.	II	Зароченцева И.А.	III 33	Ибрагимова М.Я.	I 116
Ефимова С.С.	I 101	Захаркина Н.Л.	I 154	Иваницкий Г.Р.	II 58,
Ефременко А.В.	III 87, IV 52	Захаров А.В.	II 56	IV 39, IV 40	
Ефременко Е.Н.	I 125	Захаров Г. I 91		Иванков Д.Н.	I 71
Ефремов Ю.М.	IV 33	Захаров С.Д.	III 95	Иванкова Ж.Е.	I 204
Ещенко Н.Д.	II 33	Захаров Ю.Н.	IV 36	Иванов А.В.	III 225
		Захарова Е.Т.	I 274, III 214	Иванов А.С.	I 130, I 325, IV 41, IV 42
Ж		Захарова Л.Я.	I 121	Иванов Б.Н.	I 118
Жадан А.П.	I 65, III 121	Захарова Н.М.	I 20, I 111,	Иванов И.И.	I 119, I 178, I 263, I 264
Жалимов В.К.	II 130	I 262, I 299, II 154		Иванов К.Ю.	III 100, III 171, III 235
Жалялов А.С.	III 88	Захарченко А.В.	I 113, IV 37	Иванов О.А.	I 120, III 76, III 77
Жанг К.Ч.	I 48	Захарченко М.В.	I 113, IV 37	Иванов С.В.	II 59, II 78
Жао И.	I 48	Захарченко Н.Л.	I 57, I 112	Иванова А.В.	III 227
Жармухамедов С.К.	I 278	Заядан Б.К.	IV 65	Иванова А.Е.	I 95, III 31
Жданов Р.И.	I 93, I 102, I 116, III 218	Здобнова Т.А.	III	Иванова В.П.	I 117
Жердева В.В.	III 89	Зейналлы Э.М.	III 63	Иванова Е.П.	I 267
Жерелова О.М.	I 103, I 135, I 136	Зейналова Н.М.	I 153	Иванова И.П.	III 154, III 183, III 188, III 193
Жигачева И.В.	I 104	Земелько В.И.	III 9	Иванова Н.А.	III 57
Жидконожкина М.Б.	IV 15	Зенин В.В. III 9		Иванова-Смоленская И.А.	IV 100
Жижина Г.П.	III 42	Зефиоров А.Л.	II 56, II 105, II 115	Ивановская Н.П.	I 54
Житняковская О.А.	I 105	Зиганшин Р.Х.	II 60	Ивашина Т.В.	III 55
Жорина Л.В.	III 90	Зиннатуллина Э.Т.	III 218	Ивашкина Л.И.	II 53
Журавлев А.И.	I 106, III 91, III 255	Зиновьев С.В.	III 96	Ивлев Е. Д.	III 101
Журавлев Г.И.	III 92	Зинченко В.П.	I 213	Ивличева Н.А.	II 60
Журавлева З.Н.	II 53	II 59, II 78	I 96, II 49,	Игнатов О.В.	I 84
Журавская А.Н.	III 93	Зленко Д.В.	IV 38	Игнатова А.А.	III 190
Журкин Д.В.	I 107	Злобина К.Е.	II 124	Игнатьева Н.Ю.	I 154
		Змиевской Г.Н.	III 90	Игольникова Е.С.	I 200
З		Знобищева А.В.	III 97	Идиятуллин Б.З.	I 121
Забрейко С.А.	III 76, III 77	Зобнина В.Г.	IV 51	Иевлева Е.В.	I 120
Заварыкина Т.М.	III 42	Зобова А.В.	II 164	Измодедова С.В.	I 122, I 161
Завьялова В.В.	II 54, III 94	Золезе Дж.	I 93	Ильина Н.Б.	I 34
Загайнова Е.В.	III 21, III	Золотарева Е.К.	I 62, I 114, I 261, II 101		

Ильина С.Е.	III 113	Канделинская О.Л.	III 109	III 116, III 117, III 143
Ильина Т.М.	I 39	Канев И.Л. I 33		Кирпичников М.П. I 228, III
Ильичева И.А.	I 219, I 220	Кануников И.Е.	II 11	23, III 75, IV 53
Ильяш М.Ю.	I 211, I 212	Каплан А.Я.	III 72	Кирьяк Е.Ю. III 118
Ильяскин А.В.	I 123	Карабут М.М.	III 59, III	Киселева Е.Б. III 59, III
Имашева Е.С.	III 23	110, III 119		110, III 119
Инюшин В.М.	III 102	Караваева О.А.	I 84	Киселева Е.В. III 159
Ионенко И.Ф.	III 14, III	Карамзин С.С.	II 41	Кисляк С.В. I 138
15, III 103		Каранов А.М.	II 53	Клапшина Л.Г. III 21, III
Исаева М.П.	IV 58	Карасев В.А.	IV 44	140, IV 34
Исакина М.В.	II 61	Каргатов А.М.	I 132	Клейменов С.Ю. I 310
Исмаилов А.Д.	I 15,	Карговский А.В.	I 48, I 133	Клементьева Н.В. III 246
I 16, I 125		Карелина Т.А.	II 21, II 66	Клешнин М.С. III 21
Исмаилова Л.И.	I 30, I 126	Кармен Н.Б.	II 89	Климов В.В. I 139
Исмаилова Ш.Р.	I 124	Карнаухов А.В.	I 266, II 67	Климова Т.П. III 18
Истрате Е.Н.	III 144	Карнаухов В.Н.	I 266	Климович М.А. I
Ичеткина А.А.	III 104	Карнаухова Е.В.	I 266, II 67	140, III 247
Июдин В.С.	II 162	Карнаухова Н.А.	I 266	Кличханов Н.К. I 56, I 197,
		Карп В.П. II 158		I 200, III 155
К		Карпов Д.И.	I 123	Клочков Б.Н. II 70
		Карташов С.И.	II 54, II 71,	Ключ Б.П. IV 48
Ковалева Т.А.	I 141	III 94, III 120		Князев А.В. II 71, II
Кабанов А.В.	I 127, I 146	Картыжова Л.Е.	III 109	144, III 120
Кабанова Н.В.	III 77	Касаткин М.Ю.	II	Князева Е.Л. I 65, III 121
Кадина Е.Ю.	II 62	134, III 111		Ковалева В.Д. II 23, II 72
Кадымова Ф.А.	I 17, IV 9	Касьяненко Н.А.	I 134,	Ковалева З.В. I 117
Казаков А.С.	I 65	IV 45, IV 91		Ковалева Т.А. IV 96
Казаков В.В.	IV 13	Касьянов А.С.	I 167	Коваленко Е.И. I
Казакова Л.И.	IV 43	Касян Н.А. IV 23		312, III 122
Казанцев В.Б.	I 280, II 63	Катаев А.А.	I 47, I 103,	Коваленко И.Б. I 97, I
Казаринов К.Д.	III 105	I 135, I 136		142, I 297
Казачкина Н.И.	III	Катаев В.Е.	I 121	Ковальцова С.В. I 313
106, III 158		Катанов Д.Ш.	IV 20	Ковальчук А.В. II
Казимирова Е.И.	II 66	Катина Н.С.	I 34	121, IV 18
Каламкаров Г.Р.	II 8, II 64, III	Катичева Л.А.	I 13, I 137	Ковальчук С.И. I 276
38, III 39, III 130		Кашеверов И.Е.	I 68	Ковальчук С.Н. IV 57
Калацкий Ю.М.	I 281, II 88	Кашулин П.А.	III 112	Коварский А.Л. III
Калачёва Н.В.	III 112	Кашеева П.Б.	I 15, I 16	200, IV 22
Калашникова И.В.	III 40	Квашнина О.П.	I 147	Ковш Е.В. III 122
Калебина Т.С.	I 38, I	Квитко О.В.	I 94, IV 46	Ковязина И.В. II 73, II 74
128, I 249		Кедров А.И.	IV 47	Коган Б.Я. III 106
Калинин В.А.	I 129	Керимов К.Т.	III 64, III 65	Кожина Е.А. III 248
Калинин В.Н.	I 253	Керимова Н.К.	III 64	Кожокару А.Ф. III
Калиновская О.В.	III 107, III	Киенко В.М.	III 32, IV 19	123, III 124
157, III 171		Ким В.П. IV 98		Козаченко А.И. III 42
Калинцева Я.И.	II 65, IV 36	Ким К.Х. I 109		Козлов М.В. I 140, III
Калния И.	I 105	Ким Ю.А. I 165, III 253		125, III 247
Калужский Л.А.	I 130	Киржанов Д.В.	II 10	Козлова Н.М. I 271
Кальвасер И.Б.	IV 13	Кириенко К.В.	II	Козулева М.А. I 118
Кальясова Е.А.	III 108	68, III 116		Кокшаров Ю.А. IV 41,
Камалетдинова Т.Р.	I 131	Кирилина И.В.	III 113	IV 97, IV 98
Каменская Э.В.	III 48	Кирилина Т.В.	III 114	Колесников М.П. I 289
Каменский В.А.	I 154, III	Кириллин М.Ю.	III 7, 115	Колесников С.С. I 152, I 254
115, III 183, III 188, IV 34		Кирилов Г.К.	I 105	Колесникова А.С. IV 21
Каменский П.А.	I 166	Кирилова Е.М.	I 105	Колесникова Е.В. IV 74
Камзолова С.Г.	IV 90	Киркина А.А.	II 68, II 69,	Колобов А.В. II 75

Коломийцева И.К.	I 55, I 143, I 231, I 299, III 151	Косых И.А.	I 180	Кузнецов В.А.	I 227
Колычев А.П.	I 144	Котов Н.В.	II 36	Кузнецов М.Б.	II 75
Кольтовер В.К.	II 76, III	Котова Е.А.	I 276, IV 12	Кузнецов С.С.	II
126, III 127, IV 49		Котова Н.В.	I 190, I 258	16, III 154	
Кольцова С.В.	I 236	Котова П.Д.	I 152	Кузнецова И.Е.	I 84
Колядко В.Н.	I 7	Котова Я.Н.	I 7	Кузнецова И.М.	IV 95
Командиров М.А.	II 77	Кофанова О.А.	II 80	Кузнецова М.М.	III 246
Комар А.А.	III 222	Кочарли Н.К.	I 153	Кузнецова С.М.	I 165, I 221
Комаров В.М.	I 127, I 146	Кочеткова Н.В.	I 302, II 61	Кузьменко А.В.	I 166
Комаров С.М.	I 183	Кочуева М.В.	I 154	Кузьменков А.И.	IV 53
Комелина Н.П.	I 20, I 145	Кошелев В.Б.	I 175	Кузьмин П.И.	I 37
Кондратьев М.С.	I 146	Кривацкая Г.И.	I 155	Кузьмич А.И.	IV 79
Кондрашева И.Г.	III 169	Кривацкий Ю.В.	I 155	Куканова О.В.	III 11
Кондрашова М.Н.	I 113, IV 37	Кравченко И.Е.	III 98, III 99	Кукарских Г.П.	I 63
Конева И.И.	IV 46	Кравченко С.В.	III 28	Кукурулл-Санчес Л.	II 45
Конева О.Ю.	I	Крамарова Л.И.	II 60	Кукушкин А.К.	II 10
250, III 128		Крамор Р.В.	I 186	Кукушкин Н.И.	II 130
Коннова Т.А.	I 112	Красильников П.М.	I 156, I	Кулабухова К.С.	I 154
Коновалов А.И.	III 129	157, I 185, I 218, I 278		Кулагина Т.П.	III 51
Коновалов К.А.	IV 32	Красников Г.В.	III 114, III	Кулагова Т.А.	I 312
Коновалова С.А.	I 149	133, III 223		Кулаков С.В.	II 156
Кононихин А.С.	III 39	Краснов Г.С.	I 158	Кулаковский И.В.	I 167
Кононов А.В.	II 59, II 78	Краснова М.А.	I 110, I 193	Кулева Н.В.	III 47
Кононов А.И.	IV 45	Кратасюк В.А.	I 159, II 81,	Куликова И.Ю.	I 147
Константинова Н.А.	I 147	III 25, III 221		Кулиш. А.В.	II 82
Константинова Т.С.	III	Крейнина М.В.	III 227	Кулько С.В.	I 168
38, III 130		Кременцова А.В.	III 86	Кульчицкий В.А.	II 46, II 118
Контаров Н.А.	I 27, I	Кременчугская И.Г.	III 43	Кумариану Е.	III 210
148, I 237		Кренделева Т.Е.	I 63	Куранова М.Л.	III 137
Конюхов И.В.	III 131	Кривандин А.В.	II 161	Курбанова И.М.	III 62
Корватовский Б.Н.	II 114	Крестинина О.В.	I 226	Курганов Б.И.	I 46, I 310
Корепанова Е.А.	I 245	Криворотов Д.В.	I 296	Курилова Л.С.	I 169
Корзюк О.В.	III 76	Кривошеина Н.Н.	I 205	Курицын И.И.	I 48
Кормакова П.А.	IV 98	Крицкий М.С.	I 104	Куроптева З.В.	III 20
Корнев Д.Б.	IV 30	28, III 46	I 289, II	Курочкин В.Е.	I 170
Королёв В.Г.	I 313	Крот В.И.	I 312	Курочкин И.Н.	IV 32
Королькова Ю.В.	IV 53	Крупянский Ю.Ф.	I 160	Курталиев Э.Н.	III 138
Коротков Е.В.	I 283,	Крутецкая З.И.	I 169, I 202	Кутузов Н.П.	I 171
IV 28, IV 50		Крутецкая Н.И.	I 169, I 202	Куцкий М.П.	III 139
Коротков С.М.	I 149	Кручинин Н.Ю.	I 122, I 161	Кучеренко М.Г.	I 122, I 161
Короткова М.А.	IV 50	Крылов А.К.	I 162	Кушнерева Е.В.	III 238
Корпусов Е.В.	III 108	Крылов А.С.	I 116		
Корягин А.С.	III	Крылов В.Н.	III 134, III	Л	
24, III 239		135, III 240		Лабынцева О.М.	III
Корягина Е.А.	II 79	Крюков А.Ю.	IV 13	11, III 201	
Корякина Е.В.	I	Крюкова Е.А.	III 23	Лавриненко И.А.	I 172, I 256
150, III 132		Кряжев Д.В.	III 104	Лаврухина О.Г.	I 63
Косевич М.В.	IV 23, IV 51	Ксенофонтова О.И.	I 163	Лаженицын А.И.	III 84
Космачевская О.В.	III	Кубасова Н.А.	I 307	Лазарев В.Ф.	I 187
109, III 250		Кувандыкова А.Ф.	III 141	Лакомкин В.Л.	III 226
Костевич В.А.	III 58, III	Кувичкин В.В.	I 164, IV 71	Лактионов А.А.	I 277
185, III 214		Кувичкина Т.Н.	III 136	Ландер А.В.	II 86
Костерин С.А.	I 151	Кудрявцева А.В.	I 158	Лани Я.	III 23
Костецкий Э.Я.	III 67	Кудряшова И.Б.	I 38, I 249	Ланкин В.З.	III 250
Костылева Е.И.	I 279, I 316	Кудряшова К.С.	IV 52, IV 53	Лапина В.А.	III 49

Лаптева Ю.С.	I 65	Лукашев Е.П.	I 108, I	248, III 249
Лапшин Г.Д.	III 89	278, II 136, III 23		Малашенкова И.К.
Лебедева А.В.	II 83	Лукьянец Е.А.	III 190	III 84
Лебедева Е.А.	I 173	Лукьянов С.А.	III 30, III	Малеханова Е.А.
Левадный В.Г.	I 174	245, III 246		21, III 147
Левашов М.И.	III 32, IV 19	Лукьянов В.И.	I 179	Малиновская С.Л.
Левин Г.Я.	I 320, 321, 322	Лукьянов К.А.	III 245	II
Левин П.П.	II 8	Лукьянова Л.Д.	I 60	16, III 165
Левицкий Д.И.	I 26	Лунева О.Г.	I 229	Малкин В.М.
Левич А.П.	II 84, III 41	Лунин В.Ю.	I 273	I 183,
Леканова Н.Ю.	III 21, III	Лунин С.М.	III 180	IV 61, IV 62
140, III 147		Луо К.	I 48	Маломуж А.И.
Леонова В.Б.	III	Лучинин В.В.	IV 44	II 93
200, IV 22		Лушников С.Г.	I 91	Мальгин А.В.
Леонова Е.М.	I	Лыжко Е.В.	II 96	I 184
150, III 132		Лысенко Е.П.	II 87	Мальцева Е.Л.
Леонова И.В.	IV 84	Лысенко Ю.А.	I 180	III 148
Леонтьева М.В.	III 121	Лысцов В.Н.	III 145	Мамаев С.В.
Леонтьева Т.В.	I 205	Лысякова Л.А.	IV 45, IV 91	III 34
Лермонтова С.А.	III 140	Лэ Тхи Ким Ань	IV	Мамедова Т.А.
Летута С.Н.	III 141	75, IV 101		IV 44
Ли Кисун	I 175	Лю Я.	II 66	I 91
Лидохова О.В.	I 208	Любарцев А.П.	I 246	II 96
Лизякина А.Д.	I 176	Любимов В.Ю.	II 161	II 87
Лиманская О.Ю.	IV 54	Любицкий О.Б.	III 113	I 180
Лиманский А.П.	IV 54	Люднина А.Ю.	I 204	III 145
Липец Е.Н.	III 56, III 71,	Людникова Т.А.	II 28	IV 45, IV 91
III 142, III 218		Лянгузов А.Ю.	II 88	IV
Липова В.В.	III 11	Лященко А.К.	IV 60	75, IV 101
Липчинский А.А.	II 85			Лю Я.
Лисецкий Л.Н.	IV 23	М		II 66
Лисица А.В.	IV 55			Любарцев А.П.
Литовка И.Г.	III 32, IV 19	Магомедова М. Х.-М.	III	I 246
Лихацкая Г.Н.	IV 56, IV	146, III 149		II 161
57, IV 58, IV 59		Маевский Е.И.	I 81, I	III 113
Лихачев И.В.	I 177	113, II 89, II 143, III 34, III 84, III		I 204
Лобанов А.В.	III 195	231, IV 37		II 28
Лобанов М.Ю.	I 282	Мазалецкая Л.И.	I	II 88
Лобанок Е.С.	I 241	181, III 242		IV 60
Лобкаева Е.П.	III 11, III 53,	Мазейка А.Н.	III 67	
III 69, III 162, III 171, III 201		Мазуров М.Е.	II 90, II 91	
Лобышев В.И.	II 68, II 69,	Макарова А.А.	IV 85	
II 122, II 132, III 116, III 117, III 143		Макарова Е.Л.	I 141	
Лобышева Н.В.	I 260	Макеев В.Ю.	I 167	
Ловягина Е.Р.	I 264	Макеева В.Ф.	I 310	
Лозинова Т.А.	II 86	Макеева Е.Н.	I 94	
Лойко Н.Г.	I 160	Макинтош Дж. Р.	I 64	
Локтюшкин А.В.	I 119, I 178	Маклыгин А.Ю.	I 175	
Ломадзе Н.	IV 91	МакМюррей М.Д.	I 189	
Ломакина Г.Ю.	III	Максимов Г.В.	I 131, I	
144, III 163		171, I 228, I 230, I 236, I 251, II 27		
Лопаткина Н.В.	III 43	Максимов Е.Г.	I 247, I	
Лу Я.	II 21	278, II 92		
Луговцов А.Е.	I 175	Макшакова О.Н.	I 182	
Луканина Ю.К.	I 186	Маланина Н.В.	I 78	
Лукаткин А.С.	III 206	Малахов М.В.	III 191, III	

Матюшенко А.М.	I 26	Мищенко А.А.	I 204	Н	
Махмудова Х.М.	I 197, I	Моан Й.	II 142	Нагиба В.И.	III 107, III
200, III 155		Могилевская Е.А.	II 153	157, III 171	
Махмутов Б.Б.	III 253	Модестова Ю.А.	III 163	Наглер Л.Г.	III 42
Махнева З.К.	I 247	Можеров А.М.	II 65	Нагорская Т.П.	III 78
Махортых С.А.	II 96, III 73	Моисеева В.С.	I 326	Надточенко В.А.	III 82, IV 34
Мачнева Т.В.1	III 56	Мойсенович М.М.	I 253	Найдов И.А.	I 118
Мачулин А.В.	I 34, I 267	Мокерова Д.В.	II 102	Наквасина М.А.	I 208, IV 15
Машковцева Е.В.	I 198, I	Молдавер М.В.	III 164	Намиот В.А.	I 21, I 209 I
214, II 57		Молоканов Д.Р.	III 178	300, III 167, IV 67, IV 68	
Медведев Д.А.	I 123	Молотковский Ю.Г.	I 105	Нараян Т.	I 307
Медведев Л.Н.	I 159	Молчанов П.Г.	II 46, II 47	Нарциссов Я.Р.	I 176, I
Медведев С.С.	II 85	Мольнар А.А.	I 130, I 325	198, I 214, I 260, I 293, II 26, II 55,	
Медведев Я.И.	III 157	Монич В.А.	II	II 57, II 80, II 107	
Медведева С.Е.	II 37	16, III 165		Насыбуллина Э.И.	III 109
Медведева Ю.А.	I 167	Морнев О.А.	II 103	Наумова Е.В.	III 168
Медвинский А.Б.	II 97	Мороз В.В.	II 89	Нгуен Тхи Тьук	I 315
Меерович И.Г.	III	Морозов В.Н.	I 33	Невежин Е.В.	III 191
106, III 158		Морозов И.Д.	III 240	Негинская М.А.	II 72
Межевкина Л.М.	I 306, I 199	Морозова Г.И.	III 166	Негримовский В.М.	III 190
Мейланов И.С.	I 56, I 90, I	Морозова Д.В.	III 28	Негуляев Ю.А.	III 47
197, I 200, III 155		Морошкина Е.Б.	I 205, I 227	Неделина О.С.	I 210
Мелешина А.В.	III 159	Москалева Е.Ю.	III 169	Недзведь А.М.	I 54
Мельник Б.С.	I 201, I 222	Москаленко А.А.	I 247	Недопёкина С.В.	I 315
Мельник Т.Н.	I 201	Москаленко Ю.Е.	III 13	Неелов И.М.	I 211, I
Мельников А.Г.	III 168	Москвин А.Н.	I 223	212, I 292, I 318	
Мельников Г.В.	III 168	Мостовая О.А.	I 304	Некрасов А.Н.	I 213, I
Мельникова А.А.	III 28	Мосягина А.Р.	II 148	228, IV 69	
Мельницкая А.В.	I 202	Мотовилов К.А.	I 124, I	Некрасов Н.А.	I 214
Менделеева Л.П.	III 56	326, II 50		Некрасова Е.И.	III 169
Меньшов В.А.	III 160	Мохова Е.Н.	I 298	Некрасова М.М.	IV 18
Метелкин Е.А.	II 113, II	Мочалова А.Е.	III	Некрасова О.В.	IV 53
133, II 141		24, III 239		Некрасова Т.А.	III 170
Микурова А.В.	III 247	Мошкова А.Н.	I 265	Немухин А.В.	I 215, II
Милованов А.В.	II 98, II 99	Мубаракшина Э.К.	III 179	126, III 205, III 236, III 237	
Миль Е.М. I 203		Музафаров Е.Н.	I	Немцева Е.В.	I 8
Мильчевский Ю.В.	I 300	165, III 253		Немченко О.Ю.	I 216, I 224
Минакова Е.А.	III 244, III	Муранов К.О.	I 206, I 310	Неруш В.Н.	I 13, I 217
245, III 246		Муранова Л.Н.	II 24, II 162	Нестеренко А.М.	I 218
Мионов А.Ф.	III 87	Мурач Е.И.	I 207, III 24	Нестеркина И.С.	IV 74
Мионов В.	II	Мурашев А.Н.	II 89, II	Нечипуренко Д.Ю.	I 219, I 220
126, III 205		143, III 231		Нечипуренко Н.И.	IV 75, IV
Мионова Г.Д.	I 40, I 60	Мурзин Н.В.	III 145	101, IV 102	
Мионова Е.А.	IV 29	Мурзина Г.Б.	II 104	Нечипуренко Ю.Д.	I 219, I 220
Мирошников А.И.	III 161	Мурина В.Н.	I 222	Низомов Н.	III 138
Мирошниченко Е.В.	I 44	Мурина М.А.	III 203	Никанорова Е.А.	III 100, III
Митрофанов В.Н.	III 152	Муртазаева Л.А.	IV 54	107, I III 57, III 171, III 235	
Митрошина Е.В.	II 100	Мухамедзянов Р.Д.	II 105	Никитин А.М.	I 85, III 19
Михайленко Н.Ф.	II 101	Мухарамова С.С.	II 73	Никитин А.П.	II 158
Михаловский И.С.	IV 66	Мухартова Ю.В.	III 209	Никитин С.Ю.	I 175
Михеева Г.А.	III 215	Мухина И.В.	II 65, II 79,	Николаев Е.Н.	III 39, IV 70
Михельсон В.М.	I 317	II 100, II 106, II 128, II	160, IV 36	Николаев Г.М.	III 172
Мишагина М.Н.	III	Мухтарова Л.Ш.	I 291	Николаев Д.В.	II 40
53, III 162		Мысягин С.А.	I 13, I	Николаева Т.И.	I 221
Мишарина Т.А.	I 104	217, III 140		Николас Т.	II 21, II 66
Мишина Н.М.	III 30	Мясоедов Н.А.	I 324		

Никольский Е.Е.	II 73, II 93, II 108, II 140, III 229	Орлова Ю.	II 52	Перетягин С.П.	III 152
Никольский Н.Н.	III 9, III 36	Орлова Ю.В.	I 324	Пермяков Е.А.	I 65, I 232, III 121
Никонов С.В.	I 222	Осинникова Д.Н.	I 227	Пермяков С.Е.	I 65, III 121
Никонов Ю.А.	III 173	Осипов А.В.	I 68	Пермяков М.Е.	I 65
Никулин А.Д.	I 222	Осипов А.Н.	I 245, III 57, III 156, III 184, III 227	Першин С.М.	I 233, I 235
Новиков В.В.	II	Осипов А.П.	III 211	Песина Д.А.	I 44
109, IV 71		Осипов В.А.	IV 65	Пестов Н.А.	IV 52
Новиков В.Э.	III 174, III 175, III 176	Островерхова Т.В.	I 228	Петренко Н.	II 131
Новиков Г.В.	IV 72	Островская Ю.В.	III 110	Петров А.М.	II 56, II 115
Новикова О.Д.	I 89, IV 58	Островский М.А.	I	Петров В.А.	III 227
Новикова Я.С.	III 177	206, III 228		Петров К.А.	II
Новицкая Г.В.	III 178	Остроумова О.С.	I 101	140, III 229	
Новицкий Ю.И.	III	Ошевский Л.В.	III	Петров О.Ф.	III 84
178, III 207		134, III 135		Петрова Т.А.	II 88
Новодережкин В.И.	II 164	П		Петрович В.А.	I 271
Новоселов В.И.	III 179			Петровская Л.Е.	III 23, III 75
Новоселова Е.Г.	III 180	Павликов А.И.	III 246	Петухов С.В.	IV 20, IV 76
Новоселова Н.Ю.	I 223	Павлин С.В.	II 113	Печуркин Н.С.	II 116
Новоселова Т.В.	III 180	Павлов Д.В.	III 239	Пешехонов В.Т.	I 313
Нокс П.П.	I 108	Павлова Л.А.	III 113	Пигалева Т.А.	I 234
Норик В.П.	I 24, I 216, I 224	Пальмина Н.П.	III 148	Пикардо Ц.	II 45
Носикова И.Н.	III 113	Панасенко О.М.	I 77, III 58, III 185	Пикуленко М.М.	III 186
Нуйдель И.В.	II 110, 121	Панина Л.К.	I 31, III 33, IV 7	Пинелис В.Г.	I 40
Нурминский В.Н.	IV 74	Панищев О.Ю.	III 72	Пиняскина Е.В.	II 117, III 149, III 187
Нурминский Е.А.	IV 56, IV 57, IV 58, IV 59	Панов А.В.	III 252	Пискунова Г.М.	III 114, III 133, III 223
Нуруллин А.Г.	II 111, III 181, IV 73	Панова И.Г.	III 224	Письман Т.И.	III 215
Нуруллин Л.Ф.	II	Пантелеев М.А.	I 7, I 225, II 38, II 41, III 88, III 142, III 218	Питлик Т.Н.	II 46, II 47, II 118
Нуруллин Р.Г.	III 181	Панченко Л.А.	I 220	Пищальников Р.Ю.	I 235, IV 77
О		Парамонова Н.М.	I 277	Платонова А.А.	I 236
Обыденный С.И.	I 225	Парин С.Б.	II 121, IV 18	Платина И.Г.	I 186, II 95
Ованесов М.В.	II 1	Паровичникова Е.Н.	III 56	Плескач Н.М.	I 317
Оджагвердиева С.Я.	IV 63, IV 64	Парфенюк С.Б.	III 180	Плескова С.Н.	III 194
Одиноква И.В.	I 226	Паршина Е.Ю.	I 229, I 230	Плеханова А.С.	III 188
Озолина Н.В.	IV 74	Паршинцев А.А.	IV 41	Плотников Е.Ю.	I 276
Озолин О.Н.	I 179, I 194, I 240	Парьева Е.С.	I 37, I 269	Плюснина С.Н.	III 242
Округин Б.М.	I 211	Паскевич С.И.	II 154	Поварницына Т.Н.	I 201
Окунева А.Д.	I 238	Патапович М.П.	IV 75, IV 101	Погарская И.В.	I 148, I 237
Ольшевская В.А.	I 253	Паточка Г.Л.	III 100, III 107, III 235	Погодин В.Ю.	IV 13
Олюнина Л.Н.	III 182	Пашинская В.А.	IV 23	Погодина Л.С.	II 129
Омельченко А.И.	IV 80	Пашкевич С.Н.	III 141	Погорелов А.Г.	II 143, III 231
Онойко Е.Б.	I 114, I 242	Пашковская И.Д.	IV 75, IV 101, IV 102	Погорелова В.Н.	II 143, III 231
Опарина Н.Ю.	I 158	Пашенко В.З.	I 108, I 247, I 278, II 92, II 114	Погосян С.И.	II 31, II 119
Орлов А.А.	II 89, III 34	Перегудов А.С.	III 18	Погромская Я.А.	III 189
Орлов С.Н.	I 230, I 236	Перепелкина Л.Н.	I 143	Подлубная З.А.	I 238
Орлова А.Г.	III 18, III 30, III 154, III 183, III 193	Перепелкина Н.И.	I 231	Подорванов В.В.	I 239, I 242
Орлова О.В.	I 129, I 257	Перепечаева М.Л.	I 80	Позднякова А.С.	III 190
				Покровский А.Н.	II 120
				Покусаева В.О.	I 240
				Полевая С.А.	II 43, II 121, IV 13, IV 18

Поленова И.А.	III 235	Разживин А.П.	I 247	Рохмистрова Е.Г.	III 201
Полешко А.Г.	I 241	Разина В.С.	III 195	Рочев Ю.А.	III 202
Полещук В.В.	IV 100	Ракевич А.Л.	IV 74	Рошаль А.Д.	I 73
Полищук А.В.	I 114, I 239, I 242	Рапопорт В.Л.	I 183, I 248, IV 61	Рощина В.В.	I 255
Половинкина Е.О.	III 108, III 232	Расказов В.А.	IV 56, IV 57	Рощупкин Д.И.	III 203
Полозов Р.В.	I 219, I 220	Рахбанова З.М.	I 229	Рубан М.К.	I 172, I 256
Полонецкий Л.З.	III 58	Рахнянская А.А.	IV 98	Рубин А.Б. I 142, I 185, I 229, I 263, I 264, II 22, II 92, II 114, II 147, III 23	
Полохов Д.М.	III 218	Ребриев А.В.	IV 55	Рубин М.А.	I 300
Поляков А.В.	I 186	Ребрикова Н.Л.	III 22	Рубцова Е.В.	II 122
Поляков Ю.С.	III 72	Ревергук З.В.	I 134	Руденко Н.В.	III 144
Поляничко А.М.	I 243, I 279, I 316	Ревин В.В. I 50, I 251, I 287, I 302, II 61		Рудковский М.В.	II 23, II 72
Полянская Н.И.	III 225	Ревина Э.С.	I 302	Руднев С.Г.	II 40
Полянский Н.Б.	I 206, I 310	Резван С.Г.	I 32	Румянцев Е.А.	I 257
Пономарева Н.Г.	III 154	Рейхардт Б.А.	I 223	Рунова Е.В.	IV 18
Поплинская В.А.	III 228	Рекстина В.В.	I 38, I 249	Русакон А.В.	II 97
Попов А.Л.	IV 78	Ренгер Г. II 92		Русинов М.А.	II 123
Попов И.А.	III 39	Решетилов А.Н.	III 136	Рууге Э.К. III 226, III 250	
Поповичева А.Н.	I 320, I 321	Решетов В.А.	III 99, III 196, III 248	Рухленко А.С.	II 124
Портнягина О.Ю.	I 89	Решетова К.И.	I 183	Рыбакова С.Р.	I 259
Поскачина Е.Р.	III 93	Ризниченко Г.Ю.	I 97, I 142, I 192, I 297, II 22, II 119	Рыжакина А.Ю.	III 204
Потапенко А.Я.	II 87, III 191, III 248, III 249	Рисник Д.В.	III 41	Рыжкина И.С.	III 129
Потапенков К.В.	IV 41, IV 98	Робакидзе Н.С.	III 119	Рябова Н.А.	I 258
Потетня В.И.	I 150, III 132	Ровба Е.А. I 250		Рязанов В.В.	IV 69
Попова Е.В.	I 91	Рогаткин Д.А.	III 40, III 212		
Потняева А.Л.	II 61	Рогачевская О.А.	I 152, I 254	С	
Приезжев А.В.	I 175	Рогачевский В.В.	I 221	Савватеева-	
Присный А.А.	I 79	Рогозин М.М.	I 321	Савельев А.А.	II 73, II 125
Прияткина Т.Н.	I 244	Родионов А.А.	III 252	Савельев В.Ю.	III 29
Пронкин П.Г.	III 192, III 224	Родионова Н.Н.	I 251	Савенкова М.В.	I 309
Пряникова Т.И.	III 154, III 183, III 188, III 193	Родичева Э.К.	II 37	Савина А.В.	I 183
Пуговкина Н.А.	III 36	Родиченко Н.С.	III 80	Савицкий А.П.	II 126, III 55, III 89, III 158, III 205, III 236
Пудовкина Е.Е.	I 78, III 194	Рожков С.П.	I 252, III 198	Савранский В.В.	I 290, III 71
Пузырь А.П.	IV 81	Розанова О.М.	III 216	Савченко В.Г.	III 56
Пулман М.Г.	57 II	Розенкранц А.А.	III 80, III 199, III 210, IV 79	Садикова Д.Г.	IV 10
Путилина Ф.Е.	II 33	Розенталь В.М.	III 174, III 175, III 176	Садреев И.И.	II 36
Путинцева О.В.	I 35	Розенфельд М.А.	III 200, IV 22	Садритдинова А.Ф.	I 158
Путляев В.И.	III 173	Рокицкая Т.И.	I 253, I 276	Сажина Н.Н.	IV 82
Пучков М.Н.	I 245	Роман С.Г. I 310, IV 80		Сазанова К.А.	III 206
Пучкова А.О.	IV 45	Романов В.В.	I 31	Сакодынская И.К.	I 48
Пятницкий И.А.	III 191	Романов И.В.	III 81	Саламатова В.Ю.	II 40
Р		Романов Р.А.	I 254, IV 21	Салеев Р.К.	IV 74
Рабаданова З.Г.	I 90	Романова Н.А.	II 154	Самарцев В.Н.	I 95, I 259
Рабинович А.Л.	I 107, I 246	Романова О.И.	I 113, IV 37	Самигуллин Д.В.	II 125, II 127, II 145
Равин В.К. III 179		Романовский Ю.М.	I 133	Самойлов М.В.	IV 66
Рагинов И.С.	III 252	Романченко С.П.	III 216	Самсонова Ж.В.	III 211
Рагулина Л.Е.	III 164	Ронжин Н.О.	IV 81	Самсонова Ю.С.	I 175
Раевский А.М.	III 18	Ротач Ю.В. III 189		Самченко А.А.	I 146
				Самыгина В.Р.	I 274
				Санин А.Г. II 168, IV 83	
				Санина Н.М.	I 89, III 67
				Санина О.А.	II

168, IV 83		Синельникова И.А.	IV 27,	Соколовский И.В.	I 282
Санникова Е.П.	I 267	IV 47, IV 84		Солдатов Е.С.	IV 41
Санталова И.М.	II 154	Синицын Д.О.	I 160	Соленов Е.И.	I 123
Сантер С.	IV 91	Синицына Ю.В.	III 108	Соловей А.Б.	II
Сапожникова А.Д.	III 28	Синцов М.Ю.	I 269	122, II 132	
Сапронов Н.С.	I 223	Сиренко В.В.	I 270	Соловьева А.Б.	III
Сапун А.С.	IV 46	Сироткина М.А.	III 245,	244, IV 34	
Сарис Н.-Э.	I 43	IV 34, IV 85		Соловьева Т.Ф.	I 89, IV 58
Сафаргалеева Е.А.	I 183	Сирош А.А.	I 43	Сомова Л.А.	III 215
Сахарнова Т.А.	II 128	Скавуляк А.Н.	III 97	Сорокин А.А.	IV 90
Свербиль В.П.	III 222	Скачовски А.	II 166	Сорокина С.С.	III 216
Свердлов Е.Д.	IV 79	Скворцова Л.С.	III 252	Сорочкина А.И.	I 276
Свиридова-Чайлахян		Склифас А.Н.	II 130	Сотников О.С.	I 277
Т.А.	II 154	Скоринкин А.	II 7, II	Софронова В.Е.	III 217
Свирин В.И.	IV 76	36, II 131		Сочивко Д.Г.	I 170
Свириева И.В.	III 250	Сластникова Т.А.	III	Сошитова Н.П.	II
Седанкин М.К.	IV 24	210, IV 79		41, III 218	
Сейфуллина Н.Х.	I 108	Слобожанина Е.И.	I 271	Сошникова Ю.М.	IV 80
Селезнева И.И.	II 154, III	Случанко Н.Н.	I 26	Спешилов Г.И.	II 141
84, III 173, IV 78		Сметанина М.В.	III 43	Спивак И.М.	I
Селиванова О.М.	I 92, I 258	Смирнов А.А.	I 266	317, III 137	
Селин А.А.	I 260	Смирнов В.Ф.	III 104	Сребницкая Л.К.	III 97
Семенихин А.В.	I 114, I 261	Смирнов С.В.	II 19, II 32,	Стадничук И.Н.	I 278
Семенов В.А.	III 86	II 45, II 133, II 153, II 165		Старкова Т.Ю.	I 279, I 316
Семенов В.В.	III 166	Смирнова Д.В.	III 211	Староверов С.А.	I 84
Семенов М.А.	I 73	Смирнова Е.Н.	III 216	Стасенко С.В.	I 280, II 63
Семёнов С.Ю.	III 16	Смирнова Е.Ю.	I	Степанов А.С.	I 160
Семенова Т.П.	I 262	24, 109, 216, 272		Степанов Г.О.	III 184
Семин Б.К.	I 263, I 264	Смирнова Л.А.	III	Степанов О.А.	I 158,
Семисотнов Г.В.	I 38, I 190,	24, III 239		II 133, 153	
I 249, I 258		Смирнова О.Д.	III	Степанов С.А.	II
Семьянов А. В.	II 63, II 83	40, III 212		134, III 111	
Сенько О.В.	IV 69	Смирнова Т.В.	III 188	Степанян И.В.	IV 76
Серая О.Ю.	I 113, IV 37	Смирнова Т.И.	III 183	Стефанов В.Е.	I 163, I
Сергеева Е.А.	I 137, III	Смолина Н.В.	III	281, II 88, III 137, IV 87	
30, III 79, III 82, III 159		18, III 222		Стовбун С.В.	II 137
Сергеева Е.И.	III 79	Смолыгина Л.Д.	I 267	Стойков И.И.	I 304
Сергеева Т.Ф.	I 265	Смолянская О.А.	III 81	Стрельцова О.С.	III 119
Сергиевич Л.А.	I 266	Снежкина А.В.	I 158	Стрёмовский О.А.	III 147
Сергиенко В.И.	III 203	Снопова Л.Б.	III 154, III	Стрзалка К.	II 166
Сердюк О.П.	I 267	183, III 193, III 245, IV 34		Стриковский А.В.	IV 34, IV 85
Сердюков Ю.А.	III 207	Соболев А.С.	III 80, III	Стробицына И.Ю.	I 121
Серебровская Е.В.	III 245	210, III 213, IV 79		Стронгин Л.Г.	III 170
Серебровская Е.О.	III 246	Соболев О.В.	I 273	Стручкова И.В.	III 219
Сережникова Н.Б.	II 129	Соболь Э.Н.	IV 80	Студитский В.М.	IV 52
Сибгатуллин Т.А.	I 268	Соколик А.И.	III 77	Субочев П.В.	IV 85
Сиваев И.Б.	III 87	Соколов А.В.	I 77, I 274,	Суворина М.Ю.	I 92, I 282
Сивожелезов В.С.	IV 72	III 58, III 185, III 214		Суворова Ю.М.	I 283
Сидорова А.Э.	III	Соколов В.В.	II 32, II 45	Суковатая И.Е.	III 221
208, III 209		Соколов В.С.	I 288	Сулацкая А.И.	IV 95
Сизов Ю.А.	III 29	Соколов М.Е.	II 110	Сурин А.К.	I 92, I 282
Симонова М.А.	II	Соколов П.А.	II	Сурин А.М.	I 40
143, III 231		144, IV 45		Сурова Л.М.	I 284, I 323
Симонова Н.Б.	II 154	Соколов Р.А.	I 275	Суровая А.Н.	I 85, I
Симонян А.О.	I 270	Соколова О.С.	IV 33, IV 86	285, III 19	
Синауридзе Е.И.	III 56	Соколова Т.В.	I 43	Суслов М.А.	III 14, I III

03, III 220, IV 88
 Сутормин О.С. III 221
 Сухов В.С. I 257, I 284, I 286, I 323, II 135
 Сухоруков Г.Б. IV 43
 Сырейщикова Т.И. III 222
 Сысоева В.А. I 152
 Сычев С.В. I 276, III 23
 Сэйберт М. I 263
 Сюзин И.В. I 287

Т

Тай М.Л. II 62
 Таисова А.С. II
 136, II 164
 Танин А.Л. IV 75, IV 101, IV 102
 Танканаг А.В. II 39, III
 114, III 133, III 223
 Тарабукина И.С. III
 241, III 242
 Таранов И.В. IV 98
 Тарасевич В.А. IV 66
 Тарасов Д.С. IV 17, IV 89
 Тараховский Ю.С. I
 165, III 253
 Татарникова О.Ю. IV 78
 Татиколов А.С. III 8, III
 192, III 224
 Ташкин В.Ю. I 288
 Твердислов В.А. II 137, II
 163, III 208
 Телегина Т.А. I 289, II
 28, III 46
 Темлякова Е.А. IV 90
 Темнов А.А. II 130
 Теплов В.А. I 195, I
 196, II 138
 Теренина М.Б. I 104
 Терентюк А.Г. III 225
 Терентюк Г.С. I
 309, III 225
 Терешкина К.Б. I 160
 Терновская Е.Е. I 144
 Терпинская Т.И. I 54
 Терпугов Е.Л. I 290, III 71
 Терпугова С.Е. I 290, III 71
 Теселкин Ю.О. III
 113, IV 82
 Тиктопуло Е.И. I 300
 Тиялев М. III 138
 Тимашев С.Ф. III 72
 Тимофеев К.Н. III 172
 Тимофеева О.Д. I 129
 Тимошин А.А. III 226
 Титов В.Ю. III 227

Титов Е.В. IV 91
 Ткачук В.А. I 152
 То Тхи Бик Тхуи I 315
 Токарев А.А. II 139
 Токарев Д.В. II 61
 Толмачева А.В. II 49, II 59
 Томилин М.В. III 182
 Тополь И. II 126, III 205
 Топоркова Я.Ю. I 291
 Топунов А.Ф. III 109
 Торчинский Л.Г. IV 8
 Торшин И.Ю. IV 92
 Трещенкова Ю.А. III 42
 Трифонов Е.В. IV 56, IV
 57, IV 58, IV 59
 Тронов В.А. III
 169, III 228
 Трофимов А.В. III 160
 Трофимова Н.Н. II 129
 Трубицына М.С. I 208
 Трудовишников А.С. I 40
 Трунин Р.А. II
 143, III 231
 Трусова В.М. I 105
 Тулеуханов С.Т. I 165
 Тулуб А.А. IV 87
 Туманян В.Г. I 155, I
 209, I 300, III 164, IV 92
 Тупицына А.И. I 292
 Туроверов К.К. IV 95
 Туровская М.В. II 49
 Туровский Е.А. I 96, II 49
 Турутина О.С. III 177
 Турченков Д.А. I 293, I 294
 Турченков М.А. IV 93
 Турчин И.В. I 54, III 21,
 III 52, III 154, III 183, III 188, III 245
 Тутукина М.Н. I 179
 Тюкин И.Ю. II 63
 Тюняев А.А. II 48
 Тюрина М.И. III 223
 Тяпкина О.В. II
 140, III 229

У

Уваровский А.Н. II 141
 Угарова Н.Н. III 144, III
 163, III 211, III 230
 Узбеков М.Г. III 18
 Узденский А.Б. II 23, II 72,
 II 77, II 142
 Уласов А.В. III 80
 Ульяненко С.Е. I
 150, III 132
 Урнова Е.С. III 56

Усанов С.А. I 130, I 325
 Устинин Д.М. II 119
 Уткин Ю.Н. I 68
 Уханова Ю.А. II 61
 Учаев Д.А. IV 94
 Учитель М.Л. II
 143, III 231
 Ушаков В.Л. II 54, II 71,
 II 144, III 94, III 120

Ф

Фадеев П.Ю. IV 29
 Фадеев Р.С. III 121
 Фадюкова О.Е. I 175
 Фазилов Р.Н. III 232
 Файзуллин Д.А. I 121, I 295
 Фалькович С.Г. I 212
 Фам Уиен Тхи IV
 101, IV 102
 Фатихов Н.Ф. II
 127, II 145
 Фаткуллина Л.Д. I 296, III
 42, III 233
 Фахранурова Л.И. II 154
 Фадоренко Г.М. II 77
 Федоров А.А. I 170
 Федоров В.А. I 297
 Федоров Г.Е. I 119
 Фёдоров Д.В. I 313
 Федорова И.В. I 181, I 313
 Федосеев А.И. I 91
 Федотчев А.И. III 234
 Федотчева Н.И. I 298
 Фелл Д.А. II 57
 Фельдштейн Ф.И. III
 110, III 119
 Феофанов А.В. III 87, III
 190, IV 52, IV 53
 Ферензи М.А. I 307
 Фернандес М. I 307
 Фесенко Е.Е. I 199, III
 179, III 180, IV 71
 Фетисова Е.К. II 9
 Фетисова З.Г. II 136, II
 146, II 164
 Фиалковская Л.А. I 299
 Фикс И.И. III 21
 Филатов И.В. I 209, I
 300, III 164
 Филимонов В.В. I 222, I 301
 Финкельштейн А.В. I 71, I 92
 Фирсов Н.Н. I 147
 Фирстова Н.С. I 50, I 302
 Флорес В. II 45
 Фомин А.С. I 84

Фомин Л.Б. I 303
 Фонин А.В. IV 95
 Фостий З.А. IV 99
 Фрайкин Г.Я. II 147
 Французова В.П. III 182
 Фридлянская И.И. III 9
 Фролов В.А. I 36, I 37
 Фрумкина Л.Е. II 160

Х

Хабибуллин Р.Д. II 148
 Хазиев Э.Ф. II
 127, II 145
 Хаймович Т.И. III 100, III
 107, III 157, III 171, III 235
 Хайруллин Р.Н. II 36
 Хайрутдинов Б.И. I 98, I 304
 Халатур П.Г. I 319
 Халилова Л.А. I 324
 Халаякин А.В. II
 149, II 150
 Хапчаева С.А. III 250
 Харакоз Д.П. I 305
 Харчук О.А. II
 151, II 152
 Хасанова Л.М. III 121
 Хаспеков Л.Г. II 100
 Хаустова Я.В. I 81
 Хаутаниеми Т. II 131
 Хватова Е.М. I 265
 Хижняк Е.П. III 84
 Хлебцов Б.Н. III 225
 Хлебцов Н.Г. III.225
 Хлудеев И.И. III 99
 Хмельницкий А.И. I 312
 Ходоров Б.И. I 40
 Холявка М.Г. IV 96
 Хомутов Г.Б. IV 41,
 IV 97, IV 98
 Хоробрых С.А. I 118
 Хорунжая О.В. I 44
 Хохлов А.А. IV 21
 Хохлов А.Р. I 116, I 319
 Храмов Р.Н. II 154
 Храмова Ю.В. II 153
 Храмов Ю.В. III 80
 Храмова Е.А. I 306
 Хребтова А.С. I 44, I 45
 Хренов М.О. III 180
 Хренова М.Г. III 55, III
 236, III 237
 Хрустова Н.В. III 238
 Хрущев С.С. I 97, I 297
 Хузахметова В.Ф. II 125
 Хундерякова Н.В. I 113, IV 37

Ц

Цатурян А.К. I 307
 Цверова Н.Е. м239
 Цветков В.О. I 115, IV 99
 Ценцвицкий А.Н. II 74, II 155
 Цетлин В.И. I 68, I 308
 Цкитишвили О.В. м226
 Цукерман В.Д. II 156
 Цыганков А.А. II 157
 Цыганова Н.А. I 309

Ч

Чаговец В.В. IV 51
 Чеботарева Н.А. I 310, IV 80
 Чекашкина К.В. I 37
 Чемерис Н.К. II 39, III
 114, III 133, III 223
 Черенкевич С.Н. I 77, I 188, I
 311, I 312, II 46, II 47, II 118, III 58
 Черепенин В.А. IV 98
 Черкасова Е.И. III 159
 Чернавская О.Д. II 158
 Чернавский Д.С. II 158
 Черенков А.Ю. I 313
 Черников А.В. III 37, III 60
 Чернов А.С. I 314
 Чернов В.В. III 177
 Чернышов М.Ю. IV 74
 Чернышов С.В. I 194
 Чернявских С.Д. I 315
 Чернядьева А.В. I 259
 Чертков О.В. IV 52
 Черткова Р.В. I 34, I 228
 Чечеткин В.Р. I 155
 Чигалейчик Л.А. IV 100
 Чижов А.В. I 109
 Чикишев А.Ю. I 48, III 22
 Чиков В.И. II 159
 Чинь Н.Х. IV 101, IV 102
 Чистюлин Д.К. IV 58
 Чихиржин О.В. I 317
 Чихиржина Е.В. I 243, I
 279, I 316
 Чукичева И.Ю. I
 181, III 242
 Чумаков Д.С. III 225
 Чумаков М.И. I 88

Ш

Шабалин М.А. III 240
 Шабанов П.Д. II
 143, III 231
 Шабарчина Л.И. IV 31, IV 43

Шадрин И.Ф. I 318
 Шайтан А.К. I 319
 Шайтан К.В. IV 33
 Шайфер У.И. 167
 Шамова Е.В. I 77
 Шарабрин Е.Г. III 59
 Шарاپов М.Г. III 179
 Шарова Е.И. II 85
 Шарпио Т.П. III 76, III 77
 Шаталова О.В. I 296
 Шатрова А.Н. III 36
 Шахова Н.М. III 30, III 79,
 III 154, III 183
 Шварцбурд П.М. II 89
 Шевченко О.Г. III 241, III
 242, III 243
 Шевченко Т.Ф. II 8, III
 38, III 130
 Шевчик С.А. II 144
 Шейко Я.И. IV 46
 Шейман И.М. II 109
 Шелудченко Н.И. I
 181, III 242
 Шелудько Н.С. I 270
 Шемяков А.Е. III 216
 Шереметьев Ю.А. I 320, I
 321, I 322
 Шерстнева О.Н. I 284, I 323
 Шестаков П.И. II 41
 Шестопалова А.В. I 44, I 45
 Шигаева М.И. I 60
 Ширманова М.В. I 54, III 21,
 III 140, III 159, III 244, III 245, III
 246, IV 34
 Широкова О.М. II 160
 Ширшикова Г.Н. II 161
 Шихабудинов А.М. I 84
 Шишалов И.С. IV 18
 Шишилов О.Н. I 134
 Шишкина Л.Н. I 140, I
 181, I 186, III 125, III 238, III 247
 Шкуринов А.П. I 48
 Шкуропатов А.Я. I 327
 Шмарев А.Н. II 161
 Шматченко В.В. I 92
 Шмиголь Т.А. III
 248, III 249
 Шмитт Ф.-И. II 92
 Шнырова А.В. I 36, I 37
 Шпирная И.А. I 115, IV 99
 Шубина Л.В. II 25
 Шувалов А.В. I 324
 Шувалов В.А. I 327
 Шумаев К.Б. II 8, III
 109, III 250

Щ		Яшанова М.И	III.170	Tanggis B. I 329	
Щагина Л.В.	I 101	A-Z		Trusova V.M.	I 335, I 337
Щеголев Б.Ф.	I 281			Tsuboi T. I 174	
Щербатюк Т.Г.	III	Ahmadov I.S.	I 332	Vajda S. I 329	
170, III 177		Alam J.Md.	I 174	Van As H. I 268	
Щербина И.А.	III 17	Al-Karadaghi S.	I 333, I 334	Vergeldt F.J.	I 268
		Aura A.M. II 153		Vus K.O. I 336	
Э		Beglov D. I 329		Weisel J.W. I 295	
Эйгес Н.С. III 251		Belyaeva N.E.	II 170	Yamazaki M.	I 174
Эль-Регистан Г.И.	I 160	Chi Ho Ngan	I 329	Yudintsev A.V.	I 337
		Deligeorgiev T.	I 337	Zamaraeva M.	I 47
		Elmlund H.	I 333	Zerbe B. I 329	
Ю		Emanuelsson C.	I 333		
Южакова Д.В.	III 82	Frank-Kamenetskii			
Южакова О.А.	III 190	M.D. I 329			
Юзенине А.	II 142	Freiberg A.	I		
Юминова Н.В.	I 27, I	330, II 171			
148, I 237		Gakh O. I 334			
Юрина Н.П.	II 102	Gerkema E.	I 268		
Юров С.С. III 124		Hakansson A.P.	III 121		
Юртаева С.В.	II	Hall D.R. I 329			
162, III 252		Hansson M.	I 333		
Юрчук Ю.С.	III 22	Hasanov H.S.	III 256		
Юсипович А.И.	I 131, I	Isaya G. I 334			
228, I 230, I 251		Jadko S.I. I 331			
		Kalnina I. I 336			
Я		Kastorna A.P.	I 336		
Яблоков Е.О.	I 325	Khalilov R.I.	I 332		
Яблокова Е.В.	IV 71	Kirilov G.K. I 336			
Ягольник Е.А.	I	Kirilova E.M.	I 336		
165, III.253		Kozakov D.	I 329		
Ягужинский Л.С.	I 124, I	Kutsenko O.K.	I 337		
260, I 326, II 50, III 37		Lavrova A. II 172			
Язев Е.А. I 152		Lindahl M. I 333			
Якименко А.О.	I 7	Litvinov R.I.	I 295		
Якимова О.В.	III 254	Lundqvist J.	I 333		
Яковенко Л.В.	I 12, II 163	Masimov E.A.	III 256		
Яковенко С.А.	II	Mavlyanov S.	I 47		
68, III 116		Murtazaeva L.A.	I 337		
Яковлев А.Г.	I	Musayeva S.I.	III 256		
327, II 164		Paschenko V.Z.	II 170		
Яковлева Т.А.	165	Pashayev B.G.	III 256		
Якушевич Л.В.	I 327	Rajan S. I 334			
Якушенкова Т.П.	II 166	Ramazanov M.A.	I 332		
Янюшин М.Ф.	I 278	Renger G. I 247, II 114, II 170			
Яралиева Ф.Я.	I 200	Riznichenko G.Yu. II 170			
Ярмолюк С.М.	III 8, III 224	Roche-Hakansson H. III 121			
Ярославов А.А.	IV 98	Rubin A.B. II 170			
Ярош О.Г. III 91, III 255		Schmitt F.-J.	I		
Яхно В.Г. II 110, II 121, II 167, II		247, II 170			
168, II 169		Shkumatov A.	I 334		
Яхно Т.А. II 168, II 169, IV 83		Sienkiewicz A.	I 332		
Яхъяева Ф.Р.	III 63	Söderberg C.	I 334		
		Svergun D.	I 334		
		Takahashi T.	I 174		

ГЕНЕРАЛЬНЫЕ СПОНСОРЫ

BioScope Catalyst

АСМ для медико-биологических приложений

ОПТЭК
Объединяя решения



Высокоразрешающее изображение на молекулярном уровне

- Липидные биослои и мембраны
- Плазмиды ДНК и другие биомолекулы
- Структура биополимеров

Изображение живых клеток

- Связь между структурой и функцией
- Комбинированные оптические и АСМ исследования
- Получение ответа на внешние воздействия

Силовые и механические исследования

- Упругость клеточных мембран
- Наноманипуляции и механические стимулы
- Картирование взаимодействия лиганд-рецептор
- Силовая спектроскопия отдельных молекул

BioScope Catalyst - это наиболее полно интегрированный и простой в обращении АСМ для биологических и медицинских исследований, предлагаемых сегодня на рынке

Обратитесь за подробной информацией в "ОПТЭК"

8-800-2000-567

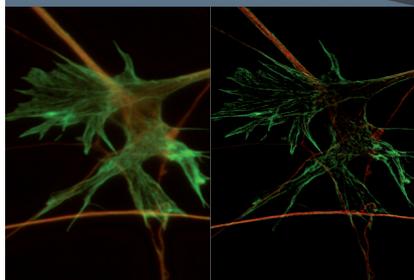
(звонки по России бесплатные)

www.optecgroup.com

Представительства "ОПТЭК"

Москва, Санкт-Петербург, Казань, Нижний Новгород,
Краснодар, Екатеринбург, Новосибирск, Владивосток,
Киев, Алматы, Ташкент, Баку, Ереван, Минск, Тбилиси

BRUKER
think forward



ELYRA - войдите в мир сверхразрешения

ELYRA PS.1 от Carl Zeiss позволяет выбрать метод сверхвысокого разрешения, который лучше всего подходит для изучения вашего образца. Никогда еще так много методов визуализации не были доступны на одной платформе.

Сложность экспериментов с биологическими объектами диктует необходимость использования разных методов манипуляции и визуализации. Система сверхвысокого разрешения ELYRA PS.1 позволяет реализовать разные методы, не прерывая эксперимент.

ELYRA PS.1 - это единая платформа для микроскопии сверхвысокого разрешения по технологиям SR-SIM, PALM и лазерной широкопольной микроскопии. Все технологии объединены в единый модуль оптики и электроники, а также программного обеспечения.

SR-SIM - это методика структурированного освещения, позволяющая строить трехмерное изображение объекта с разрешением до 120 нм

Технология PAL-M (последовательная фотоактивация молекул) позволяет достичь оптического разрешения - 20 нм.

Возможность объединения системы ELYRA PS.1 с конфокальным микроскопом последнего поколения LSM 710/780 позволяет комбинировать методы сверхвысокого разрешения с широкими возможностями лазерного сканирующего микроскопа.

Обратитесь за подробной информацией в "ОПТЭК"

8-800-2000-567
(звонки по России бесплатные)

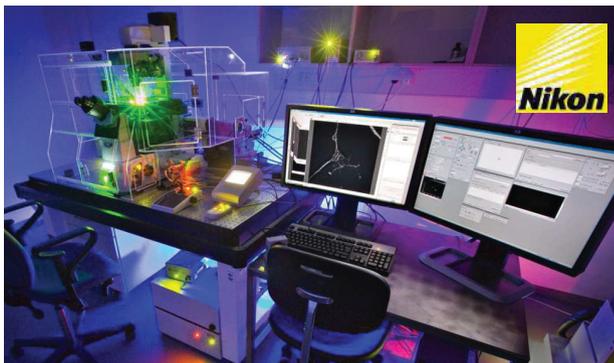
www.optecgroup.com

Представительства "ОПТЭК"

Москва, Санкт-Петербург, Казань, Нижний Новгород, Краснодар,
Екатеринбург, Новосибирск, Владивосток, Киев, Алматы, Ташкент,
Баку, Ереван, Минск, Тбилиси

ОПТЭК
Объединяя решения

Компания Stormoff основана в 1992 году и в настоящее время является крупной международной торговой компанией с головным офисом в Москве, занимающейся оснащением медицинских и научно-исследовательских учреждений. Компания имеет представительства в России и за рубежом.



Номенклатурный ряд оборудования насчитывает более 3000 наименований по 20 основным направлениям биологии и медицины, что предоставляет возможность проектирования комплексного оснащения лечебных и научных учреждений. На сегодняшний день Stormoff входит в десятку крупнейших компаний-поставщиков медицинского и лабораторного оборудования в России и СНГ.

Главные достоинства компании

- Команда квалифицированных специалистов, менеджеров и инженеров
- Официальный дистрибьютор лидеров лабораторного приборостроения Nikon, Andor, SIGMA Laborzentrifugen, Memmert, GFL, Miele, Fujifilm, Thermo и др.
- Поставка оборудования с заводов производителей со склада готовой продукции в Москве.
- Предложение потребителю доступных цен и коротких сроков доставки.
- Информационная техническая поддержка пользователей
- Адаптация оборудования под отечественные условия работы и ввод ее в эксплуатацию.
- Обучение специалистов новым методикам и технологиям работы
- Гарантийное и постгарантийное обслуживание поставляемого оборудования

Компания Stormoff является официальным представителем в России лидеров в разработке и производстве систем световой микроскопии и микроспектроскопии для научно-исследовательских работ компаний Nikon (Япония) и Andor (Великобритания). В линейку продукции по микроскопии входят:

- Микроскопы сверхвысокого разрешения N-SIM / N-STORM (Nikon)
- Многофотонные микроскопы A1RMP+/ A1MP (Nikon)
- Лазерные сканирующие конфокальные микроскопы серий A1+/A1R+ (Nikon), C2+ (Nikon), Revolution XD (Andor)
- Биостанции
- Системы анализа и обработки изображений спектрометры
- Поляризационные микроскопы
- Микроскопы для электрофизиологии
- Стереомикроскопы

История сотрудничества с компанией Nikon началась с 2002 года, когда на базе микроскопов Nikon специалисты Stormoff осуществили комплексное оснащение отделения ВРТ в Национальном Медико-Хирургическом Центре им. Н.И. Пирогова. Благодаря совместной работе, современными микроскопами были оснащены сотни лабораторий от простых учебных до научно-исследовательских создаются уникальные установки под конкретные исследовательские задачи. Высокое качество микроскопов Nikon привело к их широкому выходу и закреплению на отечественном рынке. Работая с нами, Вы используете богатый опыт нашей компании и научно-исследовательских лабораторий с которым мы сотрудничаем

1. Секвенирование и фрагментный анализ

Система генетического анализа GenomeLab™ GeXP Genetic Analysis System. Может быть использована для анализа фрагментов ДНК длиной до 700 пар нуклеотидов. Все возможности системы GenomeLab™ GeXP Genetic Analysis System реализованы в одном массиве капилляров и едином программном обеспечении. Автоматическое генотипирование и исследование экспрессии генов, обеспечивает высокое качество и адаптивную скорость в определении нуклеотидных последовательностей.



2. Luminex. Мультиплексный анализ в исследовании динамики белков и их комплексов, структуры и динамика нуклеиновых кислот. Детекция до 100 различных меток в одной пробе.

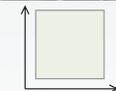
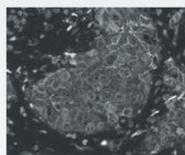


- Мультиплексный анализ, основанный на технологии жидких бид-массивов.
- Единовременный анализ до 100 различных протеинов, пептидов, фрагментов ДНК и РНК в малом и едином объеме пробы.

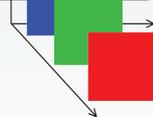
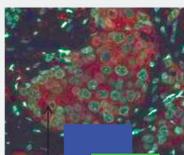


- Уникальная 2х цветовая система координат: красный/инфракрасный
- Анализ биологических суспензий в 96 луночных планшетах
- Принцип детекции, основанный на проточной цитометрии бидов.
- Каждому биду соответствует область – спектральный адрес микросферы, зависящий от отношения красный/инфракрасный

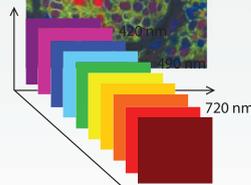
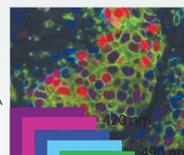
3. Программно-аппаратный комплекс мультиспектральной микроскопии. CRi. Мультиспектральная тонкослойная микроскопия



• Монохром



• Цветное (RGB)

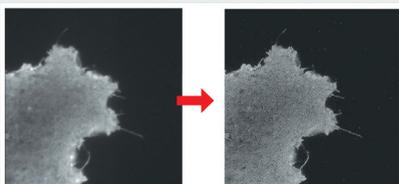
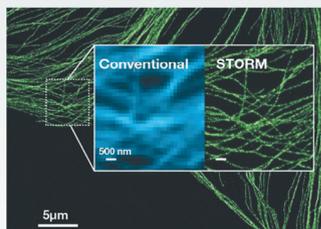


• Мультиспектр

Nikon — это всемирно известный бренд, специализирующийся на оптическом оборудовании, и единственная в мире компания-производитель микроскопов, выпускающая собственное оптическое стекло с гарантией отличного качества. 90-летний опыт работы в области микроскопии позволяет компании Nikon постоянно оставаться на передовой производителей современных оптических систем благодаря непрерывному внедрению инновационных технологий, ставших частью глобальной миссии компании.

В 2010 году компания Nikon выпустила на рынок новые системы сверхвысокого разрешения, позволяющие оставаясь в рамках оптической микроскопии, визуализировать наноскопические клеточные структуры и молекулярную активность при беспрецедентном разрешении.

Корпорация Nikon подписала лицензионное соглашение с Гарвардским университетом, согласно которому Nikon получает права на использование технологии микроскопии со стохастической оптической реконструкцией изображения (STORM). Технология STORM, обеспечивающая более четкое наблюдение тканей и клеток, является передовой разновидностью оптической микроскопии — одного из самых широко используемых методов биомедицинских исследований. Технология N-STORM, обеспечивающая в 10 раз более высокое разрешение по сравнению с обычными оптическими микроскопами, основана на признанном во всем мире исследовательском инвертированном микроскопе Nikon Eclipse Ti. Приборы N-STORM, расширяя возможности оптических микроскопов приближением разрешения к молекулярному уровню, будут пригодны для двух- и трехмерной много-спектральной наноскопии с боковым разрешением около 20 нм и осевым разрешением до 50 нм.



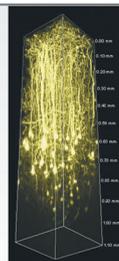
Plasma Membrane: Cell B16/YFP

Новый микроскоп N-SIM со сверхвысоким разрешением производства Nikon позволяет выявлять структуры и функции живых клеток на нано уровне. При помощи высокочастотной структурированной иллюминации микроскоп Nikon N-SIM может давать разрешение 85нм, считавшееся ранее недостижимым для оптических микроскопов. Более того, временное разрешение до 0,6 сек/кадр позволяет

микроскопу N-SIM выполнять замедленную съемку динамических взаимодействий молекул в живых клетках со сверхвысоким разрешением.

Мультифотонная система A1R MP от Nikon — это уникальная система получения мультифотонных изображений, оснащенная гальванометрическим сканером высокого разрешения и высокоскоростным резонансным сканером.

Эксклюзивный резонансный сканер Nikon позволяет регистрировать изображения больших площадей на значительно более высокой скорости по сравнению с нерезонансным сканером - до 420 кадров в секунду. Для поточечной сканирующей технологии это самая высокая скорость в мире. NDD-детектор для мультифотонной микроскопии позволяет быстро получать изображения из глубины самых толстых образцов.



СПЕКТРОМЕТРЫ APPLIED PHOTOPHYSICS ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ МОЛЕКУЛ

Компания **Applied Photophysics Ltd.** (Великобритания) является мировым лидером в области спектроскопии кругового дихроизма, кинетических исследований в остановленном потоке и лазерного импульсного фотолиза, а также связанных с ними технологий. Производитель проводит обучение и поддержку пользователей в соответствии с международными стандартами для достижения лучших результатов. **Техноинфо Лтд.** является официальным дистрибьютором компании **Applied Photophysics Ltd.** в России.

Области применения
в биологии: анализ структуры и фолдинга белков и нуклеиновых кислот, разработка лекарственных препаратов, анализ малых биомолекул, механизмов биохимических реакций и многое другое...

ОСНОВНЫЕ КЛАССЫ СПЕКТРОМЕТРОВ:

I. Спектрометры кругового дихроизма Chirascan

Chirascan вводит новые стандарты для статистической спектроскопии кругового дихроизма. Это включает в себя инновационную оптическую систему, обеспечивающую максимальное светопропускание, особенно в дальнем-УФ диапазоне длин волн, высококлассную систему сбора и обработки информации, которая обеспечивает быструю регистрацию максимально точных и верных КД-спектров. В отличие от обычных КД-спектрометров, в которых используются аналоговые фильтры электронов, которые сглаживают (а соответственно и искажают) КД-спектры, система электронного аппроксимирования **Chirascan** гарантирует получение неискажённых спектров.

II. Спектрометры остановленного потока (Stopped-flow) SX20



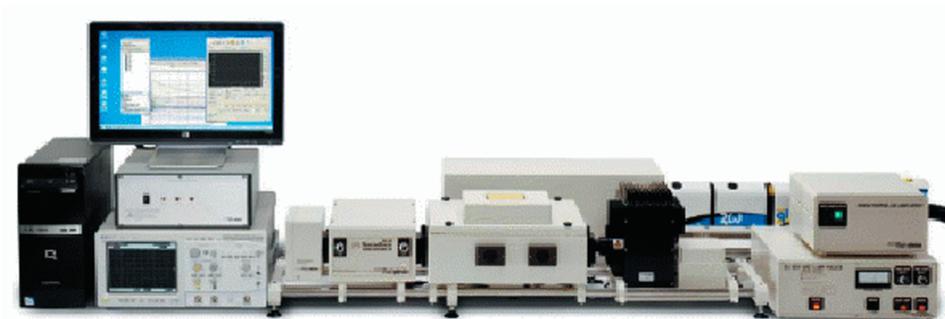
SX20 является золотым стандартом в области изучения кинетики химических реакций в остановленном потоке. Система предоставляет возможность одновременного смешивания исследуемых образцов, регистрации спектров поглощения и флуоресценции (или светорассеяния) как в стационарном, так и в динамическом режиме с непревзойдённым качеством. Циркуляционный контур спектрометра выполнен

из биосовместимых материалов и полностью термостатирован, а так же поддерживает широкий спектр возможностей по асимметричному смешиванию реагентов. Сбор, отображение и анализ поступающей информации производится при помощи пакета программного обеспечения **Pro-Data**, работающего в среде Windows® 7 и поставляемого в комплекте с прибором. Частота импульсов превышает 3000 с-1 с мертвым временем менее 500 мкс. Типичный верхний предел коэффициента скорости реакции составляет 2000 с-1 при стандартной конфигурации прибора (при меньших объемах кюветы - 3000 с-1). Также вам доступен широкий спектр дополнительного оборудования для модернизации данной системы, что позволит проводить любые требуемые исследования.



III. Спектрометры для лазерного импульсного фотолиза LKS.80

LKS.80 - универсальные спектрометры для наносекундной кинетики. Использование лазера в качестве источника возбуждающего излучения позволяет проводить исследования при четко заданной длине волны с наносекундной развёрткой. Непревзойденная чувствительность моно- и мульти-волновых измерений в кинетическом анализе. Прибор оптимизирован для измерений в диапазоне от наносекунд до секунд. Возможно изменение конфигурации до комбинированного спектрометра остановленного потока **SX20**. Модульный дизайн для долговременной службы с возможностью изменения конфигурации. Новое программное обеспечение для управления работой прибора Windows® 7 (ежегодное обновление ПО).



Более полную информацию Вы найдете
на сайтах www.technoinfo.ru и www.photophysics.ru,
а также у наших специалистов.

Наши контакты: Техноинфо Лтд., Москва, Кутузовский пр., 9/2а,
Тел./Факс: +7(499)243-6626, E-mail: sales@technoinfo.ru, www.technoinfo.ru

СПОНСОРЫ



GE Healthcare Life Sciences является мировым лидером в оснащении оборудованием и расходными материалами научныхисследовательских лабораторий и биотехнологических компаний для разработки и производства биофармацевтических препаратов, анализа их воздействия на клетку, исследования живых организмов на уровне генов, белков, клеточных структур с целью изучения механизмов жизни на молекулярном уровне и развития новых подходов для диагностики и лечения.

GE Healthcare Life Sciences – это сумма многих успешных брендов включая Sephadex, AKTA, Amersham, Biacore, MicroCal, WAVE, Whatman, IN Cell, PAA Laboratories и Applied Precision, Inc.

Основные направления

<p>1. Биопроцесс– оборудование и расходные материалы для производства биофармацевтической и биотехнологической продукции:</p> <ul style="list-style-type: none">• Промышленные хроматографические системы и колонны• Хроматографические сорбенты• Волновые биореакторы• Фильтрационные модули и установки	
<p>2. Оборудование и расходные материалы для лабораторной хроматографии и молекулярно-биологических исследований</p>	
<p>3. Оборудование и расходные материалы для изучения живых клеток и анализа взаимодействия молекул в режиме реального времени</p>	
<p>4. Среды и материалы PAA Laboratories и имиджевые платформы Applied Precision для клеточных исследований и технологий</p>	
<p>5. Фильтровальное оборудование и расходные материалы Whatman</p>	
<p>6. Сервисное обслуживание</p>	



GE Healthcare Life Sciences представляет технологию оптического биосенсора *Biacore™* на эффекте поверхностного плазмонного резонанса (SPR), а также технологию на основе термодинамики микрокалориметр *MicroCal™*, которые позволяют контролировать межмолекулярные взаимодействия биочипах или в микрочаечке в режиме реального времени без использования меток.



Biacore™ T200



MicroCal™ ITC 200

Biacore™ и *MicroCal™* с успехом используются в разнообразных исследованиях межмолекулярных взаимодействий белков, нуклеиновых кислот, углеводов, липидов, низкомолекулярных соединений клеток, вирусов, бактерий, липосом, наночастиц и др.

Технология дифференциального электрофореза DIGE (*IPGphor™* для изоэлектрофокусирования, *Ettan DALTsix™* для SDS-электрофореза) флуоресцентные метки *Cy™*, сканнер *Typhoon™*, программное обеспечение *DeCyder™* или *ImageMaster™*), популярность которой растет с конца 90х годов, позволяет прочитать весь клеточный протеом, в 6 раз снизить количество используемых материалов, время при проведении двумерного электрофореза, а также число артефактов.



CyDye™



Typhoon™ FLA 9500



Данные инновационные технологии широко используются по всему миру в самых разных областях: биотехнологии, онкологии, нейробиологии, протеомике, иммунологии, исследованиях инфекционных заболеваний, трансдукции сигнала, скрининге и характеристике лекарственных препаратов, разработке вакцин. Наши российские ученые идут нога в ногу со своими коллегами из ведущих западных центров используя эти технологии в своих исследованиях и публикуясь в лучших мировых изданиях.

ЗАО «ДжиИ Хэлскеа»
123317 Россия, Москва,
Пресненская наб., 10С, 12этаж
Т. +7 (495) 411-97-14
Ф. +7 (495) 739-69-32

Компания «РУСБИОЛИНК» предлагает свои услуги научно-исследовательским лабораториям, специализирующимся в области биохимии, молекулярной и клеточной биологии и научно-производственным биотехнологическим фирмам:

- поставку реактивов, расходных материалов и оборудования,
- консультации,
- помощь в реализации Ваших продуктов и услуг.

МЫ ОБЕСПЕЧИВАЕМ:

максимальное удобство для клиентов:

- активно используем современные средства коммуникации (копии счетов и других документов по электронной почте, оперативная связь через Skype);
- доставляем заказы и документы в Вашу лабораторию*;
- располагаем сетью региональных партнеров;
- поможем Вам составить и оптимизировать заказ

уверенность в качестве продукции:

- выбираем поставщиков по оптимальному соотношению цены и качества продукции;
- реализуем продукцию только в оригинальной упаковке и с документацией поставщика;
- тщательно следим за соблюдением условий хранения и транспортировки термолабильных реагентов;
- ответственно относимся к Вашим претензиям и рекламациям

возможность выбора:

- мы официально представляем в России ряд зарубежных фирм: Applichem, Avanti Polar Lipids, BioLegend, Biotium, Enzo Life Sciences, Electron Microscopy Sciences, Iris Biotech, Lucigen, Merck Biosciences, Peprotech, Santa Cruz Biotechnology, Takara/Clontech, R&D Systems, Vector Labs, Zymo Research и другие;
- готовы осуществить поставку продукции зарубежных фирм, не представленных в России, в разумные сроки и по разумным ценам;
- а также поставку некоторых зарубежных фирм, имеющих представительства в России (в том числе Sigma-Aldrich, Bio-Rad), по ценам представительств;
- постоянно расширяем ассортимент продукции, доступной со склада.

*доставка документов и продукции может быть платной, подробности см. на нашем сайте

РАССМОТРИМ ВАШИ ПРЕДЛОЖЕНИЯ:

Мы заинтересованы в предложениях от биотехнологических фирм и научных коллективов, предлагающих продукцию собственного производства и услуги по выполнению контрактных работ. Мы готовы к работе с региональными дилерами и представителями.

ПОДРОБНУЮ ИНФОРМАЦИЮ

Вы можете получить при личном контакте:

Русбиолинк

115201, г. Москва, Каширское ш,
д.22, корп. 3 стр.2,
тел. (499) 502-04-70
факс (495) 727-44-35
mail@rusbiolink.com

Представительство

Русбиолинк в Санкт-Петербурге:
Абдулин Наиль, тел. (921) 578-08-23

Представительство

Русбиолинк в Новосибирске:
Бизяева Светлана, тел. (913) 916-35-38

Представительство

Русбиолинк в Пушчине:
ООО "Окабиолаб",
тел. (4967) 33-06-09, (495) 502-59-93

Mir Biotech s.r.o.

ul. Josefa Knihy, 33701
Rokycany, Czech Republic
www.mirbiotech.com
info@mirbiotech.com
tel +420 377221936
fax +420 227077285

Или на нашем web-сайте:

www.rusbiolink.com

Компания «РУСБИОЛИНК» предлагает свои услуги научно-исследовательским лабораториям, специализирующимся в области биохимии, молекулярной и клеточной биологии и научно-производственным биотехнологическим фирмам:

- поставку реактивов, расходных материалов и оборудования,
- консультации,
- помощь в реализации Ваших продуктов и услуг.

Реагенты для общелабораторного использования:

- постоянно расширяющийся ассортимент качественных реагентов по каталогу;
- под заказ – продукция по каталогам Applichem, Santa Cruz и других фирм;

Реагенты для молекулярной биологии:

- По каталогу – реагенты производства Медиген (ферменты, маркеры молекулярного веса, dNTP, протеиназа K); TRI-реагент (MRC), реагент RNALater (Ambion); наборы для выделения ДНК и РНК (Zymo Res.), никелевая агароза (Biontex);
- Под заказ – продукция Zymo Research, Takara/Clontech, Lucigen, Epicentre, Roche, Ambion, New England Biolabs, USB и др.

Антитела и реагенты для иммунологии:

- По каталогу – конъюгаты вторичных антител;
- Под заказ – продукция Santa Cruz Biotechnology, LSBio (LifeSpan), BioLegend, R&D Systems, Biovendor, Vector Labs, BioLegend, Jackson ImmunoResearch и многих других производителей. Подбор антител, оптимизация заказов, техническая поддержка.

Реагенты и пластик для клеточной биологии:

- Наиболее популярные среды, сыворотки и реагенты (Биолот, HyClone), реагенты для трансфекции (Biontex, Mirus Bio) по каталогу;
- Среда, сыворотки и другие реактивы под заказ (ScienCell, HyClone и др.). Культуральный пластик от Corning Costar, Nest Biotechnology, Orange Scientific.

Цитокины от Peprotech, R&D Systems.

Ферменты от Biozym, Worthington, Calzyme и др.

Субстраты и ингибиторы от Calbiochem, Tocris, Enzo Life Sciences (Biomol) и др.

Липиды от Avanti Polar Lipids.

Для исследований signal transduction – продукция компании Cell Signalling и др.

Реагенты и расходные материалы для электронной микроскопии от Electron Microscopy Sciences. **Реактивы для пептидного синтеза** от Iris Biotech, Merck и Bachem.

Синтетические пептиды от Anaspec и Merck.

Расходные материалы и лабораторное оборудование:

- Недорогое, современное и качественное оборудование китайских (Dragon Lab, Bante, Scopetech) и западных (Bioer, Exacta Optech) фирм, сделанное в КНР.
- Общелабораторный и культуральный пластик (Axygen, Orange Scientific, Corning Costar), расходные материалы для фильтрации и диализа – по каталогу.
- Под заказ – продукция «лабораторных гипермаркетов» из США (Thermo Fisher Scientific, VWR).
- Пластик Corning Costar по специальным ценам под заказ.
- Лабораторное оборудование Bio-Rad, Biosan
- Поставки под заказ продукции фирм, не имеющих представительство в России.

Контрактные работы: синтез пептидов, получение антител, иммуноконъюгатов и иммуносорбентов, разработка высокочувствительных ИФА наборов, геномная и белковая инженерия, клеточная биология, биоаналитика.

Другие услуги:

- консультации по нашему профилю (снабжение биологических лабораторий) и от наших партнеров – специалистов в разных областях науки и технологии;
- содействие в импорте и экспорте;
- реализация Вашей продукции в Европе и по всему миру через партнерскую фирму MirBiotech (Чешская республика);
- помощь в поиске партнеров для выполнения Ваших научных и технологических разработок.



группа компаний

ГРУППА КОМПАНИЙ «БИОЛАЙН»

197101, Россия, Санкт-Петербург
Петроградская наб., 36А
тел. (812) 320 49 49,
факс: (812) 320 49 40
e-mail: main@bioline.ru
www.bioline.ru

Профиль компании - комплексное оснащение, технический сервис, обучение и консультативная поддержка лабораторий различного профиля.

НАША ПРОДУКЦИЯ: Весь комплекс общелабораторного, медицинского и диагностического оборудования от ведущих мировых производителей.

Приборы и реагенты для проточной цитометрии **BD Biosciences** для клинических и научных исследований

Гистологическое оборудование, микроскопы, реагенты и расходные материалы

Leica Microsystems

- Ламинарно-поточные шкафы **Kojair**
- Автоклавы и средоварки **Systec**
- Лабораторные инкубаторы, сухожаровые шкафы и CO2 инкубаторы **Shellab**
- Анаэробная станция **Bactron**
- Универсальные лабораторные центрифуги **Hermle**
- Низкотемпературные морозильники **Snijders**
- Приборы для работы в микропланшетном формате производства **BioTek Instruments Inc.**

НАШИ ПОЛЬЗОВАТЕЛИ:

Более 1000 клинических и научных центров по всей России.

Клинические и научные лаборатории различного профиля. Ведущие профильные учреждения по всей стране: Российский Онкологический центр им. Н.Н. Блохина РАМН, ГНЦ Институт иммунологии ФМБА, Гематологический научный центр, НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Институт клинической иммунологии СО РАН, НИИ Акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта, МГУ, СПбГУ и многие другие.

НАШИ РЕСУРСЫ:

Опытные специалисты с многолетним практическим опытом

Квалифицированная сервисная служба

Собственная служба логистики.

НАШ ОПЫТ:

Поставки оборудования и реагентов в клинические и исследовательские лаборатории с 2000 года

Поставки оборудования и реагентов в рамках национальных проектов Министерства здравоохранения РФ

Поставки в рамках международных программ Всемирного банка и Глобального фонда по борьбе с ВИЧ/СПИД и туберкулезом в России и Украине.

**IV СЪЕЗД
БИОФИЗИКОВ РОССИИ**

**СИМПОЗИУМ III
«ФИЗИКА –
МЕДИЦИНЕ И ЭКОЛОГИИ»**

МАТЕРИАЛЫ ДОКЛАДОВ

Дизайн, техническое редактирование, вёрстка:
Февральских А.В.
Поль Маник

Качество визуального воспроизведения соответствует качеству предоставленных материалов