

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
**ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНО-КЛИНИЧЕСКИЙ ЦЕНТР**  
**ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ**  
ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА



**НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ  
МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ  
ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ  
ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА**



**ПРОГРАММА  
И  
НАУЧНЫЕ ТРУДЫ**

**МОСКВА**  
**19–20 апреля 2016**

УДК 577.3:61; 541.1:61

ББК 28.7

П78

# ПРОГРАММА И НАУЧНЫЕ ТРУДЫ

Научной конференции молодых ученых  
по медицинской биологии

ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА

*(под редакцией Е.Н. Ильиной, Е.С. Кострюковой)*

**Программа и научные труды Научной конференции молодых ученых по медицинской биологии ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА / Под ред. Е.Н. Ильиной, Е.С. Кострюковой. — М.: ФНКЦ ФХМ ФМБА России, 2016. — 172 с. — ISBN 978-5-9908117-0-6.**

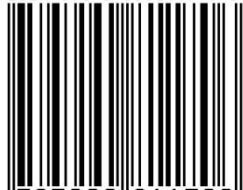
---

Сборник научных трудов включает материалы устных и стендовых докладов, представленных на Научной конференции молодых ученых по медицинской биологии ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА (19–20 апреля 2016). Труды сборника посвящены медико-биологическим проблемам тканевой инженерии, клеточной биологии, генетики человека и микроорганизмов, постгеномных методов диагностики и клинической медицины, которые в совокупности составляют подход персонализированной медицины.

Книга рассчитана на специалистов, работающих в разных областях биомедицинских наук, студентов, аспирантов, преподавателей и научных работников.

---

ISBN 978-5-9908117-0-6



9 785990 811706 >

ISBN 978-5-9908117-0-6

УДК 577.3:61; 541.1:61  
©ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА, 2016



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016



Ежегодная конференция молодых ученых, проводившаяся на протяжении многих лет в НИИ физико-химической медицины, традиционно собирала молодых исследователей, чьи научные интересы лежали в совершенно разных плоскостях биохимии и биофизики, молекулярной биологии и биоинформатики, геномики и молекулярной медицины. Но если в предыдущие годы в ее работе принимали участие исключительно молодые ученые и специалисты самого института, то в этом году организаторы решили вывести конференцию на новый уровень и прове-

сти ее в открытом формате, привлекая молодых ученых, аспирантов, студентов из самых разных научных и образовательных учреждений, которым интересна медицинская биология во всем ее многообразии.

В прошедшем году наш институт претерпел серьезную реорганизацию. На базе НИИ ФХМ и Клинической больницы № 123 был создан Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины ФМБА. На первый план выходят задачи трансляции фундаментальных достижений геномики, протеомики и метаболомики в клиническую практику, превращение современных технологий в неотъемлемую составляющую современной медицины. Создается новая медицинская платформа, которая призвана обеспечить использование полученных фундаментальных знаний для надежной профилактики здоровья каждого человека.

Организаторы получили более 80 заявок на участие из научно-исследовательских институтов и университетов Москвы, Санкт-Петербурга, Казани, Новосибирска и других городов, что свидетельствует об интересе молодых исследователей и врачей к нашей конференции. Заявки на доклады пришли и от уже состоявшихся ученых – кандидатов наук, и от студентов, и от практических врачей. Программа рассчитана на два дня и включает устные доклады и стендовые сообщения. Участники получают возможность не только рассказать о результатах собственных исследований, но и узнать много нового о последних достижениях в смежных



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

*19–20 апреля 2016*

областях науки, а также найти заинтересованных партнеров для выполнения комплексных проектов.

Конференция должна стать хорошей школой для молодых исследователей. Организаторы постарались соединить их энергию и энтузиазм с опытом и мудростью зрелых ученых. Каждый из двух дней работы начнется с лекций ведущих специалистов нашей страны, посвященных самым актуальным проблемам медицинской биологии. С докладами выступят академик РАН Ю.А. Владимирова, член-корреспондент РАН С.М. Деев, профессор РАН М.А. Лагарькова и профессор Е.Н. Николаев.

Желаю всем участникам интересной и плодотворной работы.

***В.М. ГОВОРУН***

Генеральный директор

ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины

член-корреспондент РАН



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## НАУЧНАЯ ПРОГРАММА

### 19 АПРЕЛЯ

9.30–10.00 **Вадим Маркович ГОВОРУН**, Генеральный директор ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА, член-корреспондент РАН  
Вступительное слово

**Председатель: В.И. СЕРГИЕНКО**

10.00–11.00 **Юрий Андреевич ВЛАДИМИРОВ**  
Оксидативный стресс и апоптоз

11.00–12.00 **Евгений Николаевич НИКОЛАЕВ**  
Масс-спектрометрия ультравысокого разрешения и ее применение для анализа сложных химических и биохимических смесей и идентификации многоатомных соединений. О современной биологической и не биологической масс-спектрометрии

12.00–12.20 **ПЕРЕРЫВ**

**Председатель: В.И. СЕРГИЕНКО**

12.20–12.40 **И.М. Щербаков, И.А. Кузькин**  
Моделирование свойств динамического фиксатора в процессе консолидации переломов бедренной кости.

12.40–13.00 **А.В. Смоляков, И.А. Алтухов, О.В. Побегуц, И.О. Бутенко, И.В. Кубланов, Д.Г. Алексеев**  
Белковый профиль *Melioribacter roseus* в аэробных и анаэробных условиях

13.00–13.20 **П.А. Бобровский, А.К. Ларин, Н.Ф. Полина**  
Транскриптомный анализ клеток HeLa – продуцентов рекомбинантного PGLYRP1, зараженных *Chlamydia trachomatis*

13.20–13.40 **К.Г. Ткаченко, А.Д. Эрлих**  
Лечение и отдалённые исходы острого коронарного синдрома, сочетающегося с фибрилляцией предсердий у пациентов, госпитализированных в «неинвазивный» стационар

13.40–14.00 **М.В. Розанова**  
Коррекция цитолитического синдрома травматической болезни печени гипохлоритом натрия



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

14.00–15.00

## ПОСТЕРНАЯ СЕССИЯ

Модераторы: Е.С. КОСТРЮКОВА, А.В. ТЯХТ

**Д.Ю. Акопов**

Предпротезная одномоментная хирургия полости рта

**Е.А. Баранова**

Возможности методов МРТ и КТ в диагностике менингиом

**О.И. Бровкина, М.Г. Гордиев, Д.Д. Сакаева, Р.Ф. Еникеев, О.А. Гусев, Д.С. Ходырев,**

**А.Г. Никитин**

Сравнительный анализ ПЦР «в реальном времени» и цифровой ПЦР для определения статуса мутаций гена *EGFR* в плазме пациентов с немелкоклеточным раком легкого

**Г.М. Бутрович, Е.Д. Мирлина, И.Г. Хабарова, О.А. Вострюхина**

Неинвазивная ПЦР-диагностика колоректального рака

**А.А. Валялин**

Хирургическая тактика при остром деструктивном панкреатите

**Д.А. Васина, Д.Д. Жданов, Н.Н. Соколов, В.С. Орлова**

Индукцированное цисплатином ингибирование теломеразы приводит к злокачественной трансформации CD4<sup>+</sup> Т лимфоцитов

**И.В. Войнова, В.А. Костевич, А.Ю. Власенко, А.В. Соколов**

Зависимость активности участников метаболизма железа, церулоплазмينا и трансферрина от уровня гликированного гемоглобина HbA1c

**О.В. Тюмина, С.Е. Волчков, П.А. Овчинников, А.И. Горина**

Культирование мультипотентных мезенхимально-стромальных клеток для клинического применения. Проблемы

**И.А. Демченко**

Роль и место современных информационных технологий в улучшении качества гемодиализа

**Д.С. Калинина, М.А. Черныш**

Влияние пентилентетразолового киндлинга на электрическую активность неокортекса крыс, перенесших пренатальную гипоксию

**Г.П. Кобрицов, А.О. Рагозин**

Опыт хирургического лечения переломов дистального отдела лучевой кости

**В.А. Костевич, А.В. Соколов**

АПО-форма лактоферрина вызывает стабилизацию гипоксия-индуцибельных факторов-1/2 альфа и NRF2

**Е.В. Круглова, В.А. Патрикеев, В.А. Ведин, Ю.Н. Хомяков**

Оценка перспективности применения имплантатов с покрытием из нитридов титана и гафния для травматологии и ортопедии

**С.А. Крынский, Д.П. Огурцов**

Уровень вирусной нагрузки и ряда провоспалительных цитокинов при миалгическом энцефаломиелите и болезни Альцгеймера



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

**В.В. Кузнецова, С.В. Кулемзин, А.А. Горчаков, А.В. Таранин**

Создание химерных антигенных рецепторов с антигенраспознающим модулем на основе 10-го домена III типа фибронектина человека

**Н.А. Кулемин, К.А. Бабалян, Э.В. Генерозов**

Адаптация алгоритмов поиска полиморфизмов к результатам ионного полупроводникового секвенирования

**Л.Г. Леонова**

Сравнительная характеристика спаечного процесса (спаечной болезни) органов малого таза, органов брюшной полости методами лучевой диагностики

**Д.И. Максимов**

Опыт хирургического лечения больных с ранами грудной клетки и остеомиелитом грудины после стернотомии

**Э.Р. Мингазов**

Компенсаторные процессы в нигростриатной системе у мышей при моделировании доклинической и ранней клинической стадий болезни Паркинсона

**В.Е. Одинцова, А.В. Тяхт, Д.Г. Алексеев**

Особенности статистической обработки данных метагеномного секвенирования в среде R

**Д.Д. Онищенко, О.А. Степанов**

Значимость цензурированных наблюдений при анализе безрецидивной выживаемости в клинических испытаниях онкологических фармпрепаратов

**В.В. Павшинцев, Н.А. Митькин, М.Л. Ловать**

Влияние интраназального введения 4-метилпиразола в низких дозах на биохимические параметры головного мозга и потребление 15% этанола у хронически алкоголизированных крыс Wistar

**А.Р. Рахматуллина, Р.Р. Мифтахова, Р.Н. Мингалеева, А.А. Ризванов**

Гены плюрипотентности в определении свойств опухолевых стволовых клеток карциномы молочной железы человека

**Е.А. Сотникова, Е.А. Шитиков, М.В. Малахова, Е.С. Кострюкова, Е.Н. Ильина**

Изучение стабильности *Mycobacterium bovis* BCG-1 (Russia) методами сравнительной геномики

**А. Тураев, М. Танкевич, А. Аралов, А. Варижук**

Новые бензотиазольные лиганды для визуализации неканонических структур ДНК



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## 19 АПРЕЛЯ

**Председатель: Е.С. КОСТРЮКОВА**

- 15.00–15.20 **М.В. Замахаев, А.В. Гончаренко, М.С. Шумков**  
Роль токсин-антитоксинальных систем в формировании фенотипической устойчивости *Mycobacterium smegmatis* к тетрациклину
- 15.20–15.40 **И.Л. Аكوпова**  
Современные подходы к терапии миомы матки
- 15.40–16.00 **О.А. Меженская, О.В. Музычка, А.И. Вовк, В.И. Буник, Ю.М. Пархоменко**  
Биоспецифичность связывания протеинов с тиаминном как лигандом аффинного сорбента
- 16.00–16.20 **Д.Р. Хуснутдинова, Т.В. Григорьева, С.Р. Абдулхаков, Д.Д. Сафина, Е.А. Булыгина, С.Ю. Маланин, М.Н. Синягина, М.И. Маркелова, Р.А. Абдулхаков, В.М. Чернов**  
Метагеномный анализ и интегральные показатели изменений кишечной микрофлоры на фоне эрадикации *Helicobacter pylori*
- 16.20–16.40 **Е.Ю. Лакша**  
Возможности верификации очаговых изменений предстательной железы неопластического характера, визуализируемых с применением метода магнитно-резонансной томографии
- 16.40–17.00 **ПЕРЕРЫВ**

**Председатель: А.В. ТЯХТ**

- 17.00–17.20 **Д.В. Евсютина, О.В. Побегуц, В.А. Манувера, Г.Ю. Фисунов**  
Экспериментальные подходы к изучению факторов регуляции транскрипции у *Mycoplasma gallisepticum*
- 17.20–17.40 **П.В. Павлович, Г.П. Арапиди, О.М. Иванова, Ф.В. Капранов, В.М. Говорун**  
LC-MS/MS идентификация в сыворотке крови человека пептидных фрагментов, транслированных с lncRNA
- 17.40–18.00 **В.В. Бриллиантова, В.О. Бобрынина, А.В. Поляков, М.А. Масчан, Л.Н. Шеховцова, Д.Н. Балашов, П.Е. Трахтман, Е.Е. Курникова**  
Оценка химеризма в CD3<sup>+</sup> клеточной линии у пациентов с острым миелобластным лейкозом после аллогенной ТГСК с TCR α/β деплецией
- 18.00–18.20 **Е.Р. Павлова, Д.В. Багров, Д.В. Клинов, А.П. Бонарцев, И.И. Жаркова**  
Формирование наноструктурированных матриц методом электроспиннинга
- 18.20–18.40 **Г.А. Пузанов, А.А. Дмитриев, Г.С. Краснов, С.В. Куревлев, А.Д. Бениаминов, В.Н. Сенченко**  
Оверэкспрессия микроРНК семейства miR-183-96-182 способна приводить к одновременной инактивации потенциальных супрессоров опухолевого роста, фосфатаз CTDSPL1/2, при немелкоклеточном раке лёгкого
- 18.40–19.00 **А. Никитина, Е. Шарова, С. Даниленко, Т. Бутусова, К. Бабалян, К. Ануфриева, Е. Кострюкова**  
Применение метода RNA-seq для анализа экспрессионных профилей фиксированных в формалине парафинированных тканей, полученных от пациентов с раком предстательной железы





# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## 20 АПРЕЛЯ

**Председатель: Е.Н. ИЛЬИНА**

10.00–11.00 **Мария Андреевна ЛАГАРЬКОВА**  
Эпигенетика плюрипотентности

11.00–12.00 **Сергей Михайлович ДЕЕВ**  
Что такое тераностика?

12.00–12.20 **ПЕРЕРЫВ**

**Председатель: Е.Н. ИЛЬИНА**

12.20–12.40 **Р.Б. Городничев, Д.В. Ракитина, П.Л. Щербаков, Ю.П. Бойкова, Е.Н. Ильина**  
Адгезия, инвазия и биопленкообразования клинических изолятов *E. coli*, выделенных от пациентов с болезнью Крона

12.40–13.00 **В.В. Шашкова, И.А. Пышная**  
Конструирование биодоступных ассоциатов на основе наночастиц золота

13.00–13.20 **М. Власенок**  
Сравнительный анализ свойств перфектных и имперфектных G4

13.20–13.40 **Е. Исаакова**  
Эпигенетические детерминанты онкологических заболеваний: прояснение роли метилирования CpG в неканонических структурах

13.40–14.00 **А.С. Курдюмов, В.В. Бабенко, В.А. Манувера**  
Исследование уровня транскрипции генов, кодирующих основные компоненты секрета слюнных желёз медицинской пиявки



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

14.00-15.00

## ПОСТЕРНАЯ СЕССИЯ

Модераторы: А.М. ВАРИЖУК, М.А. ЛАГАРЬКОВА

**Д.И. Болдырева, В.В. Бабенко**

Структура микробного сообщества озера Трехцветное

**О.Н. Букато, Д.С. Матюшкина, Д.В. Ракитина, О.В. Побегуц, Ю.П. Байкова, В.Г. Ладыгина, В.М. Говорун**

Определение белков патогенности штаммов *EScherichia coli*, выделенных у пациентов с Болезнью Крона

**М.Т. Вахитова, В.В. Бабенко**

Определение состава бактериальных сообществ, населяющих различные отделы пищеварительной системы медицинской пиявки, методом анализа вариабельности гена 16S рРНК

**А.В. Крючкова, Н.А. Логинова, О.В. Белова, А.Н. Иноземцев, И.В. Зимина, Т.А. Луканидина, С.Н. Москвина**

Сравнительное влияние трех иммуноактивных веществ на экспрессию гена *c-fos* в ряде структур мозга крыс

**Н.А. Лычева, И.И. Шахматов**

Состояние системы гемостаза и микроциркуляторного русла в постгипотермическом периоде у крыс

**С.А. Мартиросова**

Иммедиат-протезирование как предпротезная подготовка полости рта

**Ф.Б. Мирзаев**

Клинические и тактические аспекты заместительной терапии острой дыхательной недостаточности

**М.А. Наумова**

Гистохимическое выявление сосудистых повреждений органов мышей стока CD-1 на фоне низкого уровня MAO A

**М.В. Розанова**

Особенности проявления цитолитического синдрома печени при травматической болезни

**А.Н. Самойлова**

Клиническая структура факторов риска ишемического инсульта

**В.В. Сафандеев, А.А. Колачева**

Хронические модели доклинической и ранней клинической стадий болезни Паркинсона на мышах

**А.Б. Сейфединова**

Трудности диагностики церебральных артериовенозных мальформаций в условиях поликлиники

**Д.И. Сидоров**

Изучение конформации ДНК с помощью спектроскопии комбинационного рассеяния



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

**О.И. Смелкова, А.П. Марков, Г.И. Алешкин**

Лизогенизация *Escherichia coli* онДНК бактериофагами Iφ7 и φX174: интеграционно-репликативный механизм процесса, изменяющего биологические свойства бактерий

**Е.О. Смирнова, Я.Ю. Топоркова, С.С. Горина, Ю.В. Гоголев, А.Н. Гречкин**

Новый взгляд на эволюцию цитохромов P450

**А.В. Соколов, В.А. Костевич, С.О. Козлов**

Комплексы белков нейтрофилов и медиаторов воспаления с церулоплазмином

**Г.И. Фахруллина, Ф.С. Ахатова, Э.И. Гаязова, Р.Ф. Фахруллин**

Визуализация наночастиц в организме почвенных нематод *Caenorhabditis elegans*

**Д.С. Ходырев<sup>1</sup>, О.И. Бровкина<sup>1</sup>, М.Г. Гордиев<sup>2</sup>, Н.Н. Летуновский, А.Г. Никитин<sup>1</sup>,  
А.В. Аверьянов<sup>1</sup>**

Анализ метилирования генов *SHOX2*, *RASSF1*, *DAPK1*, *GSTP1*, *RARBeta*, *TGFBR1* и *mir-375* при различных онкопатологиях легких

**Ю.Д. Шакирова, Р.Ю. Галимзянова**

Разработка пластыря медицинского назначения, используемого для ускоренного заживления кожных гематом и ушибов

**Е.С. Шубина, Е.С. Акулов**

Влияние коморбидной патологии на развитие осложнений при пневмонии

**А.Д. Щербицкая**

Исследование влияния пренатальной гипоксии на содержание катехоламинов в надпочечниках и сыворотке крови крыс

**А.В. Юдин**

Хирургическое лечение пациентов с переломами проксимального отдела бедренной кости

**Т. Яковлева, К. Жуденков, В. Соколов**

Исследование механизмов почечной реабсорбции глюкозы и оценка эффективности терапии ингибиторами натрий-глюкозного котранспортера 2 типа (SGLT2) методами математического моделирования

**И.Д. Клабуков, Т.Г. Дюжева, А.В. Люндуп, Т.Х. Тенчурин, А.Д. Шепелев,**

**В.Г. Мамагулашвили, С.Н. Чвалун**

Влияние физико-химических и механорецепторных свойств полимерных материалов на параметры синтетических матриц для тканевой инженерии



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## 20 АПРЕЛЯ

**Председатель: М.А. ЛАГАРЬКОВА**

- 15.00–15.20 **Е.К. Бессолицына, Я.Ю. Топоркова, Е.А. Ермакова**  
Теоретически рассчитанная пространственная модель мини-фермента, моделирующего каталитический центр представителя цитохромов P450
- 15.20–15.40 **В. Алешин, О. Меженская, Т. Кэне, Ю. Пархоменко, В. Буник**  
Аффинная хроматография и масс-спектрометрия для идентификации тиамин (витамин B<sub>1</sub>)-зависимых фосфатаз мозга
- 15.40–16.00 **Т.И. Шашкова, О.Е. Глущенко, Д.С. Ищенко, А.И. Манолов, Д.Г. Алексеев**  
Сравнение уровня представленности мРНК и белков штаммов *Helicobacter pylori* 26695, J99, A45 и трех изогенных мутантов штамма A45 по генам метилаз.
- 16.00–16.20 **И.А. Гаранина, Г.Ю. Фисунов, Д.В. Евсютина, В.М. Говорун**  
Организация промотеров у молликут
- 16.20–16.40 **А.Ю. Гришин, К.А. Бабалян, Г.П. Арапиди, Э.В. Генерозов, В.М. Говорун**  
Разработка алгоритма повышения специфичности поиска инделов по данным экзомного секвенирования с платформы Ion Proton
- 16.40–17.00 **ПЕРЕРЫВ**

**Председатель: А.М. ВАРИЖУК**

- 17.00–17.20 **Т. Кекеева, А. Танас, А. Каныгина, Д. Алексеев, А. Шикеева, Л. Завалишина, Ю. Андреева, Г. Франк, Д. Залетаев**  
Идентификация химерных транскриптов при раке мочевого пузыря на основании данных РНК-секвенирования
- 17.20–17.40 **К.А. Бабалян, А.Ю. Гришин, Г.П. Арапиди, Э.В. Генерозов**  
Анализ популяционной дифференциации по данным 200 человеческих экзомов
- 17.40–18.00 **И.Д. Шайбакова, Д.В. Клинов**  
Получение и исследование свойств флуоресцирующих нанокластеров серебра, координированных с бычьим сывороточным альбумином
- 18.00–18.20 **А.Х. Сабиров, С.А. Кошкин, М.В. Пугачёв, А.Г. Иксанова, Ю.Г. Штырлин**  
Динамика метаболического репрофилирования клеток рака молочной железы человека mcf-7 соединением as-8



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## ПРЕДПРОТЕЗНАЯ ОДНОМОМЕНТНАЯ ХИРУРГИЯ ПОЛОСТИ РТА

Д.Ю. Акопов

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Стоматологическое отделение КБ № 123*

**Актуальность проблемы.** Актуальность проблемы заключается в восстановлении функции жевания после удаления зубов. После экстракции зубов из зубной альвеолы происходит изменение рельефа альвеолярного отростка. Эти изменения затрудняют зубное протезирование, ухудшают условия для использования внутрикостных имплантатов. Решений данной проблемы возможно с помощью использования современных остеопластических материалов, стимулирующих остеогенез; непосредственное протезирование после удаления зубов имедиат-протезами [1, 3].

Несоответствие базиса протеза и тканей протезного ложа после ОМУЗ наступает в сроки 1,5–6 мес, что требует коррекции ИП до периода изготовления окончательного протезирования [1, 4].

Ряд авторов [1–4] отмечают положительные моменты применения ИП в послеоперационном периоде: ИП изолирует операционную рану и препятствует ее инфицированию; под ИП происходит направленное формирование альвеолярного отростка; ИП благоприятно влияет на результаты последующего протезирования; ИП предохраняет оставшиеся зубы от функциональной перегрузки; предупреждаются деформации зубных рядов и нарушения функции ВНЧС.

**Материалы и методы исследования.** Обследованы 51 пациент, которым было выполнено одномоментное множественное удаление зубов. Среди пациентов было 20 мужчин и 31 женщина. I группу составили 32 человек (13 мужчин и 19 женщин) в возрасте от 41 до 50 лет, которым было выполнено одномоментное множественное удаление зубов без первичной костной пластики в сочетании с имедиат-протезированием. II группа состояла из 19 больных (7 мужчины и 12 женщин) в возрасте от 41 до 50 лет, которым было выполнено ОМУЗ и применены резорбируемые мембраны и биоматериалы для первичной костной пластики. Клиническое обследование пациентов I, II групп включало: сбор анамнеза, осмотр лица, осмотр и оценку состояния зубов и зубных рядов.

**Результаты исследования.** При осмотре протезного ложа через 14 сут у больных I группы (9 чел) определялись признаки воспаления десны, наличие на поверхности альвеолярного отростка грануляций и эрозий, рельеф поверхности альвеолярного отростка был бугристым. В этот срок у всех больных II (19 чел) группы лунки были полностью эпителизированы, поверхность альвеолярного отростка была гладкой, умеренно выраженный гингивит определялся только в области опорных зубов. Через 30 дней у больных I, II групп определялась эпителизация лунок. Однако если во II группе формировалась гладкая поверхность альвеолярного отростка под протезом, то в I группе пальпаторно определялись выступающие межзубные перегородки и еще сохранялись небольшие углубления в области бывших лунок. Через 90 дней у пациентов I группы по альвеолярному краю сохранялись углубления 3–3,5 мм, в то время как во II группе поверхность альвеолярного отростка была



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

ровной, хотя и располагалась на 1,2–1,5 мм ниже анатомических шеек рядом стоящих зубов. Для контроля регенерации было проведено рентгенологическое исследование альвеолярных отростков у 19 пациентов II группы, и у 32 – I группы. При визуальной оценке учитывали степень заполнения лунок костной тканью через 180 дней после удаления зубов, рентгенологически костная ткань в области ОМУЗ у больных II группы не отличалась от других отделов альвеолярного отростка. У больных I группы губчатая кость в области операции имела менее плотный трабекулярный рисунок.

**Заключение.** Таким образом, сравнительная оценка результатов клинических и рентгенологических методов обследования больных I, II групп свидетельствует о преимуществе метода первичной костной пластики остеопластическими материалами на основе ГАП с использованием резорбируемых мембран и применением ИП.

### Список литературы

1. Буланников А.С. Комплексное хирургическое и ортопедическое реконструирование альвеолярного отростка челюсти при одномоментном множественном удалении зубов. М.: Медицина 2004. -97 с.
2. Верлоцкий А.Е. Удаление зубов и заживление экстракционной раны – М.: Медицина, 1950. – 279 с.
3. Гаврилов Е.И. Деформации зубных рядов М.: Медицина, 1984. – 96 с.
4. Робустова Т.Г. Хирургическая стоматология М.: Медицина, 2000. -668 с.



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ТЕРАПИИ МИОМЫ МАТКИ

И.Л. Акопова

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Отделение гинекологии КБ № 123*

**Актуальность.** Поиск эффективных и щадящих методов лечения миомы матки у женщин с целью сохранения репродуктивной функции продолжает оставаться актуальной проблемой современной гинекологии [6]. Миому матки диагностируют у 77% женщин репродуктивного возраста [1]. Наиболее частой причиной хирургических вмешательств в гинекологической практике продолжает оставаться миома матки, составляя около 80% плановых операций [1]. В последние годы внимание исследователей направлено на разработку комплексного лечения миомы матки, основными методами которого являются малоинвазивные, органосохраняющие операции в сочетании с гормональной терапией [3, 7].

Цель исследования: сравнительный анализ эффективности и безопасности применения улипристала ацетата сравнительно с агонистами гонадотропных рилизинг-гормонов при лечении миомы матки у пациенток репродуктивного возраста.

**Материал и методы.** Проведено обследование и лечение 61 пациентки репродуктивного возраста с миомой матки. Для проведения лечения больные репродуктивного возраста с миомой матки были распределены на две группы: терапия Улипристала ацетатом (УПА) проведена 31 пациентке, терапия агонистами гонадотропных рилизинг-гормонов (аГнРГ) проведена 30 пациенткам. Динамическое наблюдение осуществляли в течение 6 и 12 месяцев. Для оценки эффективности лечения пациенткам проводили повторные клиничко-лабораторные исследования и выполняли контрольные УЗИ органов малого таза и аспирационную биопсию эндометрия через 3, 6 и 12 месяцев от начала лечения.

Материал подвергнут статистическому анализу по программе Statistica.

**Результаты.** Проведенное исследование показало, что при назначении улипристала ацетата сравнительно с применением агонистов гонадотропных рилизинг-гормонов установлен более быстрый, устойчивый и продолжительный лечебный эффект при терапии маточных кровотечений. Длительный прием УПА способствовал достоверному уменьшению размеров узлов миомы на период до 6 месяцев после прекращения лечения. При терапии УПА сравнительно с агонистами гонадотропных рилизинг-гормонов установлено более раннее купирование болевой симптоматики, улучшение качества жизни пациенток по результатам анкетирования. В ходе операции после лечения улипристала ацетатом лучше обзор [5], вследствие уменьшения кровотечения. При энуклеации миоматозных узлов после предоперационной терапии УПА отсутствовали трудности с определением плоскости вылушивания миоматозных узлов [2], т. к. капсула оставалась интактной, в сравнении с выделением миомы после аГнРГ. Анализ результатов показал, что курсовой прием УПА создает условия для проведения органосохраняющих операций, так как у больных перед операцией уменьшилось обильное маточное кровотечение, размеры миоматозных узлов и объем матки, выраженность боли, отмечено улучшение качества жизни. Применение УПА



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

при лечении анемии также более эффективно сравнительно с агонистами гонадотропных релизинг-гормонов.

**Заключение.** Анализ результатов исследования показал, что применение УПА для лечения миомы матки у больных репродуктивного возраста более эффективно в сравнении с агонистами гонадотропных релизинг-гормонов [2]. Применение УПА оптимизирует условия для проведения органосохраняющих операций и сохранения репродуктивного здоровья пациентов [3].

### Список литературы

1. Адамян Л.В. и др. Миома матки: диагностика, лечение и реабилитация. Клинические рекомендации по ведению больных. Под ред. Л.В. Адамян (проект). Москва, 2015.- 95с.
2. Зайратьянц О.В. Улипристала ацетат: механизмы редукции лейомиомы матки и морфологии обратимых доброкачественных изменений эндометрия//Матер. XXVIII Международ. Конгресса с курсом эндоскопии «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний». – Москва, 2015.
3. Козаченко А.В., Урумова Л.Т., Ревазова З.В. Альтернативные подходы к лекарственной терапии миомы матки. //Матер. XXVII Международ. Конгресса с курсом эндоскопии «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний». – Москва, 2014.
4. Коренная В.В., Подзолкова Н.М. Улипристала ацетат в лечении миомы матки //Матер. XXVIII Международ. Конгресса с курсом эндоскопии «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний». – Москва, 2015.
5. Тихомиров А.Л. Алгоритм консервативного лечения миомы матки //Гинекология. – 2013.- Т.15.-№5.- С.92-94.
6. Ardaens-Boulier K, Réalités en gynécologie-obstétrique Mars 2011; 152:1-6.
7. Donnez J, et al. N Engl J Med 2012;366:409–420 (PEARL I)





# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## АФФИННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ И МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ТИАМИН (ВИТАМИН В<sub>1</sub>)-ЗАВИСИМЫХ ФОСФАТАЗ МОЗГА

В. Алешин, О. Меженская, Т. Кэне, Ю. Пархоменко, В. Буник

НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ, Отдел биокинетики

Тиамин (витамин В<sub>1</sub>) хорошо известен в качестве предшественника кофермента тиаминдифосфата (ТДФ, кокарбоксилазы). Однако другие функции тиамин и его некоферментных производных в нервной системе не получили широкого признания из-за сложности идентификации мишеней тиамин на молекулярном уровне. Комбинация традиционных биохимических методов и пост-геномных технологий позволяет более успешно идентифицировать такие белки. В недавней работе (Mkrtchyan et al., 2015) для определения тиамин-зависимых белковых комплексов синапсом мозга крысы мы применили масс-спектрометрическую идентификацию белков, элюируемых с аффинных носителей, содержащих тиамин или его специфический фрагмент тиазолий. Результаты работы показали, что тиамин-зависимые пути мозга не ограничиваются метаболизмом, контролируемым ТДФ-зависимыми ферментами. Настоящее исследование фокусируется на идентификации белков, непосредственно взаимодействующих с тиаминной группировкой аффинного носителя и обладающих фосфатазной активностью в отношении фосфорилированных производных тиамин, поскольку такие фосфатазы вовлечены в обезболивающий эффект тиаминных соединений и в сигнальную функцию тиаминтрифосфата. Аффинную хроматографию проводили на носителе с ковалентно пришитым к спэйсеру тиамин. Хроматографии подвергали промытую ацетоном фракцию синапсом мозга быка, обладающую ТДФазной активностью. Масс-спектрометрическую идентификацию белков проводили после трипсинолиза разделенных в ДСН электрофорезе четырех фракций белков – как не связавшихся с аффинным носителем, так и последовательно элюируемых с носителя тиамин, NaCl и мочевиной. Ввиду низкого уровня расшифровки генома быка идентификацию белков проводили с использованием базы данных Swiss-Prot без таксономических ограничений. Условия элюции тиамин варьировали. В первой серии экспериментов элюцию проводили 5 мМ тиамин в растворе Кребса-Рингера, pH 7.4, во второй – 10 мМ тиамин в растворе Кребса-Рингера, pH 5.7. Из идентифицированных белков выбирали белки с фосфатазной активностью, которые отсутствовали в списке не связавшихся с носителем и смывались с носителя тиамин. Таким условиям удовлетворял единственный белок, идентифицированный по 13 специфическим пептидам как Alkaline phosphatase L *Pseudomonas aeruginosa*. Его элюция тиамин при pH 5.7, но не при pH 7.4, может свидетельствовать о прочности связывания с носителем, при которой разрушение комплекса требует не только высокой концентрации тиамин в элюенте, но и частичной денатурации белка. Эта щелочная фосфатаза относится к трудно идентифицируемому в геномах млекопитающих семейству DING. В частности, семейство включает фосфат-связывающий белок человека HPBP (Diemer et al., 2008),



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

который имеет 40% сходства с идентифицированной нами щелочной фосфатазой. Таким образом, масс-спектрометрические данные показали присутствие среди белков мозга быка щелочной фосфатазы из семейства DING, специфически связывающейся с тиамин-содержащим носителем и элюируемой с носителя тиамином. По данным NCBI, семейство DING принадлежит суперсемейству, включающему и бактериальный тиамин-связывающий белок ThiB, причем положения фосфатных групп в трехмерных структурах комплексов ThiB с тиаминмонофосфатом (PDB ID: 2qgy) и HPBP – гомолога определенной нами щелочной фосфатазы – с фосфатом (PDB ID: 2v3q) совпадают. Кроме того, и белки семейства DING человека (Lesner et al., 2009), и фармакологически активный аналог тиамина (Shoji et al., 1998) вовлечены в регуляцию транскрипции и антагонизируют действие HIV-1. Полученные результаты свидетельствуют в пользу идентичности определенной нами в препарате ТДФазы мозга быка тиамин-зависимой щелочной фосфатазы семейства DING и охарактеризованного ранее тиамин-связывающего белка плазматических мембран синаптосом (Пархоменко и др. 2010). Ввиду взаимодействия этого белка с тиаминтрифосфатазой, расположенной на внутриклеточной стороне мембраны, заслуживает внимания также элюируемый тиамином и NaCl бычий гомолог экзополифосфатазы *P. aeruginosa*. Представители данного семейства отщепляют гамма-фосфат гуанозинпентафосфата, обладающего структурным и функциональным (алармон, синтезируемый в ответ на стресс) сходством с тиаминтрифосфатом. Таким образом, масс-спектрометрическая идентификация тиамин-связывающих фосфатаз в препарате ТДФазы мозга быка позволяет предположить, что охарактеризованные ранее синаптосомальные белки с тиамин-связывающей и тиаминтрифосфатазной активностью являются представителями семейства DING и экзополифосфатаз/гуанозинпентафосфатфосфогидролаз, соответственно.

### Список литературы

1. Пархоменко и др. 2010. Укр. биохим. журн. 82(1): 7-14
2. Diemer et al., 2008, Proteins, 71(4):1708-20.
3. Lesner et al., 2009, Biochem Biophys Res Commun, 389(2):284-9.
4. Mkrtchyan et al., 2015, Sci Rep. 5:12583.
5. Shoji et al., 1998, Biochem Biophys Res Commun, 249(3):745-53.



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## ОЦЕНКА РИСКА РАСПРОСТРАНЕНИЯ ГЕНОВ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ В МИКРОБИОМЕ ЧЕЛОВЕКА ОТ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ЛАКТОБАЦИЛЛ

Е.А. Анисимова, Н.Л. Бруслик, Д.Р. Ахатова, Р.К. Исмагилова, А.А. Тойменцева,  
Д.Р. Яруллина

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной  
медицины и биологии, Лаборатория биосинтеза и биоинженерии ферментов*

Лактобациллы тесно ассоциированы с продуктами питания, а также являются членами резидентной микрофлоры желудочно-кишечного тракта человека и животных, они часто находят применение в качестве стартерных культур при производстве пробиотических препаратов. Важное требование к пробиотическим штаммам – устойчивость к антибиотикам. Однако, локализованные на плаزمиде и конъюгативных транспозонах гены антибиотикорезистентности (АР) таких бактерий могут способствовать распространению лекарственной устойчивости внутри кишечной микрофлоры, что противоречит требованиям микробиологической безопасности пробиотиков. Целью данной работы является выявление и характеристика генетических детерминант антибиотикорезистентности у потенциально пробиотических штаммов лактобацилл.

В данной работе из кисломолочных продуктов, пробиотических препаратов и фекалий человека было выделено 34 штамма лактобацилл и методом MALDI TOF масс-спектрометрии установлена их видовая принадлежность. Диско-диффузионным методом была оценена резистентность исследуемых лактобацилл к антибактериальным препаратам девяти различных классов. Обнаружена высокая устойчивость лактобацилл к ципрофлоксацину, ванкомицину и аминогликозидам. У 1 штамма выявлена резистентность к эритромицину (*Erm*) и у 5 штаммов – к тетрациклину (*Tet*). Поскольку гены устойчивости к *Erm* и *Tet* подвержены горизонтальному транспорту, в геномах устойчивых к данным антибиотикам бактерий с помощью секвенирования амплифицированных фрагментов ДНК было проверено наличие 15 генов, кодирующих устойчивость к *Erm* и *Tet*. В результате были обнаружены гены *ermB* и *ermA* в геномной ДНК и ряд генов (*tetM*, *tetK*, *ermA*, *ermC*, *mefA*) – в плазмидной ДНК. У некоторых штаммов, не проявляющих устойчивость к *Erm*, выявлены молчащие гены *ermA*, *ermC* и *mefA*, у одного штамма, выделенного нами из кисломолочных продуктов, обнаружен ген *aph(3')-III*, детерминирующий устойчивость к аминогликозидам. Возможность горизонтального транспорта генов АР от лактобацилл к условно-патогенным бактериям гастроинтестинальной микрофлоры была оценена с помощью трансформации и электропорации чувствительных к *Tet* штаммов *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Citrobacter freundii* геномной и плазмидной ДНК лактобацилл, а также при совместном культивировании бактерий в условиях, имитирующих кишечник человека. При трансформации клеток *C. freundii* плазмидной ДНК *Tet*-резистентных бактерий *L. fermentum* 5-1 была обнаружена возможность передачи генетических детерминант устойчивости к *Tet*. В остальных исследованных вариантах экспериментально горизонтальный транспорт генов АР не



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

зафиксирован. Таким образом, штамм *L. fermentum* 5-1 является непригодным для включения в пробиотические препараты, поскольку может служить источником генов устойчивости к антибиотикам в микробиоме человека. Полученные результаты необходимо учитывать при использовании бактерий рода *Lactobacillus* в пробиотиках и продуктах функционального питания.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### АНАЛИЗ ПОПУЛЯЦИОННОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ПО ДАННЫМ 200 ЧЕЛОВЕЧЕСКИХ ЭКЗОМОВ

К.А. Бабалаян, А.Ю. Гришин, Г.П. Арапиди, Э.В. Генерозов

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Лаборатория молекулярной генетики человека*

**Введение.** Эволюция происходит в результате взаимодействия нескольких основных процессов: мутаций, отбора, миграции, генетического дрейфа и рекомбинаций [1]. Формирование популяций начинается с дивергенции групп индивидов, которые не подвергаются, или подвергаются в много меньшей степени межгрупповому скрещиванию. С точки зрения генетики данный процесс приводит к изменению частоты аллелей внутри гомогенной группы или популяции вследствие генетического дрейфа или адаптации. Новые мутации не распространяются далеко за границы группы, где они появились и зафиксировались [2]. Было показано, что 5–10% генетического разнообразия объясняется различиями между мировыми популяциями [3, 4].

Основной целью исследований популяционной дифференциации является определение полиморфизмов, значимо различающихся между представителями различных групп. В данной работе проведен анализ данных секвенирования двухстах человеческих экзотов представителей двух разных популяций.

**Методы.** Перед началом анализа провели контроль качества отдельных локусов. Для этого идентифицировали мутации с пропорцией отсутствующих генотипов не менее 95%, определили позиции, значительно отходящих от равновесия Харди–Вайнберга и удалили маркеры с частотой минорной аллели менее 1%. В результате данной операции на групповой анализ было направлено чуть более 166 тысяч маркеров.

Далее при помощи метода главных компонент были исключены образцы, которые вносят наибольший шум в генетическое разнообразие своей популяции. Для формирования сокращенного набора независимых локусов было проанализировано неравновесное сцепление с отсечкой коррелированности в 0,2. Такой набор состоял из 50 846 вариантов. В результате были исключены из последующего анализа 8 образцов.

В качестве модели оценки генетической дифференциации был использован индекс фиксации  $F_{st}$ , показавший высокую корреляцию с другими статистиками, и являющийся наиболее интерпретируемым, и наиболее подходящим для исследуемого типа данных в случае двух популяций.

**Результаты.** В работе были сформулированы и проведены основные шаги анализа в применении к нахождению локусов, значимо различающиеся между популяциями, такие как очистка данных, выявление выпадающих образцов, выбор метода оценки генетической дифференциации и метода оценки ее значимости. В результате выполненного анализа были определены 800 полиморфизмов, часть из которых имеют известную фенотипическую и/или клиническую интерпретацию, а причины фиксации других в рассматриваемых популяциях еще предстоит исследовать.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

*19–20 апреля 2016*

**Выводы.** Современные подходы к анализу популяционного дифференцирования требуют специальной подготовки исходных данных, исходя из особенностей конкретных образцов в частности и популяций в целом. Выбор статистических методов исследования должен проводиться с учетом заложенных в них модельных предположений и ограничений.

### **Список литературы**

1. Whitlock, M. & Bürger, R. Fixation of New Mutations in Small Populations. *Evol. Conserv. Biol.* (2004).
2. Whitlock, M. C. and Phillips, P. C. Drift : Introduction. *eLS.* 1–4 (2001).
3. Rosenberg, N. A. Genetic Structure of Human Populations. *2381*, (2007).
4. Li, J. Z. et al. Patterns of Variation. *25*, 1100–1104 (2008).



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## ВОЗМОЖНОСТИ МЕТОДОВ МРТ И КТ В ДИАГНОСТИКЕ МЕНИНГИОМ

Е.А. Баранова

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Отделение магнитно-резонансной томографии КБ № 123*

**Актуальность работы.** Во всем мире отмечается рост онкологической заболеваемости, в структуре которой опухоли головного мозга занимают ключевые позиции. Менингиомы являются внеозгловыми, наиболее распространёнными, медленно растущими, как правило, доброкачественными объемными образованиями головного мозга. Данная патология встречается не только среди лиц пожилого возраста, но все чаще встречается среди молодых. Одной из актуальных проблем на сегодняшний день является выявление и дифференциальная диагностика внеозгловых образований головного мозга [1, 2].

Диагностика внутримозговых опухолей ввиду сходной неврологической симптоматики различных заболеваний головного мозга вызывает определенные трудности. Дифференциальный диагноз различных опухолей головного мозга, прежде всего, необходим для разграничения злокачественных и доброкачественных новообразований [3, 4, 7].

Внедрения лучевых методов исследования: магнитно-резонансной томографии (МРТ), компьютерной томографии (КТ) позволяло неинвазивно выявить и оценить степень злокачественности того или иного образования [5, 6, 8].

Целью настоящего исследования было выявить и описать ключевые признаки доброкачественных внеозгловых образований головного мозга – менингиом с помощью КТ и МРТ.

**Материал и методы.** Основным направлением работы являлось: выявление внеозгловых образований головного мозга и их дифференциальная диагностика; сравнительный анализ между высокотехнологичными методами лучевой диагностики (МРТ, КТ, КТ-ангиография, КТ-перфузия); выявление преимуществ и недостатков каждого из методов (МРТ, КТ, КТ-ангиография, КТ-перфузия). Исследование проводилось на аппарате МРТ фирмы TOSHIBA, напряженностью магнитного поля 1,5Т на жесткой головной катушке; в отделении компьютерной томографии на аппарате КТ фирмы TOSHIBA, 64 среза на жесткой катушке. В период с 15.09.2015 по 15.03.2016 (6 мес.) было проведено 695 МРТ-исследований головного мозга, из которых у 27 пациентов (3,7%) выявлены внеозгловые образования головного мозга (менингиомы); 278 КТ – исследований головного мозга, из которых у 6 пациентов (2,1%) выявлены внеозгловые образования головного мозга (менингиомы).

**Результаты и обсуждение.** Было установлено, что КТ диагностика в первую очередь применяются для оценки плотности менингиомы, выявления отдельных участков или массивных обызвествлений, зон узурации и гиперостоза прилегающих костей, выявления перифокального отека, что является важным вопросом для подбора методики и тактики удаления выявленного образования нейрохирургом. Часть менингиом (17%) невозможно



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

выявить на КТ без внутривенного контрастного усиления, в связи с изоденсивностью опухоли относительно мозга, а КТ-ангиография позволяет визуализировать кровоснабжение опухоли. Кроме того, КТ-перфузия позволяет определить расположение матрикса опухоли; распределение кровотока внутри самой опухоли; имеет прогностическое значение – увеличение кровотока по всему опухолевому узлу (по всем CBF, CBV и MTT параметрам) указывает на инфильтративный характер ее роста. МРТ диагностика позволяет выявить менингиомы в 100% случаев; контрастное усиление (T1 ВИ+С) в большинстве случаев происходит равномерно и активно, оно позволяет обнаружить локальное утолщение твердой мозговой оболочки клиновидной формы – «дуральный хвост» или «симптом хвоста»; на T2 ВИ в большинстве случаев между опухолью и мозговой паренхимой определяется «ликворная щель», что в свою очередь подтверждает немозговую локализацию образования.

**Заключение.** Менингиомы характеризуются медленным ростом, немозговой локализацией. Полное удаление (оно не всегда возможно) обычно приводит к полному излечению, ввиду доброкачественности изменений. Менингиомы чаще всего располагаются вдоль фалькса, на конвекситальной поверхности полушарий или крыле основной кости; часто вызывают гиперостоз прилежащей кости; часто кальцифицируются. Для полной оценки характеристик выявленной патологии рекомендуется как МРТ, так и КТ.

### Список литературы

1. Ахундов С. Г. Клиника, диагностика и лечение опухолей головного мозга, спинного мозга и позвоночника. Душанбе, 1960, 117.
2. Бабчин И. С., Бабчин И. П. Клиника и диагностика опухолей головного и спинного мозга. Л.: Мед., 1973, 184.
3. Богатина Ц.Я. Экстрацеребральные опухоли (клиника, гистология и хирургическое лечение). Горький, 1941, 115-230.
4. Мацко Д.Е., Коршунов А.Г. Опухоли центральной нервной системы. С-Пб., 1998, 310, 350-372.
5. Коновалов А.Н., Козлова А.Н., Козлова А.В., Гусев А.Н., Неврология и нейрохирургия учебник : в 2 т. – т. 2. 2009. – 420 с.
6. Коновалов А.Н, Корниенко В.Н., Пронин И.Л. Магнитно-резонансная томография в нейрохирургии, М., Видар. – 997-472.
7. Коновалов А.Н., Федоров С.Н. и др. Некоторые итоги и перспективы хирургического лечения оксоселлярных менингиом с применением микрохирургической техник. Опухоли головного мозга; Сборник научных работ. М.-J 975.- С. 30-136.
8. Угрюмов В.М. Хирургия центральной нервной системы. Л., «Медицина», 1969, часть 2, 176-206.





## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ТЕОРЕТИЧЕСКИ РАССЧИТАННАЯ ПРОСТРАНСТВЕННАЯ МОДЕЛЬ МИНИ-ФЕРМЕНТА, МОДЕЛИРУЮЩЕГО КАТАЛИТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ПРЕДСТАВИТЕЛЯ ЦИТОХРОМОВ P450

Е.К. Бессолицына, Я.Ю. Топоркова, Е.А. Ермакова

*КИББ КазНЦ РАН, Лаборатория молекулярной биологии*

Цитохромы P450 – обширная группа белков из семейства цитохромов, осуществляющих реакции окисления молекулярным кислородом органических соединений и являющихся важнейшими элементами системы детоксикации ксенобиотиков. Практически все ферменты суперсемейства P450 являются монооксигеназами, и для них характерно использование двух субстратов: непосредственно окисляемого соединения и молекулярного кислорода. Уникальным свойством цитохромов P450 семейства CYP74, включающих алленоксидсинтазы (АОС), гидропероксидлиазы (ГПЛ) дивинилэфирсинтазы (ДЭС), эпоксиалкогольсинтазы (ЭАС), является отсутствие необходимости в молекулярном кислороде. Относительно механизмов катализа, определяющих специфичность действия ферментов этого семейства, единого мнения у исследователей не существует. К настоящему времени методом рентгеноструктурного анализа расшифрованы третичные структуры только двух алленоксидсинтаз. Получение рентгеноструктурных моделей данных ферментов крайне затруднено, в том числе и в связи со значимыми размерами и сложностью получения кристаллических форм. Решением данной проблемы стало создание методами генной инженерии мини-фермента, моделирующего каталитический центр большого белка, с последующим анализом его структуры в комплексе с субстратом методом ЯМР высокого разрешения. Мы получили мини-фермент (25 кДа) на основе аминокислотной последовательности алленоксидсинтазы LeAOS3 (CYP74C3) томата (56 кДа). Мини-фермент сохранил способность удерживать в своем составе гем, а также катализировать превращения гидроперекисей жирных кислот – природных субстратов ферментов CYP74. Однако механизм реакции был изменен: аналогичные продукты образуются в реакциях, катализируемых мутантными формами ферментов CYP74. Методом докинга было показано, что субстрат может образовывать энергетически выгодные комплексы с мини-ферментом, с энергией взаимодействия от -3 до -12 ккал/моль. При этом субстрат локализуется как в области активного центра, так и вне его, а наиболее энергетически выгодные комплексы были обнаружены в активном центре фермента. Анализ различных вкладов в полную энергию взаимодействия показывает, что электростатическое взаимодействие белка с субстратом слабое, и наибольший вклад в энергию взаимодействия вносят энергия Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий, водородных связей и энергия сольватации.

Работа поддержана грантами РФФИ 14-04-01532-а и МК-6529.2015.4.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ КЛЕТОК HELa – ПРОДУЦЕНТОВ РЕКОМБИНАНТНОГО PGLYRP1, ЗАРАЖЕННЫХ *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*

П.А. Бобровский, А.К. Ларин, Н.Ф. Полина

ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Лаборатория генной инженерии,  
Лаборатория постгеномных исследований в биологии

Пептидогликан-распознающие белки человека (PGLYRPs) являются компонентами врожденного иммунитета, обладающими антибактериальной активностью [1]. Ранее, в лаборатории генной инженерии ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА были получены клеточные линии HeLa, стабильно продуцирующие рекомбинантные человеческие PGLYRPs в среду для культивирования. Было показано, что эти рекомбинантные PGLYRPs ингибируют развитие хламидийной инфекции. Целью работы было изучить изменение экспрессии генов в линиях, продуцирующих рекомбинантный PGLYRP1 в ответ на заражение их элементарными тельцами *C. trachomatis*. В эксперименте использовали две клеточные линии: линию, продуцирующую активный рекомбинантный человеческий PGLYRP1 и линию, продуцирующую дефектный PGLYRP1, не обладающий антибактериальной активностью. В структурную часть гена PGLYRP1 в этой линии внесена мутация, приводящая к синтезу нефункционального белка. В эксперименте исследовали как зараженные, так и незараженные *C. trachomatis* клетки. Для транскриптомного анализа были выбраны три временные точки, соответствующие различным стадиям заражения: 1 час после заражения (начало заражения, элементарные тельца проникают в клетку), 48 часов (хламидии находятся внутри клеток в форме ретикулярных телец) и 72 часа (выход элементарных телец из клеток, второй раунд заражения). Клетки HeLa, лизировали раствором ExtractRNA (Евроген, Россия), выделяли суммарную РНК с последующей обработкой ДНКазой I (Thermo Scientific, США). Подготовку образцов проводили с помощью набора Illumina TotalPrep RNA Amplification Kit (Thermo Scientific, США). Измерение уровня экспрессии генов проводили методом RNA-microarray с использованием микрочипов и оборудования фирмы Illumina (США). Первичную обработку данных проводили с помощью программы GenomeStudio Gene Expression Module (Illumina, США). Поиск дифференциально экспрессированных генов осуществляли при помощи критерия Стьюдента, с использованием библиотеки limma в составе пакета Bioconductor среды R. В итоговый список были отобраны гены, модуль кратности изменения которых составлял не менее 2 при уровне значимости  $p < 0,05$ . Дифференциально экспрессируемые гены были сгруппированы по семействам. При помощи Интернет-ресурса WebGestalt проведён функциональный анализ групп дифференциально экспрессирующихся генов (в терминах GO – Gene Ontology и KEGG). В результате было установлено, что уровень экспрессии генов зараженных клеток-продуцентов активного PGLYRP1 достоверно не отличался от незараженных клеток. При этом в линиях-продуцентах дефектного PGLYRP1 было найдено около 30 дифференциально экспрессирующихся генов, относящихся к различным группам метаболических процессов.



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

*19–20 апреля 2016*

## **Список литературы**

1. Liu C, Xu Z, Gupta D, Dziarski R. 2001. Peptidoglycan recognition proteins: a novel family of four human innate immunity pattern recognition molecules. *The Journal of Biological Chemistry* 276:34686-34694.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### СТРУКТУРА МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ОЗЕРА ТРЕХЦВЕТНОЕ

Д.И. Болдырева, В.В. Бабенко

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Лаборатория постгеномных исследований в биологии*

Озеро Трехцветное является меромиктическим водоемом, имеющим вертикальную стратификацию по содержанию солей. Название «Трехцветное» этому озеру дано за отчетливое различие в окраске трех слоев водной толщи. Верхний пресный слой имеет желтоватый цвет из-за гуминовых веществ, поступающих из болота, ниже соленость резко возрастает, и в области хемоклина (интервал глубин, в котором резко возрастает концентрация солей) располагается ярко-зеленый слой воды. Ниже этого отчетливого слоя и до самого дна находится мутный зеленовато-бурый сероводородсодержащий водный слой. Вертикальная стратификация сохраняется постоянной в течение всех сезонов года. Трехцветное озеро – это образец водоема, практически полностью утратившего связь с морем. Такие водоемы являются классическими объектами исследований биогеохимиков и микробиологов. В водной толще меромиктических водоемов развивается сложное многослойное микробное сообщество, участвующее в преобразовании соединений углерода, серы, азота.

Микробные сообщества меромиктических озер и функциональные возможности данных сообществ пока мало изучены.

В настоящей работе были проведены количественные и качественные оценки бактериального разнообразия озера Трехцветное.

Для определения таксономического состава микробных сообществ, населяющих данное озеро, были получены пробы воды из различных участков, отличающихся по глубине. Для каждой пробы проведено секвенирование переменных участков V3 – V4 и V5 – V6 гена 16S рРНК с использованием прибора Illumina MiSeq. По результатам секвенирования показано, что в пробах преобладают представители филума Chlorobi при этом их относительная представленность колеблется в зависимости от глубины забора исследуемого образца.

Для более точной таксономической классификации и определения функциональных возможностей метагеномного образца озера Трехцветное было выполнено shotgun секвенирование и дополнительное секвенирование переменных участков V2-V4-V8 и V3-V6, V7-V9 гена 16S рРНК, проведенные на приборе IonTorrent PGM. Пробы были взяты с различных участков озера, расположенных на одной глубине, которая соответствует зоне хемоклина.

По двум переменным регионам гена 16S рРНК получено представление о таксономическом разнообразии озера Трехцветное. С учетом физико-химических параметров детально описана зона хемоклина озера Трехцветное. Получено представление о метаболических путях и установлена роль бактериального сообщества озера Трехцветное в круговороте Серы и Азота. Определены бактерии, участвующие в окислении метана.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ОЦЕНКА ХИМЕРИЗМА В CD3<sup>+</sup> КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ МИЕЛОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ (ОМЛ) ПОСЛЕ АЛЛОГЕННОЙ ТГСК С TCR a/b ДЕПЛЕЦИЕЙ

В.В. Бриллиантова, В.О. Бобрынина, А.В. Поляков, М.А. Масчан, Л.Н. Шеховцова,  
Д.Н. Балашов, П.Е. Трахтман, Е.Е. Курникова

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Лаборатория биофизических методов  
диагностики*

**Введение.** Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) при многих заболеваниях является единственным способом спасти жизнь пациента. Особенно важную роль эта процедура играет в онкогематологии. ТГСК сопряжена со множеством опасностей, таких как отторжение трансплантата, развитие инфекционных осложнений, развитие реакции трансплантата против хозяина (РТПХ), а также развитие рецидива основного заболевания. Для того, чтобы отслеживать, как происходит процесс восстановления донорского кроветворения у реципиента, приживление и функционирование трансплантата используется измерение химеризма (количества собственных клеток реципиента) в крови и костном мозге после трансплантации. При использовании TCRab-деплеции (удалении иммунокомпетентных клеток – Т-лимфоцитов из донорского трансплантата перед пересадкой) в дальнейшем у пациентов, в ряде случаев, длительное время сохраняется высокий процент собственных клеток, особенно в CD3<sup>+</sup> фракции клеток. В связи с этим появилась необходимость понять, является ли смешанный химеризм в CD3<sup>+</sup> клетках после трансплантации неблагоприятным фактором риска.

**Цель работы.** Определить взаимосвязь смешанного химеризма в CD3<sup>+</sup> клеточной линии и развитие рецидива у пациентов с ОМЛ после ТГСК с TCR a/b деплецией от гаплоидентичных и неродственных доноров.

**Материалы и методы.** Выборку составили пациенты с диагнозом ОМЛ, прошедшие аллогенную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток с TCR a/b деплецией в период с февраля 2012 года по май 2014 года (n=27). Трансплантацию от гаплоидентичного донора получили 11 пациентов, от HLA-совместимых неродственных доноров – 16 пациентов. Измерение химеризма проводилось каждые 30 дней в течение года. За время наблюдения рецидив развился у 11 человек. Химеризм определяли в CD3<sup>+</sup> клетках, выделенных методом магнитной сепарации на магнитных частицах daynabeads (life technologies) из образцов костного мозга, дальнейший анализ проводили методом ПЦР в режиме реального времени с использованием реактивов для ПЦР (ООО "Центр медицинской генетики") и специально подобранных праймеров, специфичных к участкам ДНК с полиморфизмами Insertion/Deletion ("Евроген", "Синтол").

**Результаты.** Пациенты, получившие ТГСК от неродственного донора, характеризовались более высоким количеством собственных клеток в CD3<sup>+</sup> клетках, начиная с 90 дня после ТГСК и до 150 дня, по сравнению с пациентами после ТГСК от гаплоидентичного донора (p<0,05). После 150 дня значимые различия в химеризме CD3<sup>+</sup> исчезали. При анализе химеризма в



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

CD3<sup>+</sup> клетках у пациентов после аллогенной ТГСК с помощью дискриминантной функции, выделилась группа с высоким смешанным химеризмом (больше 40% собственных клеток). Оказалось, что эта группа состоит только из пациентов, получивших трансплантацию от неродственного донора. В данной группе рецидивировали только те пациенты, у которых смешанный химеризм наблюдался в первые два месяца после трансплантации. Пациенты, у которых смешанный химеризм в CD3<sup>+</sup> клетках появился с 90 дня после трансплантации, не рецидивировали. В группе пациентов, получивших трансплантацию от гаплоидентичных доноров, пациенты со смешанным химеризмом выше 15% собственных клеток в CD3<sup>+</sup> фракции в дальнейшем все рецидивировали.

**Выводы.** Трансплантация от совместимых неродственных доноров характеризуется более высоким процентом собственных клеток в CD3<sup>+</sup> линии по сравнению с пациентами, получившими ТГСК от гаплоидентичных доноров ( $p < 0,05$ ). Более высокое количество собственных клеток в CD3<sup>+</sup> линии после 90 дня от неродственной ТГСК не характеризует более высокий риск развития рецидива в этой группе больных. Для более подробного изучения влияния длительного смешанного химеризма в CD3<sup>+</sup> клетках у пациентов после ТГСК планируется применение биофизических методов исследования на базе ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПЦР «В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ» И ЦИФРОВОЙ ПЦР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТАТУСА МУТАЦИЙ ГЕНА *EGFR* В ПЛАЗМЕ ПАЦИЕНТОВ С НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО

О.И. Бровкина<sup>1</sup>, М.Г. Гордиев<sup>2</sup>, Д.Д. Сакаева<sup>3</sup>, Р.Ф. Еникеев<sup>2</sup>, О.А. Гусев<sup>4</sup>, Д.С. Ходырев<sup>1</sup>, А.Г. Никитин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Лаборатория генетики

<sup>2</sup>ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер МЗ РТ»

<sup>3</sup>ГУЗ «Башкирский республиканский клинический онкологический диспансер МЗ РБ»

<sup>4</sup>Казанский (Приволжский) федеральный университет, RIKEN (Йокогама, Япония)

**Цель исследования.** Присутствие в гене *EGFR* активирующих мутаций является показанием к применению таргетных противоопухолевых препаратов, блокирующих тирозинкиназу [1, 2]. В настоящее время существует возможность определить активирующие мутации *L858R* и *T790M* в экзонах 21 и 20 и делеции в экзоне 19 в образцах плазмы пациентов [3]. Целью данного исследования было сравнение статуса мутаций в формалин-фиксированных парафиновых блоках и в плазме крови, а также оценка диагностических характеристик ПЦР «в реальном времени» с блокированием дикого типа и цифровой ПЦР для анализа плазмы крови пациентов с немелкоклеточным раком легкого.

**Материалы и методы.** Исследование включало 89 пациентов (гистологическое заключение – аденокарциномы различной степени дифференцировки) с известным статусом мутаций в ткани, определенным с помощью theascreen® *EGFR* RGQ PCR Kit. *L858R*, *del19* и *T790M* мутации определялись в плазме крови тех же пациентов. Выделение ДНК проводили из 1 мл плазмы с помощью набора реагентов QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit. Анализ на содержание мутаций *L858R*, *T790M* и делеции гена *EGFR* в плазме проводили с помощью методов цифровой ПЦР и ПЦР «в реальном времени». В работе использовали различные концентрации положительных плазмидных контролей (от 0% до 5%). Для цифровой ПЦР использовали систему QuantStudio® 3D Digital PCR System (Applied Biosystems, США). ПЦР-смесь готовили с помощью 3D Digital PCR Master Mix согласно инструкции производителя, конечные концентрации праймеров и зондов 900 и 600 нМ соответственно. Условия амплификации фрагментов ДНК: 95°C/2 мин – первый цикл; 94°C/10 с, 60°C/90 с – 40 циклов. Для ПЦР «в реальном времени» с блокированием дикого типа (LNA-clamp) использовали термоциклер “Rotor-Gene 6000” (Qiagen, Германия), ПЦР-смесь готовили в 20 мкл реакционной смеси следующего состава: 70 мМ Трис-НСl, рН 8.8, 16.6 мМ сульфат аммония, 0.01%-ный Твин-20, 2 мМ хлорид магния, 200 нМ каждого dNTP, 500 нМ праймеров, 250 нМ флуоресцентных зондов, 1,5 ед. Таq ДНК-полимеразы. Условия амплификации фрагментов ДНК: 95°C/2 мин – 1-й цикл; 94°C/10 сек, 62°C/60 – 60 циклов; используемые в зондах флуоресцентные красители – FAM и VIC, тушители флуоресценции – BHQ-1 и BHQ-2. Комплекты олигонуклеотидов были разработаны и произведены ООО «Тестген» (г. Димитровград).



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

**Результаты.** Сравнение статуса *EGFR* мутаций в плазме и образцах тканей показало конкордантность 88,7% [95% CI: 85–92%], чувствительность – 83,3% [95% CI: 76–90%], специфичность – 100%. С помощью плазмидных положительных контролей (вставка в вектор pAL-TA искусственно синтезированной последовательности размером 300 п.н., содержащей мутацию) известных концентраций были установлены аналитические характеристики применяемых методик. Аналитическая чувствительность цифровой ПЦР составила 0,1%, аналитическая специфичность – 99,5 %. Аналитическая чувствительность ПЦР «в реальном времени» составила 0,2%, аналитическая специфичность – 99,7%.

**Выводы.** Для выявления мутаций в гене *EGFR* возможно использование образцов плазмы. Сравнение двух методов показало 100% конкордантность результатов образцов плазмы, несмотря на более высокие аналитические характеристики цифровой ПЦР, полученные с применением искусственных плазмидных положительных контролей, продемонстрирована возможность надежной детекции сверхнизких концентраций цДНК с содержанием мутаций менее 1% (5-10 копий мутантного гена на реакцию) на фоне избытка ДНК дикого типа (соотношение ДНК с мутацией к ДНК дикого типа 1:10000).

### Список литературы

1. Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, Sugawara S, Oizumi S, Isoabe H, et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med.* 2010 Jun 24;362(25):2380–8.
2. Kosaka T, Yatabe Y, Endoh H, Kuwano H, Takahashi T, Mitsudomi T. Mutations of the epidermal growth factor receptor gene in lung cancer: biological and clinical implications. *Cancer Res.* 2004 Dec 15;64(24):8919–23.
3. Dominguez PL, Kolodney MS. Wild-type blocking polymerase chain reaction for detection of single nucleotide minority mutations from clinical specimens. *Oncogene.* 2005 Oct 13;24(45):6830–4.





## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ БЕЛКОВ ПАТОГЕННОСТИ ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI*, ВЫДЕЛЕННЫХ У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ КРОНА

О.Н. Букато, Д.С. Матюшкина, Д.В. Ракитина, О.В. Побегуц, Ю.П. Байкова, В.Г. Ладыгина,  
В.М. Говорун

ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Лаборатория протеомного анализа

Болезнь Крона (БК) – заболевание, поражающее желудочно-кишечный тракт. Постоянный интерес к заболеванию обусловлен, прежде всего, тем, что, до настоящего времени этиология БК остается неизвестной, а патогенез полностью неясен. Один из возможных механизмов патогенеза БК – провокация неконтролируемого иммунного ответа условно-патогенными микроорганизмами, колонизирующими слизистую кишечника. В роли такого микроорганизма рассматривают *Escherichia coli*, поскольку в ряде исследований микробиоты кишечника больных БК у части пациентов было выявлено повышенное содержание этого микроорганизма.

Для выявления роли *E. coli* в патогенезе БК нам были предоставлены ЦНИИ гастроэнтерологии и ГЦ НИИ колопроктологии штаммы кишечной палочки, изолированной из пациентов с БК (n=6), а также от здоровых людей для формирования группы контроля (n=4). Образцы опытных штаммов *E. coli* были получены во время колоноскопии у пациентов с БК различной локализации и стадии (4 мужчин и 2 женщины; средний возраст 33 года).

В ходе проделанной работы было проведено сравнение *E. coli*, изолированных у пациентов с БК, и группы контроля с помощью двумерного дифференциального электрофореза в трех биологических повторах с последующим МАЛДИ-масс-спектрометрическим анализом. При анализе полученных 2D-карт были выявлены белки, существенно отличающиеся по их представленности: в клетках *E. coli* от больных с БК было повышено содержание белков триптофаназы (*tnaA*), глутамат декарбоксилазы (*gadB*), малат-дегидрогеназы (*mdh*) и транспортеры-хеморецепторы рибозы (*rbsB*) и галактозы (*mgIB*). Обнаруженные отличия между изолятами от группы контроля и от больных с БК являются характерными для патогенных *E. coli* и позволяют предположить их активную роль в патогенезе.

Таким образом, в настоящем исследовании были найдены кандидаты на роль белков патогенности *Escherichia coli*, выделенных у пациентов с БК. Эти данные позволяют предположить, какую роль может играть бактерия в развитии заболевания и возможный механизм ее патогенного воздействия на организм хозяина. Дальнейшее изучение этого вопроса позволит точнее определить этиологию и патогенез заболевания, что в значительной мере улучшит качество диагностики и лечения пациентов с данным заболеванием.



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## НЕИНВАЗИВНАЯ ПЦР-ДИАГНОСТИКА КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

Г.М. Бутрович<sup>1</sup>, Е.Д. Мирлина<sup>1</sup>, И.Г. Хабарова<sup>2</sup>, О.А. Вострюхина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «ПИАФ» им. Б.П. Константинова, НИЦ «Курчатовский институт»

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО «ПСПбГМУ им. И.П. Павлова» Минздрава РФ

Колоректальный рак (КРР) является наиболее распространенной формой рака во всем мире и второй причиной смерти от рака после рака легких [2]. На сегодняшний день актуальными остаются поиски методик для ранней неинвазивной диагностики КРР. Исследователями предлагаются варианты диагностик КРР, связанные с анализом фекальной ДНК (определение мутаций или микросателлитной нестабильности, изменение метилирования, анализ целостности ДНК) [4, 5].

Отшелушенные эпителиальные клетки стенок толстой кишки поступают в кишечный тракт, при прохождении через который полностью или частично разрушаются под действием ферментов, а ДНК этих клеток деградирует [3]. Фрагменты ДНК, выделенные из стула больных с колоректальными опухолями, имеют большую молекулярную массу нежели фрагменты, полученные из стула здоровых индивидуумов [1], что можно использовать в качестве биомаркера для скрининга КРР

Целью данной работы являлась разработка молекулярного теста для скрининга КРР на основе анализа фекальной ДНК, пригодного для внедрения в клиническую практику в России.

**Материалы и методы.** Образцы стула пациентов с опухолями толстой кишки и контрольной группы были предоставлены ПСПбГМУ им. И.П. Павлова. В исследовании участвовало 88 человек, из них 63 пациента с КРР и 25 человек, не имеющих новообразований толстой кишки. Наличие или отсутствие опухоли было установлено методом фиброколоноскопии.

Выделение геномной ДНК производили в течение 24 часов после отбора пробы, с использованием специфической обратимой сорбции ДНК в присутствии хаотропных солей на частицы силикагеля [6].

Для оценки качества выделенной ДНК предварительно производили амплификацию двух коротких фрагментов длиной менее 200 н.п. Первый фрагмент длиной 141 н.п. расположен в кодирующей области гена TP53 (экзон 9). – второй фрагмент длиной 153 н.п., расположен в кодирующей области гена *BLM*.

Для анализа целостности ДНК были выбраны два фрагмента, первый длиной 800 н.п., содержащий 7, 8 и 9 экзоны гена TP53 и второй, протяженностью 2342 н.п., содержащий 14 и 15 экзоны гена *MLH1*.

Использование фрагментов из разных участков позволило повысить достоверность полученных результатов.

Для анализа данных использовали программу Graphpad InStat. Различия между группами считали достоверными на уровне 95% вероятности при  $p < 0,05$ .

**Результаты и выводы.** Чувствительность и специфичность метода составили соответственно 78% и 100%. С уровнем статистической достоверности более 95% не



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

выявлено статистически значимых различий ( $p=1$ ) между чувствительностью метода при разделении пациентов на группы по полу, по возрасту и по стадиям заболевания (I-II /III-IV стадии).

Данный метод обладает невысокой себестоимостью и возможностью проводить неинвазивную диагностику колоректального рака в стандартной ПЦР-лаборатории, что делает его пригодным для популяционного скрининга.

На основании полученных результатов можно сформулировать следующие **выводы**.

1. Разработан метод неинвазивной ПЦР-диагностики колоректального рака на основе анализа целостности ДНК из стула пациента.

2. Чувствительность и специфичность метода составили соответственно 78% ( $p<0,0001$ ) и 100% ( $p<0,0001$ ).

3. Продемонстрирована возможность использования метода для ранней диагностики колоректального рака.

### Список литературы

1. Boynton K.A., Summerhayes I.C., Ahlquist D.A., Shuber A.P. DNA integrity as a potential marker for stool-based detection of colorectal cancer// Clin Chem. – 2003. – Vol.49. – P.1058-1065.
2. Ferlay J., Shin H.R., Bray F. et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008.// Int J Cancer. – 2010. – Vol.127(12). – P.2893-2917.
3. Iyengar V., Albaugh G.P., Lohani A., Nair P.P. Human stools as a source of viable colonic epithelial cells// FASEB J. – 1991. – Vol.5(13). – P.2856-2859.
4. Robertson D.J., Dominitz J.A. Stool DNA and colorectal-cancer screening// N Engl J Med. – 2014. – Vol.370(14). – P.1350-1351.
5. Roperch J.P., Incitti R., Forbin S., et al. Aberrant methylation of NPY, PENK, and WIF1 as a promising marker for blood-based diagnosis of colorectal cancer// BMC Cancer. – 2013. – 0.1186/1471-2407-13-566.
6. <http://www.interlabservice.ru/catalog/reagents/index.php?sid=1402&id=8693>



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## ХИРУРГИЧЕСКАЯ ТАКТИКА ПРИ ОСТРОМ ДЕСТРУКТИВНОМ ПАНКРЕАТИТЕ

А.А. Валялин

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Хирургическое отделение КБ № 123*

**Актуальность.** Проблема острого панкреатита (ОП) в хирургической практике до настоящего времени остается актуальной. Летальность при ОП остается самой высокой среди различных видов патологии органов брюшной полости (в пределах от 2,3 до 86% и 98–100% – при молниеносной форме) и, это, при условии своевременного лечения самыми современными медицинскими методами. Прогрессирование патологического процесса с формированием панкреонекроза сопровождается развитием эндотоксикоза, который может приводить к полиорганной недостаточности. Очевидно, что быстрота развития эндотоксикоза зависит от степени повреждения тканей в очаге воспаления, активного участия лимфо- и кровообращения в распространении токсинов в организме и воздействия эндотоксинов на органы (печень, кишечник, почки, легкие и др.), превращения их в дополнительный источник интоксикации. Наиболее частыми причинами острого панкреонекроза являются злоупотребление алкоголем (70%), переедание, рефлюкс ферментов железы в панкреатические протоки при желчекаменной болезни, при нарушении микроциркуляции в железе при шоке, синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (15-25%). В 10-15% случаев этиологию выявить не удастся. При панкреонекрозе происходит активация всех ферментов поджелудочной железы, которые попадают по лимфатическим и кровеносным путям в общее кровеносное русло. В результате повышается проницаемость сосудистой стенки, что приводит к отеку, кровоизлияниям в ткань поджелудочной железы и забрюшинную клетчатку. Усиливается процесс тромбообразования, в результате чего в паренхиме железы формируются очаги некроза и из разрушенных клеток освобождаются липазы, под действием которых возникает жировой некроз поджелудочной железы, сальника. Особое значение эта проблема приобретает при развитии гнойно-некротического процесса в забрюшинной клетчатке, часто обозначаемого как гнойно-некротический парапанкреатит.

**Цель.** Анализ хирургической тактики лечения больных острым деструктивным панкреатитом (ОДП).

**Материал и методы исследования.** Работа основана на результатах ретроспективного анализа историй болезни 197 пациентов с ОДП, проходивших лечение в хирургическом отделении с 2008 по 2012 гг.

**Результаты.** Средний возраст составил  $49 \pm 12,6$  лет. Мужчин было 126 человек, женщин – 71. Билиарный панкреатит развился у 88, алкогольный – у 78, посттравматический – у 17, послеоперационный – у 4, идиопатический – у 10. Следует отметить, что большинство больных поступило в стационар спустя 1-3 суток с момента заболевания. В анамнезе у 70-80% больных было отмечено длительное злоупотребление спиртных напитков и нарушение диеты. Оперированным больным предоперационная подготовка с тяжелыми нарушениями гомеостаза проводилась при участии анестезиолога-реаниматолога в условиях отделения



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

реанимации. Интенсивная терапия обязательно включала базисный лечебный комплекс (голод, введение зонда в желудок, местная гипотермия, спазмолитики, инфузионная терапия, антисекреторные и антиферментные препараты) и дополнялась этиопатогенетическим лечебным комплексом. Распределение пациентов по степени тяжести (шкала Ranson) [4]: средняя степень тяжести (3-4 признака) – 24 человека (40,6%); тяжелое течение (5-6 признаков) – 20 человек (34%); крайне тяжелое течение (> 6 признаков) – 15 человек (25,4%). Из 197 больных с ОДП 57 пациентов (28,9%) оперированы: выполнены абдоминализация поджелудочной железы, дренирование сальниковой сумки сквозным дренажом с целью удаления секвестров и детрита – 8 человек; Лапароскопия, санация и дренирование брюшной полости – 35 больных; Чрезкожное дренирование панкреатогенных абсцессов – 5 больных; панкреатобурсостомия – 9 больных. У 17 больных инфицированный панкреонекроз сочетался с панкреатогенным абсцессом. Внутривнутрибрюшные осложнения были представлены ферментативным перитонитом (у 1), парапанкреатическим инфильтратом (у 8), Забрюшинной флегмоной (у 5), нагноившейся псевдокистой (у 3). Среди внебрюшных осложнений преобладал абдоминальный сепсис у 9 и полиорганная недостаточность (ПОН) у 5 больных. Летальность составила 20 человек, из которых у четверых был стерильный панкреонекроз, у 16 – инфицированный панкреонекроз. Непосредственными причинами летального исхода были абдоминальный сепсис, ПОН. В структуре ПОН превалировали печеночно-почечная, дыхательная, сердечно-сосудистая и церебральная недостаточность.

**Заключение.** 1. Оперативные вмешательства заключаются в традиционных методах оперирования – лапаротомии, санации и дренировании брюшной полости с панкреатооментобурсостомией. 2. Санации гнойных полостей производятся по показаниям в зависимости от течения местного процесса. Полученные результаты лечения свидетельствуют, что подход к ведению этой категории больных должен быть строго дифференцированным. 3. Лечебные мероприятия при остром панкреонекрозе должны быть направлены на купирование патологического процесса в поджелудочной железе, выведение больного из состояния панкреатогенной токсемии и шока, профилактику и лечение печеночной и почечной недостаточности, гнойно-септических осложнений, на системную антибиотикотерапию и иммунокоррекцию, варианты которой определяются индивидуально в зависимости от клинико-лабораторных показателей, а также на энтеральную нутриционную поддержку. 4. Инфицированный панкреонекроз служит абсолютным показанием к оперативному лечению. Объем оперативного вмешательства определяется на основании данных КТ при поступлении и в динамике, и окончательно решается интраоперационно. Оптимальные сроки хирургического вмешательства должны определяться индивидуально для каждого больного ОДП с обязательным учетом времени от начала заболевания, осложнений и эндогенной интоксикации.

### Список литературы

1. Волков В.Е., Жамков Г.В., Волков С.В., Жамков Д.Г. Хирургическое лечение забрюшинной флегмоны у больных острым некротическим панкреатитом// Клиническая и экспериментальная медицина: сб. научных трудов, посвященный 15 – летию Диагностического центра ГУЗ» Республиканская клиническая больница» Минздравсоцразвития Чувашии. Чебоксары. 2010. С. 32-34.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

*19–20 апреля 2016*

2. Ворончихин В.В. Комплексное лечение острого панкреатита в фазу секвестрации// Современные аспекты организации медицинской помощи населению. Материалы межрегиональной научно-практической конференции, посвященные 10 – летию института усовершенствования врачей. Чебоксары. 2009. С. 160-162.
3. Катанов Е.С., Дмитриев Г.В. Пятна стеатонекроза в диагностике острого панкреатита// Тезисы докладов. Научно-практическая конференция, посвященная 50-летию юбилею МУЗ «Вторая городская больница». Чебоксары. 2002. С. 68-70.
4. Протоколы диагностики и лечения острых хирургических заболеваний органов брюшной полости // Ассоциация хирургов Санкт-Петербурга. Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И.Джанелидзе. СПб. 2007. С. 22-32.
5. Шугаев А.И., Кайсаров В.Р., Мосоян С.С., Гера И.Н., Лойт А.А. Топографоанатомические особенности «парапанкреальных» клетчаточных пространств и пути распространения патологического процесса при остром деструктивном панкреатите// Вестник хирургии имени И.И.Грекова. Том 164. 2005. №5. С. 26-30.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ИНДУЦИРОВАННОЕ ЦИСПЛАТИНОМ ИНГИБИРОВАНИЕ ТЕЛОМЕРАЗЫ ПРИВОДИТ К ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ CD4<sup>+</sup> Т ЛИМФОЦИТОВ

Д.А. Васина, Д.Д. Жданов, Н.Н. Соколов, В.С. Орлова

*Российский университет дружбы народов, Экологический факультет;  
Институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Лаборатория медицинской  
биотехнологии*

Теломераза является мультиферментативным комплексом, который синтезирует теломерные повторы TTAGGG на 3'-концах хромосом человека. Злокачественные опухолевые клетки, нормальные стволовые клетки и активированные лимфоциты обладают теломеразной активностью, что позволяет им поддерживать повышенный репликативный потенциал [1]. Ингибирование теломеразы в нормальных клетках вызывает укорочение теломер до критических значений, переход клеток в состояние репликативного старения и апоптоз [2]. Однако в единичных клетках укорочение теломер вызывает хромосомные мутации, что приводит к их злокачественной трансформации [3]. Ранее мы показали, что сверхэкспрессия апоптотической эндонуклеазы EndoG, вызывает альтернативный сплайсинг каталитической субъединицы теломеразы hTERT (human Telomerase Reverse Transcriptase) и ингибирует ее активность. Известно, что экспрессия EndoG увеличивается в ответ на повреждения ДНК различными агентами [4]. Целью работы явилось изучение влияния ДНК-повреждающего агента – цисплатина на экспрессию EndoG и теломеразную активность в нормальных, не опухолевых клетках, а так же на дальнейшую судьбу клеток. CD4<sup>+</sup> Т клетки человека культивировали в присутствии 4 мкМ цисплатина. ОТ-ПЦР в реальном времени и метод Вестерн блоттинга применяли для изучения экспрессии EndoG и сплайс-вариантов hTERT. Оценку активности теломеразы проводили методом TRAP (Telomeric Repeats Amplification Protocol). Методом проточной цитометрии проводили исследование иммунофенотипических характеристик клеток. Инкубация клеток с цисплатином приводила к увеличению в них экспрессии EndoG, увеличению экспрессии сплайс-варианта hTERT и уменьшению экспрессии полноразмерного активного варианта. Изменение пропорции сплайс-вариантов hTERT в клетках приводило к понижению активности теломеразы. Дальнейшее культивирование таких клеток приводило к их переходу в состояние репликативного старения и массивной гибели по пути апоптоза, после 28–32 удвоений популяции. Однако, некоторые клетки в присутствии цисплатина оставались живыми, но не способные к делению. Исследование иммунофенотипа показало, что через 36–51 день культивирования происходила их трансформация, приводящая к развитию фенотипических характеристик Т клеточного лимфобластного лейкоза. Трансформированные CD4<sup>+</sup> Т клетки обладали более высокой активностью теломеразы и пролиферативной активностью, чем исходные CD4<sup>+</sup> Т клетки. В контрольных CD4<sup>+</sup> Т клетках в процессе культивирования не происходило изменения экспрессии EndoG, сплайс-вариантов hTERT и активности теломеразы. Длина теломер в контрольных клетках уменьшалась не так стремительно, как в



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

клетках, инкубированных с цисплатином. Контрольные клетки также переходили в состояние репликативного старения и умирали по пути апоптоза, однако, их злокачественной трансформации не наблюдали. Таким образом, в соответствии с нашими данными, описан механизм злокачественной трансформации нормальных клеток. По данному механизму, повреждение ДНК приводит к увеличению экспрессии EndoG, которая в свою очередь вызывает альтернативный сплайсинг hTERT и приводит к ингибированию теломеразы в CD4+ T клетках. Теломеры в клетках с неактивной теломеразой укорачиваются до критических значений, что вызывает переход клеток в состояние репликативного старения и гибель по пути апоптоза. Малая часть выживших клеток претерпевает злокачественную трансформацию и превращается в опухолевые клетки.

### Список литературы

1. Kaszubowska L. Telomere shortening and ageing of the immune system. *J.Physiol Pharmacol.* 2008; 9:169-86
2. Harley CB, Futcher AB, Greider CW. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature.* 1990; 31;345(6274):458-60.
3. Shay JW, Wright WE. Role of telomeres and telomerase in cancer. *Semin Cancer Biol.* 2011; 21(6):349-53.
4. Yin X, Apostolov EO, Shah SV, Wang X, Bogdanov KV, Buzder T, Stewart AG, Basnakian AG. Induction of renal endonuclease G by cisplatin is reduced in DNase I-deficient mice. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(9):2544-53.





## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОСТАВА БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ, НАСЕЛЯЮЩИХ РАЗЛИЧНЫЕ ОТДЕЛЫ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ ПЯВКИ, МЕТОДОМ АНАЛИЗА ВАРИАБЕЛЬНОСТИ ГЕНА 16S рРНК

М.Т. Вахитова<sup>1</sup>, В.В. Бабенко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Московского физико-технического института, Лаборатория системной биологии;

<sup>2</sup>ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Лаборатория постгеномных исследований в биологии

Бактерии, обитающие в кишечнике, оказывают существенное влияние на организм хозяина, как выделяя дополнительные вещества, например витамины, так и вызывая различные заболевания. Кровь, как источник пищи, отличается низким содержанием витаминов, липидов и углеводов, но содержит высокий процент белков, поэтому гематофаги в большей степени зависят от бактерий-симбионтов. Механизмы пищеварения медицинской пиявки и участие в них бактерий представляют особый интерес, поскольку данный организм использует в качестве источника пищи исключительно кровь и подвергает ее длительному перевариванию. Предполагается, что бактерии пищеварительной системы пиявки могут участвовать в процессе консервации крови, а также нейтрализовать токсичность свободного гемоглобина и железа.

В данном исследовании проводилось определение состава бактериальных сообществ, населяющих два ключевых отдела пищеварительной системы трех видов медицинской пиявки: *hirudo medicinalis*, *hirudo verbana*, *hirudo orientalis*. Посредством микродиссекции были получены фрагменты слизистой кропа и кишечника, из которых была выделена ДНК. Затем были приготовлены библиотеки для секвенирования на основе полученных в результате проведения амплификации копий V3-V4 переменных фрагментов гена 16S рРНК. Секвенирование проводилось на приборе MiSeq (Illumina, США). Анализ варибельности и проведение классификации осуществлялось программным обеспечением, поставляемым с секвенатором, использующим базу последовательностей гена 16S рРНК GreenGenes.

В результате проведения анализа было показано, что для всех трех видов пиявок характерно присутствие в кишечнике бактерии, относящиеся к следующим родам: *Roseospira*, *Nitratireductor*, *Pedobacter*. В кропе каждой из исследуемых пиявок были обнаружены бактерии, относящиеся к родам *Pedobacter*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Denitratisoma*. Присутствие в слизистых пиявки бактерий рода *Roseospira*, *Pedobacter*, *Pseudomonas* уже было описано ранее в литературе [1]–[3]. *Nitratireductor* не был ранее обнаружен в пиявке, но был выделен из культуры диатомовых водорослей [4]. Также в литературе имеются сведения о том, что *Denitratisoma* может обитать в озерной воде [5]. Бактерии рода *Burkholderia* не были ранее найдены на слизистых пиявки, однако были идентифицированы в слизистых кишечника других гематофагов: клопов [6] и москитов вида *Anopheles mosquitoes*[7].



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### Список литературы

- [1] I. S. Whitaker, M. Maltz, M. E. Siddall, and J. Graf, "Characterization of the digestive tract microbiota of *Hirudo orientalis* (medicinal leech) and antibiotic resistance profile.," *Plast. Reconstr. Surg.*, vol. 133, no. 3, p. 408e–418e, 2014.
- [2] H. Nonomura, N. Kato, Y. Ohno, M. Itokazu, T. Matsunaga, and K. Watanabe, "Indigenous bacterial flora of medicinal leeches and their susceptibilities to 15 antimicrobial agents," *J. Med. Microbiol.*, vol. 45, no. 6, pp. 490–493, 1996.
- [3] B. M. Ott, A. Rickards, L. Gehrke, and R. V. M. Rio, "Characterization of shed medicinal leech mucus reveals a diverse microbiota," *Front. Microbiol.*, vol. 6, no. JAN, pp. 1–10, 2015.
- [4] G. I. I. Jang, C. Y. Hwang, and B. C. Cho, "Nitratireductor aquimarinus sp. nov., isolated from a culture of the diatom *Skeletonema costatum*, and emended description of the genus *Nitratireductor*," *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, vol. 61, no. 11, pp. 2676–2681, 2011.
- [5] H. Kojima and M. Fukui, "Sulfuritalea hydrogenivorans gen. nov., sp. nov., a facultative autotroph isolated from a freshwater lake," *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, vol. 61, no. 7, pp. 1651–1655, 2011.
- [6] J. K. Kim, H. J. Lee, Y. Kikuchi, W. Kitagawa, N. Nikoh, T. Fukatsu, and B. L. Lee, "Bacterial cell wall synthesis gene *uppP* is required for burkholderia colonization of the stinkbug gut," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 79, no. 16, pp. 4879–4886, 2013.
- [7] A. Boissière, M. T. Tchioffo, D. Bachar, L. Abate, A. Marie, S. E. Nsango, H. R. Shahbazkia, P. H. Awono-Ambene, E. A. Levashina, R. Christen, and I. Morlais, "Midgut microbiota of the malaria mosquito vector *Anopheles gambiae* and interactions with *Plasmodium falciparum* infection," *PLoS Pathog.*, vol. 8, no. 5, pp. 1–12, 2012.



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЦЕРУЛОПЛАЗМИНА С КОМПЛЕКСОМ ЛАКТОФЕРРИНА И ОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ

А.Ю. Власенко, В.А. Костевич, А.В. Соколов

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»? Лаборатория биохимической генетики

Ранее нами было показано, что катионный трансферрин экзокринных секретов и гранул нейтрофилов, лактоферрин (ЛФ), формирует специфический комплекс с медь-содержащим белком плазмы крови, церулоплазмином (ЦП), *in vivo* и *in vitro* [1]. Для многих белков молока, например альфа-лактальбумина, показано формирование комплексов с олеиновой кислотой (HAMLET) с выраженной активностью против раковых клеток [2]. Недавно цитотоксический комплекс с олеиновой кислотой был описан и для лактоферрина из молока коров [3]. Целью нашей работы было сравнение возможности и специфичности образования *in vitro* и *in vivo* многокомпонентных комплексов, включающих ЛФ (человека и коровы), ЦП и олеиновую кислоту, а также функциональные последствия такого взаимодействия.

В течение 1-5 часов после внутрибрюшинной инъекции крысам ЛФ человека либо ЛФ коровы (100 мг/кг) крысам мы обнаружили увеличение концентрации незэстерифицированных жирных кислот в 1,5-4,2 раза, а также образование гетерологичных комплексов ЦП крыс с ЛФ по данным Вестерн-блоттинга и специфической окраски активности ЦП о-дианизидином. В комплексе ЦП-ЛФ выделенном из сыворотки крыс была обнаружена олеиновая кислота, что подтверждает наше предположение о возможности образования комплекса между ними *in vivo*.

При добавлении раствора олеиновой кислоты в этаноле к ЛФ мы не наблюдали образования мицелл, характерного для смешивания олеиновой кислоты с водой и физиологическим раствором. Титрование ЛФ олеиновой кислотой показало, что один моль ЛФ может связать до 8 моль олеиновой кислоты. При этом ЛФ человека и коровы практически не отличались по способности к связыванию жирной кислоты. Оба комплекса показали практически идентичную аффинность к ЦП по данным электрофореза, поверхностного плазмонного резонанса и аффинной хроматографии на агарозном геле с иммобилизованным ЦП. Комплексы ЛФ с олеиновой кислотой индуцировали гемолиз эритроцитов, апоптоз раковых клеток (HL-60, ТНР-1, Jurkate) и лимфоцитов, выделенных из периферической крови человека. Однако присутствие ЦП в среде предотвращало описанные цитотоксические эффекты. Таким образом, взаимодействие ЦП с комплексом ЛФ и олеиновой кислоты может модулировать его цитотоксическую активность. Исследование поддержано грантом Президента РФ МК-5074.2016.4.

### Список литературы

1. Sokolov, A. V. et al. (2014) *Biometals*. 27, 815-828.
2. Rath, E. M. et al. (2015) *J. Pharm. Parm. Sci.* 18, 773-824.
3. Fang, B. et al. (2014) *Biochim. Biophys. Acta* 1841, 535-543.



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СВОЙСТВ ПЕРФЕКТНЫХ И ИМПЕРФЕКТНЫХ G4

М. Власенок

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Лаборатория искусственного антителогенеза*

Исследования последних лет показали, что наряду с классическими (перфектными) G4 (квадруплексные структуры, представляющие собой стопки G-квартетов, стабилизированные Хугстиновскими водородными связями и стекинг-контактами) G-богатые фрагменты полинуклеотидов способны формировать так называемые имперфектные G4 – квадруплексы с дефектами: мисматчами в квартетах или выпетливаниями между квартетами [1, 2]. В 2015 г с помощью технологии G4-секвенирования (новый метод поиска квадруплексных структур в геноме, сочетающий в себе элементы метода остановки цепной полимеразной реакции – polymerase stop assay – и секвенирования нового поколения Illumina) было обнаружено порядка 716 000 G4 в геноме человека [3]. Из них около 375 000 G4 были предсказаны ранее биоинформатическими методами, в основе которых лежит классическое описание перфектных G4. Оставшиеся 450 000 G4, по-видимому, следует отнести (по крайней мере, частично) за счет имперфектных квадруплексов. Ввиду чрезвычайно высокой встречаемости мотивов имперфектных квадруплексов в геноме, этот сравнительно новый, малоизученный тип структур ДНК представляется актуальным объектом исследования. Для дальнейшего прогресса в области G4-адресованных терапевтических агентов и предсказания возможных неспецифических реакций необходима оценка потенциала имперфектных G4 в качестве геномных мишеней, сравнительный анализ свойств перфектных и имперфектных G4.

Ранее сотрудниками нашей лаборатории и лаборатории биоинформатики был разработан алгоритм поиска геномных G4, учитывающий возможность дефектов в квадруплексных структурах. На выявленных с помощью этого алгоритма последовательностях было изучено взаимодействие перфектных и имперфектных G4 с ключевыми белками – геномными регуляторами. В настоящей работе основное внимание уделено взаимодействию перфектных и имперфектных квадруплексов с низкомолекулярными лигандами. Полученные данные свидетельствуют о том, что основные коммерчески доступные лиганды, применяемые повсеместно для стабилизации и визуализации классических G4 (в том числе *in vivo*), аналогичным образом взаимодействуют с имперфектными G4. В ряде случаев имперфектные структуры продемонстрировали повышенную чувствительность к лигандам. В целом результаты говорят о необходимости учета имперфектных G4 при изучении регуляторных процессов *in vivo* и разработке подходов к коррекции работы генома. Работа поддержана грантом РФФ 14-25-00013.

### Список литературы

- [1] Mukundan et al. JACS 2013, 135(13): 5017-5028
- [2] Li et al. PNAS 2015, 112(47):14581-14586
- [3] Chambers et al. Nature Biotechnol. 2015, 33(8):877-881



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## ЗАВИСИМОСТЬ АКТИВНОСТИ УЧАСТНИКОВ МЕТАБОЛИЗМА ЖЕЛЕЗА, ЦЕРУЛОПЛАЗМИНА И ТРАНСФЕРРИНА ОТ УРОВНЯ ГЛИКИРОВАННОГО ГЕМОГЛОБИНА HbA1c

И.В. Войнова, В.А. Костевич, А.Ю. Власенко, А.В. Соколов

*ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Лаборатория биохимической генетики*

**Введение.** Сахарный диабет второго типа (СД2) – метаболическое заболевание для которого характерна хроническая гипергликемия, к биохимическим проявлениям которой относят увеличение уровня гликированного гемоглобина (HbA1c). Хроническая гипергликемия сопровождается развитием так называемого «карбонильного стресса», разновидности окислительного стресса, опосредованного карбонильными продуктами неферментативного окисления глюкозы, например метилглиоксалем. Окислительному стрессу противостоят антиоксиданты, среди которых важную роль играют медь- и железо-содержащие белки плазмы крови: церулоплазмин (ЦП) и трансферрин (ТФ), соответственно. И ЦП, и ТФ, являются важными участниками метаболизма железа, первый – за счет ферроксидазной активности, а второй – за счет железо-транспортной. Связь степени развития СД2 и изменения функций ЦП и ТФ довольно мало изучена с литературе. Хотя развитие таких осложнений СД2, как трофические язвы, напрямую связаны с изменением оттока железа и эффективно лечатся хелаторами железа.

**Методы.** С помощью традиционных биохимических методов проводили измерение в лизатах эритроцитов уровня HbA1c (HPLC), а в сыворотке крови концентраций и активности ЦП, концентрации ТФ и меди, общей железосвязывающей активности (ОЖСС). Образцы крови были полученных от пациентов диабетического центра Санкт-Петербурга. Показатели разделили на три группы по уровню HbA1c: I группа – 4,50-5,80% (условно здоровые доноры, 110 человек), II группа – 5,90-6,91% (доноры с компенсированным СД2, 194 человека) и III группа – 6,93-14,11% (доноры с некомпенсированным СД2, 60 человек). Проводили дисперсионный анализ измеренных биохимических показателей. Для проверки гипотезы, что анализируемая выборка имеет нормальное распределение, использовали критерий Колмогорова–Смирнова.

**Результаты.** Несмотря на достоверные различия уровня HbA1c ( $p < 0,05$ ) между тремя сформированными группами, не было обнаружено достоверных различий концентраций ЦП, ТФ, меди, ферроксидазной и пара-фенилендиамин-оксидазной активности ЦП и ОЖСС между группами. Однако расчетные показатели, характеризующие удельную активность ТФ (отношение ОЖСС и концентрации трансферрина) и удельную активность ЦП (отношение активного и иммунореактивного ЦП), были достоверно ( $p < 0,05$ ) снижены в группах II и III по сравнению с группой I. Отношение концентрации меди и иммунореактивного ЦП достоверно отличалось ( $p < 0,05$ ) только в группах I и III.

**Выводы.** На основании сравнения полученных данных можно сделать вывод о том, что степень компенсации гипергликемии при СД2, которую принято оценивать по уровню



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

*19–20 апреля 2016*

HbA<sub>1c</sub>, качественно совпадает с изменением удельной активности ТФ и ЦП. Достоверные отличия удельной активности ТФ и ЦП, а также отношения концентрации меди и ЦП у пациентов III группы могут свидетельствовать об их неспособности компенсировать действие карбонильного стресса и гликирования белков, вызванного гипергликемией. Полученные результаты находятся в соответствии с данными об эффективности применения хелаторов железа с целью компенсации трофических язв, осложняющих СД2.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ОРГАНИЗАЦИЯ ПРОМОТЕРОВ У МОЛЛИКУТ

И.А. Гаранина, Г.Ю. Фисунов, Д.В. Евсютина, В.М. Говорун

ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Лаборатория протеомного анализа

Молликуты – это специализированные грам-положительные бактерии, у которых отсутствует клеточная стенка, а их геном значительно редуцирован. Большинство молликут являются паразитами и только небольшая часть из них сапрофиты. Несмотря на свой небольшой геном молликуты обладают высоким адаптивным потенциалом. Молликуты способны паразитировать во множестве различных организмов: растениях, членистоногих и позвоночных, в том числе и человеке.

Значительной редукции у молликут подвергся аппарат регуляции транскрипции. Но это не повлияло на их адаптивные способности. Большинство молликут имеют только 2 общих консервативных транскрипционных фактора в геноме: HrcA – репрессор шаперонов и MraZ – регулятор клеточного цикла. Попытки понять транскрипционную регуляцию у молликут не привели к значительным успехам. Таким образом, нашей целью было разобраться в транскрипционной регуляции молликут на примере их трех представителей – *Acholeplasma laidlawii*, *Spiroplasma melliferum* и *Mycoplasma gallisepticum*.

В данной работе мы провели полногеномное картирование сайтов начала транскрипции *A. laidlawii* и *S. melliferum*, для сравнительного анализа использовались опубликованные ранее данные по регуляции транскрипции у *M. gallisepticum*. Для идентификации стартов транскрипции были получены и проанализированы данные РНК-секвенирования 5'-обогащенных библиотек. Исходя из координат стартов транскрипции, были идентифицированы промотеры генов и определена оперонная структура изучаемых геномов. Мы выяснили, что основной регуляторный элемент -10 бокс имеет схожую последовательность у всех трех видов, так же консервативна дополнительная часть -10 бокса и первый нуклеотид транскрипта. Сравнительно-геномными методами были предсказаны последовательности транскрипционных факторов и их возможные мишени у *A. laidlawii* и *S. melliferum*. Для 34 из 55 транскрипционных факторов, предсказанных в геноме *A. laidlawii*, нам удалось идентифицировать сайты связывания. Большинство сайтов обладают регулярной структурой – состоят из нескольких повторов или палиндромов, и они консервативны между минимум 3 близкородственных видов. Изученные нами транскрипционные факторы контролируют, главным образом, транскрипцию мембранных белков (8 факторов) и метаболических ферментов (13 факторов). Среди этих метаболических ферментов большую часть составляют белки, вовлеченные в метаболизм мембран, клеточной стенки и углеводов. Аналогичный анализ был проделан для *S. melliferum*. При увеличении размера генома возрастает доля транскрипционных факторов в геноме – эта тенденция подтвердилась и для молликут. Таким образом, удалось впервые описать транскрипционную сеть регуляции молликут.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### АДГЕЗИЯ, ИНВАЗИЯ И БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЯ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *E. COLI*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ КРОНА

Р.Б. Городничев, Д.В. Ракитина, П.Л. Щербаков, Ю.П. Бойкова, Е.Н. Ильина

ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Лаборатории молекулярной генетики микроорганизмов

Болезнь Крона – многофакторное воспалительное заболевание кишечника, вызванное чрезмерным иммунным ответом на нарушение кишечной микрофлоры, на фоне генетической предрасположенности и неблагоприятных условий среды. Одним из возможных возбудителей болезни Крона считают особый патовар – адгезивно-инвазивную *E. coli* (AIEC). AIEC выделяют на основании физиологических параметров – в частности, способности к адгезии *in vitro* на эукариотические клеточные линии CaCo2 или I-407 с индексом адгезии превышающим одну клетку *E.coli* на клетку CaCo2 или I-407, способности к инвазии превышающую 0,1% от инокулята, а также повышенной способности образовывать биопленки [1].

Целью исследования явилось изучение физиологических характеристик клинических изолятов *E. coli*, выделенных от пациентов с болезнью Крона. В задачи исследования входили оценка способности этих штаммов к адгезии и инвазии на клеточную линию дифференцированных эпителиальных клеток кишечника CaCo2 и к образованию биопленки на абиогенных поверхностях, и установление возможных взаимосвязей между этими показателями.

Всего были изучены 32 изолята *E. coli*: два лабораторных штамма, два изолята из кала здоровых пациентов и 28 клинических изолятов, полученных из биопсии (16 образцов) и просвета кишечника (12 образцов) трех пациентов. Все образцы были протестированы на способность к адгезии и инвазии на клеточную линию дифференцированных эпителиальных клеток кишечника CaCo2 и на способность формировать биопленки на абиогенных поверхностях. Способность к адгезии и инвазии на клеточную линию CaCo2 исследовали по модифицированной методике [2], культивируя монослой эпителиальных клеток с нормированным количеством исследуемых *E.coli*. Адгезия определялась как разница между показателями «адгезия+инвазия» и «инвазия», поделенная на количество клеток CaCo2 в монослое, и выражалась в КОЕ *E. coli* на клетку CaCo2. Инвазия определялась как процентное отношение количества инвазивных клеток к исходному количеству *E. coli*, инокулированных в начале опыта. Способность образовывать биопленки определялась по стандартной методике с окрашиванием кристаллическим фиолетовым [3]. Измерения проводили на 9-й и 24-й час инкубации, и количественную оценку биопленкообразования производили на фотометре при длине волны.

Все исследованные изоляты *E. coli* показали значительную вариабельность по тестируемым показателям. Основными показателями были выбраны адгезия и инвазия, и, на основании роли этих показателей в определении патотипа AIEC, все исследованные образцы были разделены на несколько групп: адгезивно-инвазивные (с адгезией >2 и инвазией >0,1%), условно адгезивно-инвазивные (с адгезией >1 и инвазией >0,05%),





## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

адгезивные и не инвазивные (с адгезией  $>1$  и инвазией  $<0,1\%$ ), не адгезивные и не инвазивные (с адгезией  $<1$  и инвазией  $<0,1\%$ ). Среди всего пула исследованных изолятов только 6 из 32 (19%) отвечают и 4 из 32 (12,5%) близки к физиологическим параметрам, характерным для AIEC, а большинство изолятов, в т.ч. лабораторные штаммы и изоляты от здоровых пациентов, попадают в группу адгезивных, но не инвазивных *E. coli* 19 из 32 (59%), а 3 из 32 (9%) изолятов попадают в группу не адгезивных и не инвазивных. Способность к формированию биопленки на 9 часах инкубации, в среднем, снижалась с уменьшением способности к адгезии и инвазии. В группу AIEC попали преимущественно *E. coli*, выделенные из биопсий пациентов с болезнью Крона (5/6, 83%) и только один изолят, выделенный из просвета кишечника. В остальных группах образцы, выделенные из биопсии и просвета кишечника, присутствовали примерно в равных долях.

На основании полученных данных следует сделать вывод о том, что AIEC присутствует в микрофлоре пациентов, но не занимает там доминирующего положения. Контрольные штаммы показали высокую способность к адгезии и формированию биопленк, что может говорить об известной относительности подобных физиологических параметров в приложении к классификации патотипов *E. coli*. В целом, полученные данные согласуются с тенденциями, описанными в литературе.

Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории генной инженерии В.Н. Лазареву и В.А. Мануверу за предоставленные клеточную линию CaCo2 и лабораторные штаммы *E. coli*.

### Список литературы

1. Martinez-Medina M., Garcia-Gil L. J. Escherichia coli in chronic inflammatory bowel diseases: An update on adherent invasive Escherichia coli pathogenicity //World J Gastrointest Pathophysiol. – 2014. – Т. 5. – №. 3. – С. 213-227.
2. Liang X., Ji Y. Comparative analysis of staphylococcal adhesion and internalization by epithelial cells //Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Protocols. – 2007. – С. 145-151.
3. Coffey B. M., Anderson G. G. Biofilm formation in the 96-well microtiter plate //Pseudomonas Methods and Protocols. – 2014. – С. 631-641.



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## КЛИНИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ ТЕЧЕНИЯ ДЕМОДЕКОЗА КОЖИ ЧЕЛОВЕКА

А.С. Гревцева

ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования»  
Минздрава РФ

Клещи кожи человека, известные как *Demodex mites*, принадлежат роду *Demodex*, семейству *Demodicidae*, подотряда *Trombidiformes*, отряда *Acariformes*. Вопреки известному факту о том, что клещи рода *Demodex* являются условно-патогенными паразитами, до сих пор с точностью нельзя утверждать, что данный паразит является патогенным для человека, а выявление его на кожных покровах – дерматозоонозом, вопрос о носительстве клеща до сих пор остается открытым [1]. Обсеменение происходит в детском возрасте. В популяции клещи рода *Demodex* встречается в 55-100% случаев, включая пациентов с отсутствием папулопустулезных высыпаний на коже лица [2]. Согласно исследованиям различных авторов, описанных в литературе, существует два клинических варианта течения демодекоза: первичный и вторичный [3, 4]. Первичный демодекоз протекает как самостоятельное заболевание, вторичный – только в сочетании с кожными (акне, розацеа, себорейный дерматит и др.) или другими заболеваниями (лейкоз, ВИЧ-инфекция), при длительном применении топических глюкокортикоидов и ингибиторов кальциневрина. Актуальным является вопрос о частоте ассоциации демодекоза и наиболее частых дерматозов кожи лица (акне и розацеа) и демодекоза, как самостоятельного заболевания.

Цель исследования – выявить частоту распространенности первичного и вторичного демодекоза кожи человека.

**Материалы и методы.** Под наблюдением находились больные акне (n=40) и розацеа (n=40) старше 18 лет с отсутствием соматической патологии. Всем больным был проведен соскоб на наличие клещей *Demodex* с последующей световой микроскопией до и после лечения. В исследование вошли больные, имеющие положительный анализ с наличием клещевой нагрузки более 5 особей на 1см<sup>2</sup>. Противопаразитарное лечение заключалось в назначении метронидазола 250 мг x 2 раза в день внутрь и одновременно наружная терапия в виде мази, содержащей 1% метронидазол 1 раз в день. Курс лечения составил 20 дней.

**Результаты.** Результаты лечения были оценены по данным, полученным после проведения повторного соскоба, а также клинической картине заболеваний. Клинического выздоровления и полной санации при микроскопическом исследовании достигли 63% больных. Патологический кожный процесс на лице в виде первичных и вторичных воспалительных и не воспалительных морфологических элементов (папул, пустул, открытых и закрытых комедонов, милиум, телеангиэктазий) сохранялся при полной лабораторной санации у 31%. В то же время, клиническое выздоровление наблюдалось у 6% больных при сохранении клещей *Demodex* на коже. В таком случае дальнейшее лечение больных нецелесообразно. В структуре диагнозов после проведения антипаразитарного лечения, у больных с диагнозом «Акне» в большинстве случаев (41%) воспалительные элементы на коже лица продолжали сохраняться, при наличии диагноза «Розацеа», напротив, у 27%



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

больных патологический процесс регрессировал. Анализ полученных данных позволил проследить структуру диагнозов акне и розацеа у больных, имеющих вторичный демодекоз. Чаще всего вторичный демодекоз наблюдался у больных акне (33%), а у больных розацеа – диагностировался в 16% случаев.

**Выводы.** Первичный демодекоз наблюдался в большинстве случаев обращения больных с наличием папулопустулезных элементов на коже лица. Вторичный демодекоз чаще регистрировался у пациентов с акне. Клещ может вызывать первичное поражение кожного покрова в виде воспалительных элементов, которые разрешаются после проведения соответствующей антипаразитарной терапии, или осложняют течение таких заболеваний, как акне и розацеа. Достижение больными в большем проценте случаев клинико-лабораторного улучшения при применении препаратов метронидазола доказывает его высокую эффективность. Таким образом, по данным клинических наблюдений, существует необходимость проведения диагностики на наличие клещей Demodex у больных при обращении с наличием клинической картины акнеформных дерматозов.

### Список литературы

1. Baima B., Sticherling M. Demodicidosis revisited. Acta Derm Venereol. 2002; 82:3-6. [PubMed: 12013194]
2. Lacey N., Kavanagh K., Tseng S.C. Under the lash: Demodex mites in human diseases. 2009. Biochem (Lond) 31, 2–6.
3. Бутов Ю.С., Акилов О.Е. Клинические особенности и вопросы классификации демодикоза кожи. Рос журн кожных и венерич бол 2003; №2. с. 53-58.
4. Chen W, Plewig G. Human demodicosis: revisit and a proposed classification. British Journal of Dermatology (2014) 170, pp1219–1225



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ПОВЫШЕНИЯ СПЕЦИФИЧНОСТИ ПОИСКА ИНДЕЛОВ ПО ДАННЫМ ЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ С ПЛАТФОРМЫ ION PROTON

А.Ю. Гришин<sup>1,3</sup>, К.А. Бабалян<sup>1,2,3</sup>, Г.П. Арапиди<sup>1,2,3</sup>, Э.В. Генерозов<sup>2,3</sup>, В.М. Говорун<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>*Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова  
РАН*

<sup>2</sup>*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА*

<sup>3</sup>*Московский физико-технический институт (Государственный университет)*

Вставки и делеции (инделлы) – самые распространенные структурные вариации, связанные с развитием болезней. Переход к персонализированной медицине с целью более эффективного обнаружения и лечения патологий невозможен без технологий, позволяющих быстро и недорого предоставить информацию о геноме. Это спровоцировало развитие технологий секвенирования нового поколения (NGS). Появление платформы Ion Proton позволило проводить экзомное секвенирование быстрее и дешевле, однако точность поиска инделлов на этой платформе не удовлетворяет современным требованиям медицинской диагностики. Причина этого — склонность секвенатора к ошибкам в гомополимерных областях, что приводит к значительному количеству ложно определенных инделлов.

Для определения правильности детекции инделлов в работе использовался подход машинного обучения. В качестве тренировочных данных, на которой обучалась модель, были использованы образцы, проанализированные GIAB (Genome in a Bottle Consortium), семьи Ashkenazim (экзомы трех человек) и NA12878 (один экзом), для которых доступна информация о достоверно присутствующих в экзоме инделах. Были проанализированы распределения различных параметров инделлов для выявления паттернов характерных для ложно определенных инделлов. После подготовки и нормализации данных была проведена оптимизация гиперпараметров нескольких типов моделей (случайный лес, логистическая регрессия, градиентный бустинг деревьев, дерево решений). На основе перекрестной проверки на тренировочных данных (~400000 потенциальных инделлов) были определены наиболее эффективные алгоритмы.

На основе предложенных в работе характеристик инделлов была построена модель классификации. Для валидации модели использовались 2 образца, для которых были валидированы 14 инделлов на чипах Atlas. Итоговая модель верно классифицировала все 14 инделлов, отфильтровав неподтвержденные чипированием.

Основываясь на параметрах инделлов, наиболее важными среди которых при обучении оказались параметры, характеризующие значимость смещения параметров инделлов между цепями и вариация длины вставки/делеции, с помощью алгоритма случайный лес была построена модель с высоким показателем специфичности для поиска инделлов по данным экзомного секвенирования с платформы Ion Proton.



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

*19–20 апреля 2016*

## **Список литературы**

1. Fang H. et al. Reducing INDEL calling errors in whole genome and exome sequencing data //Genome Med. – 2014. – Т. 6. – №. 10. – С. 89.
2. Bragg L. M. et al. Shining a light on dark sequencing: characterising errors in Ion Torrent PGM data //PLoS Comput Biol. – 2013. – Т. 9. – №. 4. – С. E1003031.
3. Yeo Z. X. et al. Improving indel detection specificity of the Ion Torrent PGM benchtop sequencer //PLoS One. – 2012. – Т. 7. – №. 9. – С. e45798.



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## РОЛЬ И МЕСТО СОВРЕМЕННЫХ ИНФОРМАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В УЛУЧШЕНИИ КАЧЕСТВА ГЕМОДИАЛИЗА

И.А. Демченко

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Отделение гемодиализа КБ № 123*

**Актуальность работы.** Внедрение компьютеризированных методов контроля и анализа за проведением заместительной почечной терапии для улучшения диагностики и лечения у больных с терминальной почечной недостаточностью с оценкой их эффективности

**Цель.** Изучение эффективности использования системы мониторинга «ДИАСКАН™», входящего в состав программно-аппаратного комплекса «INNOVA-EXALIS» (GAMBRO), в оценке качества диализной терапии

**Материал и методы.** В группу включены все пациенты за 8 лет и 7 месяцев.

139 стабильных пациентов с ТХПН (93 мужчин и 46 женщин)

Средний возраст больных:  $54 \pm 3,6$  (31–80) года

Средняя масса тела:  $72,6 \pm 10,3$  (49–121) кг

Диализный стаж: от 1 до 19 лет

Летальность составила 4,26%(4), трансплантация почки выполнена 17,9% (16).

Осложнения гемодиализа за 1 год-8,8%, в среднем – 3,6%. Все пациенты медицински и социально реабилитированы, 26,7% продолжают работать.

**Результаты и обсуждение.** В течение восьми лет в отделении используется компьютерная система управления диализом «Экзалис». Это позволило в 1,6 раза улучшить показатели эффективности гемодиализа в отделении, дало чёткое представление о факторах, влияющих на эффективность лечения и инструменты управления этими факторами [3].

В базе данных системы сохраняются все параметры каждого гемодиализа, они подвергаются многоуровневой статистической обработке с получением данных по любому пациенту, любой группы пациентов и средних по отделению за любой период времени. Компьютерная система «Экзалис» обеспечивает контроль и протоколирование основных параметров гемодиализа, состояния пациента, эффективности очистки крови и удаления избыточной жидкости в режиме он-лайн. Это позволяет полностью отказаться от сохранения данных на бумажных носителях, просмотр полной картины любого гемодиализа возможен в любой момент времени[1].

Организация системы даёт каждому из участников свои инструменты наблюдения, управления, контроля, анализа, реализуется принцип разделения функций и ответственности. Каждый занимается своим делом, получает инструмент для решения своих задач, действия каждого оптимизированы. Освобождается рабочее время, так необходимое медсестре для работы с пациентом, врачу – для внимательной оценки клинической ситуации и повышения эффективности лечения, заведующему – для контроля, анализа и планирования работы отделения, но больше всех при данных подходах выигрывает пациент. Он получает более качественное, индивидуализированное диализное лечение, больше внимания со стороны персонала. Течение процедуры и состояние пациента тщательно



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

мониторятся. И, что особенно важно, процедура становится во многих отношениях безопаснее.

Повышение качества лечения, в свою очередь, влечет за собой улучшение таких показателей, как продолжительность жизни на диализе и частота осложнений. Безопасность процедуры не менее важна, чем ее эффективность, вопросы безопасности приоритетны. От того, как мы обеспечим комфортность процедуры и безопасность пациента во время диализа, напрямую зависит качество его жизни, возможность медицинской социальной и профессиональной реабилитации.

За счет упрощения работы с оборудованием и автоматизации рутинных процедур снимается большая часть забот и ответственности по контролю работы диализных аппаратов. При этом у медсестры, работающей в диализном зале, появляется больше возможностей для непосредственной работы с пациентами. Значительно повышается безопасность работы медперсонала.

Параллельно с усложнением диализных аппаратов усложнялось управление ими. Поэтому зачастую врачи не пользуются многими функциями, призванными улучшить качество диализного лечения, несмотря на их наличие в аппаратах. За счет удобства и простоты управления этими функциями Exalis позволяет полностью использовать потенциал повышения качества процедуры, заложенный в Innova. Настройка параметров процедуры, которая производилась вручную на аппарате перед подключением, теперь может быть произведена заранее и прямо в ординаторской. С помощью удобного графического интерфейса программы врач легко может задать параметры будущей процедуры, учесть индивидуальные особенности пациента, используя все возможности аппарата. Врач может контролировать ход диализа и анализировать его результаты, появляется возможность оперативно реагировать на требующие вмешательства ситуации.

Заведующий отделением получает в свои руки мощный инструмент контроля хода процедур, работы аппаратуры, действий персонала. Не выходя из своего кабинета, он может видеть работу каждого аппарата, текущие показатели и изменение состояния пациентов, действия, предпринимаемые персоналом. Информация приходит к нему в полном объеме и без какой-либо задержки.

Заведующий также получает средство автоматизации составления и печати отчетов, анализа эффективности работы отделения. Например, все данные об использовании расходных материалов могут быть получены, суммированы и распечатаны автоматически.

Каждая группа пользователей имеет возможность обращаться к системе прямо на своём рабочем месте. Отдельные диализные центры могут объединять свои данные для анализа, тем самым гемодиализная служба ФМБА получает возможность тщательного сравнительного анализа работы как каждого своего отделения, так и всей службы. Это позволит позиционировать себя в масштабах государственной медицины, Министерства здравоохранения России, Европы и мира.

Система «ИННОВА-ЭКЗАЛИС» живая, развивающаяся современная IT-технология. Мы уже преобразовали нашу базу данных под мощный SQL-сервер, работа с которым позволит запустить новые аналитические блоки, которые позволят системе вариантный анализ, а значит и возможность консультативного прогнозирования. Современные медицинские технологии позволяют путём мониторинга, накопления и анализа данных о каждом



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

пациенте и гемодиализе существенно улучшить качество гемодиализной терапии. Заканчивая хотелось призвать к развитию данной технологии путём интеграции в системе ФМБА.

**Выводы.** Использование компьютерной системы управления гемодиализом «Exalis» улучшает организацию работы отделения, качество заместительной почечной терапии, сохраняет базу данных работы отделения неограниченное время, позволяет бумажный оборот документов. Целесообразно внедрение в отделении следующее поколение компьютерной системы управления гемодиализом «Максимус».

### Список литературы

1. Руководство по организации работы с компьютерной управляющей системой «ЭКЗАЛИС» Гамбро 2005 г.
2. Краткая характеристика мультивариантного анализа в системе «МАКСИМУС» Гамбро 2011 г.
3. Первые итоги работы отделения гемодиализа с системой «ИННОВА-ЭКЗАЛИС» Мельников В. М. Клиническая больница №123 ФМБА России, г. Одинцово, 2009 г.





## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### APЕ1 В РЕПАРАЦИИ ПОВРЕЖДЕНИЙ В СРG ДИНУКЛЕОТИДАХ

Н.С. Дырхеева<sup>1,2</sup>, А. Sassa<sup>1</sup>, М. Çağlayan<sup>1</sup>, W.A. Beard<sup>1</sup>, B.D. Freudenthal<sup>1</sup>, M.J. Cuneo<sup>1</sup>,  
О.И. Лаврик<sup>2</sup>, S.H. Wilson<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Structural Biology, NIEHS, NIH, RTP, NC, USA

<sup>2</sup>ЛБХФ, ИХБФМ СО РАН, Новосибирск, Россия

Модификации CpG динуклеотидов являются эпигенетическим механизмом контроля экспрессии генов. Одним из типов модификаций является метилирование остатка цитозина до 5-метилцитозина (5-mC) и обратное деметилирование. Известно, что 5-mC в ДНК спонтанно дезаминируется с образованием неканонической пары T:G (мисматч), и это может привести к транзиции C→T [1]. Тимин-ДНК-гликозилаза (TDG) инициирует процесс эксцизионной репарации оснований, направленный на исправление мисматч, специфично отщепляя тимин в составе T:G [2]. Продуктом реакции в случае CpG является апуриновый/апириимидиновый (AP-) сайт с 5'-стороны от 8-охоG (APp8-охоG).

Другой возможной модификацией CpG динуклеотида является окисление остатка гуанина до 7,8-дигидро-8-оксогуанина (8-охоG). Модифицированное основание 8-охоG может образовывать водородные связи в паре с аденином, и если 8-охоG остается в геноме во время репликации, ДНК-полимеразы ошибочно вставляют А напротив 8-охоG, что приводит к трансверсии G→Т. В клетках млекопитающих 8-охоG удаляется специфической ДНК-гликозилазой, которая распознает 8-охоG в паре с цитозином [3] в двухцепочечной ДНК и в случае CpG отщепляет поврежденное основание с образованием AP-сайта с 3'-стороны от тимина (TrAP).

На сегодняшний день немного известно о репарации модифицированных CpG динуклеотидов, например, Tr8-охоG. В начале процесса репарации Tr8-охоG возможны два варианта, в первом инициирует репарацию TDG, выщепляя тимин (с образованием APp8-охоG), а во втором – OGG1, выщепляя 8-охоG (с образованием TrAP). AP-эндонуклеаза 1 человека (APE1) – многофункциональный фермент, одной из основных его функций является расщепление цепи ДНК в процессе BER путем гидролиза фосфатной связи с 5'-стороны от AP-сайта [4].

Мы изучили влияние APE1 и 5'-T:G пары на активность OGG1. Было получено, что APE1 не стимулировала активность OGG1, в отличие от контрольной структуры без 5'-T:G мисматч. Таким образом, APE1 не способна вытеснить OGG1 при наличии 5'-T:G мисматч. В результате образуется AP-сайт содержащая структура TrAP. На такой структуре была исследована активность расщепления AP-сайта с помощью APE1. Скорость расщепления по AP-сайту для структуры с 5'-T:G мисматч была во много раз ниже, чем для структуры с канонической 5'-C:G парой. Таким образом, путь репарации Tr8-охоG, в котором первым ферментом выступает OGG1, является тупиковым и не приводит к репарации динуклеотида [5].

При изучении влияния APE1 и 3'-8охоG:C пары на активность TDG на структуре с двойным повреждением Tr8-охоG было показано, что скорость гликозилазной реакции, катализируемой TDG, значительно повышалась в присутствии APE1, однако для структуры с 8-охоG:C парой стимулирующий эффект был снижен по сравнению с G:C парой. Таким



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

образом, если TDG первой обрабатывает T:G мисматч с 3'-8охоG, далее TDG остается связанной с AP-сайт содержащим продуктом и предотвращает последующее выщепление 8-охоG с помощью OGG1. APE1 способна расщепить AP-сайт в составе APp8-охоG, и репарация далее завершается с помощью ДНК-полимеразы и ДНК-лигазы. В результате в структуре ДНК остается пара 8-охоG:C, которая затем может быть исправлена с помощью OGG1 [5].

Поскольку присутствие T:G мисматч с 5'-стороны от AP-сайта значительно снижало скорость реакции, катализируемой APE1, было интересно определить, как сказывается наличие 5'-T:G мисматч на геометрии связывания ДНК в активном центре APE1. С помощью рентгеноструктурного анализа были получены структуры комплексов AP-сайт содержащих ДНК с APE1 [6]. Была получена структура комплекса неактивного двойного мутанта APE1 (E96Q D210N) с нерасщепленным ДНК-субстратом с T:G мисматч с 5'-стороны от AP-сайта, а также структура комплекса APE1 с аналогичным ДНК-продуктом эндонуклеазного расщепления. Анализ структур показал наличие двух конформаций при связывании фермента с ДНК-субстратом, в одной из которых (*wobble*) потеряны контакты с несколькими остатками, по сравнению со структурой комплекса APE1-ДНК без мисматч. Видимо, из-за этого активность APE1 на структуре TrAP с 5'-T:G значительно снижена. При анализе структуры комплекса APE1 с ДНК-продуктом обнаружена только одна конформация (*wobble*), и это, видимо, соответствует тому, что комплекс APE1-ДНК не диссоциирует, пока не произойдет расщепление и не образуется данная конформация.

### Список литературы

1. Shen J. C. et al. (1994) *Nucleic Acids Res.* 22, 972–976.
2. Wiebauer K., and Jiricny J. (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 87, 5842–5845.
3. Rosenquist T. A. et al. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94, 7429–7434.
4. Дырхеева Н.С. и др. (2007) *Молекулярная биология.* 41(3), 450-466.
5. Sassa A. et al. (2014) *J. Biol. Chem.* 289(20), 13996-14008.
6. Freudenthal B.D. et al. (2015) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 22(11), 924-931.



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ ФАКТОРОВ РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ У *Mycoplasma gallisepticum*

Д.В. Евсютина, О.В. Побегуц, В.А. Манувера, Г.Ю. Фисунов

ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Лаборатория протеомного анализа

Представители бактерий класса Mollicutes обладают самым маленьким по размеру геномом (0,5–1,5 млн п.н.) среди известных организмов, способных к самостоятельной репликации своего генетического материала. Подобное свойство делает их удобным объектом для исследования на системном уровне. Несмотря на интенсивное изучение транскриптома, протеома и метаболома этих организмов, а также общей организации процессов у микоплазм, остаются не выяснены довольно важные аспекты. Вместе с редукцией генома произошло уменьшение репертуара регуляторов экспрессии генов, но, несмотря на это, микоплазмы сохранили способность адаптироваться к изменяющимся условиям среды. Механизмы, обеспечивающие такую адаптационную пластичность на разных уровнях передачи генетической информации, для микоплазм остаются не раскрыты. У патогенной бактерии *Mycoplasma gallisepticum*, вызывающей респираторные заболевания птиц, известны и экспериментально подтверждены мишени для двух транскрипционных факторов (ТФ-ов) — репрессора HrcA генов теплового стресса и активатора генов клеточного деления MraZ. С помощью биоинформатического анализа предсказано наличие восьми факторов регуляции транскрипции, однако мишени этих регуляторов не найдены. Осложняет работу с ТФ-ами микоплазм отсутствие гомологичных белков у модельных организмов – *E. coli*, *B. subtilis*. Целью работы являлся идентификация сайтов связывания и/или мишеней трёх возможных ТФ-ов *M. gallisepticum* – YebC, YlxM, GntR.

Было применено два подхода. Для белков YlxM, GntR использовали метод SELEX. Была сконструирована библиотека олигонуклеотидов длиной 45 оснований, где фланкирующие с каждой стороны 15 н.о. были комплементарны последовательностям для секвенирования по технологии SOLiD, а центральные 15 н.о. – случайные последовательности. Далее проводили связывание целевого белка, полученного с рекомбинантной молекулы ДНК в кишечной палочке, с библиотекой ДНК фрагментов и анализировали методом торможения ДНК в полиакриламидном геле. Фракцию фрагментов ДНК, с которой взаимодействовал белок, экстрагировали из геля, амплифицировали и снова подвергали связыванию с белком. Для каждого белка провели по четыре раунда обогащения исходной библиотеки. Конечную фракцию секвенировали и провели биоинформатический поиск мотивов, представленных в образцах. Для каждого белка было отобрано по четыре мотива для дальнейшего подтверждения специфического взаимодействия.

Второй подход, использованный в работе, заключался в получении трансформантов *M. gallisepticum* со сверхэкспрессией генов предполагаемых регуляторов — *yebC* и *ylxM* и затем сравнении протеома трансформанта и исходного штамма микоплазмы методом двумерного электрофореза. Полученные результаты указывают на узкую специализацию рассмотренных транскрипционных факторов. Работа поддержана грантом РФ (№ 14-24-00159)



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## РОЛЬ ТОКСИН-АНТИТОКСИНОВЫХ СИСТЕМ В ФОРМИРОВАНИИ ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ *MYCOBACTERIUM SMEGMATIS* К ТЕТРАЦИКЛИНУ

М.В. Замахаев, А.В. Гончаренко, М.С. Шумков

ФИЦ Биотехнологии РАН, Лаборатория биохимии стрессов микроорганизмов

Как известно, одной из основных проблем при лечении туберкулеза является резистентность возбудителя заболевания – *Mycobacterium tuberculosis* – к большинству известных антибактериальных препаратов. Существует два типа антибиотикорезистентности у бактерий: наследуемая (обусловлена наличием генов устойчивости к антибиотикам) и фенотипическая, которая носит ненаследуемый характер и, как правило, является следствием пребывания клеток в состоянии персистенции.

Ранее было показано, что в формировании состояния покоя микобактерий важную роль играют токсин-антитоксиновые (ТА) системы. В частности, это было доказано в отношении системы *varBC* на примере быстрорастущего непатогенного родственника возбудителя туберкулёза *Mycobacterium smegmatis*. Однако, имеются литературные данные, что токсин-антитоксиновые системы участвуют и в процессах, обуславливающих программируемую клеточную смерть. В связи с этим, возникает предположение, что в условиях стресса (в частности, под действием антибиотиков) токсин-антитоксиновые системы могут дополнительно стимулировать гибель клеток в культуре. Таким образом, целью работы стало изучение физиологических эффектов, вызываемых токсин-антитоксиновыми системами в присутствии антибиотиков.

Для проверки гипотезы об участии токсин-антитоксиновых систем *Mycobacterium smegmatis* в формировании фенотипической устойчивости к антибиотикам (персистенции) были сконструированы штаммы *M. smegmatis* с делециями каждого ТА-локуса (*ΔvarBC*, *ΔmazEF*), двух ТА-локусов (*ΔvarBCΔmazEF*), а также штаммы с гиперэкспрессией токсинов *MazF*, *VarC*; антитоксинов *MazE* и *VarB*.

В качестве тестируемого антибиотика на данном этапе работы был выбран тетрациклин, для него были подобраны диапазоны концентраций и временные диапазоны воздействия, позволяющие оценивать количество персистирующих форм в бактериальной культуре. Параллельно проводился контроль появления мутаций, обеспечивающих генетически обусловленную антибиотикоустойчивость. Персистообразование оценивалось по количеству бактерий, выживших после обработки антибиотиками. Количество выживших бактерий подсчитывалось как число колониеобразующих единиц (КОЕ).

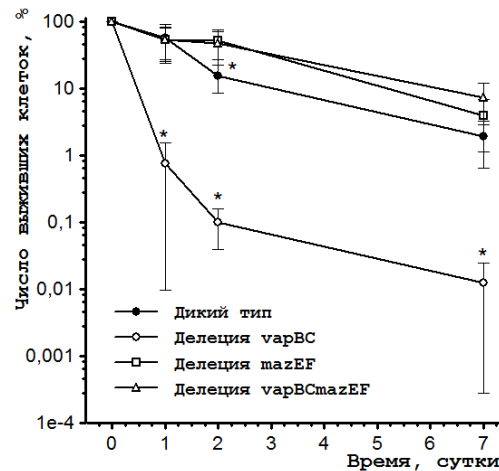
Проведено исследование способности к персистообразованию делеционных штаммов по сравнению со штаммом *M. smegmatis* дикого типа и штаммов с гиперэкспрессией антитоксинов по сравнению со штаммом *M. smegmatis*, несущим пустую плазмиду. Изучено влияние тетрациклина на экспрессию ТА-локусов методом ПЦР в реальном времени. Обнаружено, что:



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

1) Штамм с делецией локуса *varBC* продемонстрировал снижение количества выживших клеток по сравнению с диким типом более чем на два порядка (рис. 1).



**Рис. 1.** Динамика изменения числа персистеров *M. smegmatis* под действием тетрациклина с концентрацией 5 мкг/мл.

2) Делеция локуса *mazEF* не привела к изменениям количества персистирующих клеток по сравнению со штаммом дикого типа.

3) Введение второй делеции по *mazEF* локусу в штамм с делецией *varBC* локуса привело к восстановлению способности выживать под действием тетрациклина, аналогично штамму дикого типа.

4) Штаммы с экспрессией антитоксинов MazE и VarV обнаружили большее выживание после инкубации с антибиотиком, по сравнению с контрольным штаммом.

5) Добавление антибиотика в среду культивирования приводит к увеличению экспрессии ТА-локусов, что также подтверждает наше предположение о вовлеченности ТА-локусов в ответ на воздействие антибиотиков.

Таким образом, полученные данные подтверждают гипотезу об участии ТА-локусов в формировании фенотипической устойчивости микобактерий к тетрациклину.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 15-04-04900 А и № 16-04-01118 А.

## Список литературы

1. E. Maisonneuve and K. Gerdes, "Review Molecular Mechanisms Underlying Bacterial Persisters," *Cell*, vol. 157, no. 3, pp. 539–548, 2014.
2. M. Belitsky, H. Avshalom, A. Erental, I. Yelin, S. Kumar, N. London, M. Sperber, O. Schueler-Furman, and H. Engelberg-Kulka, "The Escherichia coli extracellular death factor EDF induces the endoribonucleolytic activities of the toxins MazF and ChpBK," *Mol. Cell*, vol. 41, no. 6, pp. 625–35, Mar. 2011.
3. J. L. McKenzie, J. Robson, M. Berney, T. C. Smith, A. Ruthe, P. P. Gardner, V. L. Arcus, and G. M. Cook, "A vapbc toxin-antitoxin module is a posttranscriptional regulator of metabolic flux in mycobacteria," *J. Bacteriol.*, vol. 194, no. 9, pp. 2189–2204, 2012.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ: ПРОЯСНЕНИЕ РОЛИ МЕТИЛИРОВАНИЯ CpG В НЕКАНОНИЧЕСКИХ СТРУКТУРАХ

Е. Исаакова

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Лаборатория искусственного антителогенеза*

В 2011 г группой американских исследователей была выдвинута гипотеза о том, что aberrantное гипометилирование в геномных участках, обогащенных G-квадруплексными (G4) мотивами, может служить мутагенным фактором, предопределяющим развитие онкологических заболеваний. Анализ распределения разрывов ДНК, ассоциированных с вариациями числа копий генов (SCNA – полиморфизмы, являющиеся результатом делеций и дупликаций в соматических клетках), проведенный на 2700 образцах опухолей от 26 различных типов рака, выявил высокое содержание G4-мотивов в областях кластеризации таких разрывов [1]. Примечательно, что области SCNA-разрывов, по данным американской группы, коррелируют также с участками аномального метилирования CpG. На основании этих наблюдений был предложен вероятный механизм развития патологии:

- случайный эпигенетический сбой меняет тканеспецифичный паттерн метилирования, характерный для популяции нормальных клеток;
- гипометилирование вблизи G4-мотива благоприятствует G4-фолдингу (гипометилированные участки свободны от нуклеосом, следовательно, в присутствии белков-стабилизаторов неканонических структур, а также при репликации, транскрипции, либо локальном расплетении дуплекса из-за сверхспирализации возможно формирование квадруплекса и/или I-мотива (IM) в противоположающей цепи);
- формирование неканонических структур в участках ДНК, находящихся в норме в B-форме, повышает вероятность дальнейших нарушений (известно, что G4 являются “горячими точками” геномной [2] и эпигенетической [3] нестабильности).

Неясным на сегодняшний момент остается влияние метилирования CpG непосредственно в G4-мотиве или C-богатом участке противоположающей цепи на равновесие ‘B-ДНК – неканоническая форма’. В настоящей работе проведен анализ сравнительной термодинамической стабильности неканонических структур и соответствующих дуплексов в метилированном и неметилированном вариантах. Рассмотрены эффекты различных типов метилирования: в плоскости ядра IM; петле G4/IM и на границе плоскость/петля, а также степени метилирования (единичный Me-CpG сайт или несколько в пределах одного GQ/IM). Анализ проводился на модельных последовательностях и фрагментах генома, дифференциально метилированных в норме и при колоректальном раке. Данные по дифференциальному метилированию в норме/ при патологии были получены сотрудниками Лаборатории молекулярной генетики человека.

Работа поддержана грантом РФФИ 14-25-00013.



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

*19–20 апреля 2016*

## **Список литературы**

- [1] De et al. Nature Structural & Molecular Biology 2011, 18: 950–955
- [2] Zybailov et al. Molecular Biology 2013, 47(2): 197-204
- [3] Cea et al. Front Genet. 2015, 6: 209



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ВЛИЯНИЕ ПЕНТИЛЕНТЕТРАЗОВОГО КИНДЛИНГА НА ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ НЕОКОРТЕКСА КРЫС, ПЕРЕНЕСШИХ ПРЕНАТАЛЬНУЮ ГИПОКСИЮ

Д.С. Калинина<sup>1</sup>, М.А. Черныш<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт эволюционной биохимии и физиологии Российской академии наук (ИЭФБ РАН),  
Лаборатория сравнительной физиологии и патологии ЦНС;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет

Известно, что нарушение плодно-плацентарного кровообращения, патологические состояния беременной женщины или плода могут вызвать пренатальную и перинатальную гипоксию мозга будущего ребенка, что, в свою очередь, может привести к отклонениям в развитии его нервной системы и развитию неврологических патологий (Watson et al., 1999). У экспериментальных животных острая пренатальная гипоксия приводит к нарушениям структуры клеточной мембраны нейронов, изменяет активность натрий-калиевой АТФ-азы и увеличивает концентрацию внутриклеточного кальция, нарушает формирование синаптического аппарата и баланс активности медиаторных систем в мозге. Есть основание предполагать, что эти нарушения могут привести также к изменению электрической активности мозговых структур в постнатальном онтогенезе (Curtis et al., 2014).

Эпилепсия представляет собой гетерогенную группу заболеваний и синдромов, характеризующейся стойкой предрасположенностью к генерации чрезмерной синхронизации нейронных разрядов (Fisher et al., 2005). Существует множество моделей для исследования различных видов эпилепсий, одной из которых является модель, основанная на эпилептогенном действии пентилентетразола (ПТЗ), который является неконкурентным антагонистом в отношении барбитурового сайта ГАМКА-рецептора Cl<sup>-</sup>-ионофорного комплекса (Löscher et al., 2011).

Исходя из вышесказанного, исследование роли пренатальной гипоксии в эпилептогенезе в модельных экспериментах на животных представляется актуальной задачей экспериментальной неврологии. Цель данной работы – изучить электрическую активность неокортекса крыс, перенёсших пренатальную нормобарическую гипоксию (3 часа при 7,0 % концентрации) на 14-й день эмбрионального развития, то есть, в период интенсивной пролиферации и миграции клеток корковых отделов мозга эмбриона.

Беременных самок крыс линии Wistar на 14-е сутки беременности подвергали воздействию нормобарической гипоксии в течение 3 часов (концентрация CO<sub>2</sub> 0,2%, концентрация O<sub>2</sub> 7,0%) . Животных контрольной группы на 3 ч помещали в камеру при нормальной концентрации O<sub>2</sub>. В исследованиях использовалось потомство этих крыс (самцы) в возрасте 3 месяцев. Все операционные процедуры проводили под общим наркозом (золетил 100 мг/кг) и с применением местной анестезии (новокаин 0,5%). Для регистрации электрокортикограммы (ЭКоГ) крысам под операционным наркозом (золетил 100 мг/кг) в область фронтального неокортекса билатерально были вживлены два блока по 4 стальных электрода в каждом на глубину до 1 мм; индифферентный электрод был вживлён над мозжечком. Эпилептиформная спайк-волновая активность индуцировалась в ходе 3-





## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

часовых хронических экспериментов, в течение которых крысы свободно передвигались в пределах экспериментального бокса повторяющимися каждые 15 минут подкожными инъекциями ПТЗ в дозировке 10 мг/кг до достижения генерализованного приступа эпилептиформной спайк-волновой активности (СВА).

Полученные данные показали, что эпилептиформная активность, вызванная повторяющимися инъекциями ПТЗ, различалась по своим характеристикам. Количество инъекций необходимых для достижения генерализованного приступа СВА у крыс, перенесших пренатальную гипоксию, оказалось достоверно ниже и составило  $3,7 \pm 0,52$  инъекций, в то время как крысам контрольной группы необходимо  $5,5 \pm 0,42$  инъекций для достижения того же состояния. Средняя частота следования отдельных комплексов «спайк-волна» внутри эпизодов СВА оказалась достоверно выше у крыс, перенесших пренатальную гипоксию, по сравнению с контролем, в то время как средняя длительность эпизодов эпилептиформной активности оказалась ниже. Также были выявлены различия в спектральных характеристиках приступов СВА. Было показано смещение преобладающих частот у крыс, перенесших пренатальную гипоксию, в низкочастотную часть спектра при одинаковой мощности по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, можно заключить, что у крыс, перенесших пренатальную гипоксию, эпилептическая активность имеет менее выраженный характер, что возможно свидетельствует о том, что существуют компенсаторные механизмы ГАМК-эргической системы.

### Список литературы

1. Curtis D. J., Sood A., Phillips T. J., Leinster V. H. L., Nishiguchi A., Coyle C. et al. "Secretions from placenta, after hypoxia/reoxygenation, can damage developing neurones of brain under experimental conditions." *Experimental Neurology* (2014). 261: 386-395.
2. Fisher, R. S., van Emde Boas W., Blume W., Elger C., Genton P., Lee P. and Engel J. Jr. "Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE)." *Epilepsia* (2005). 46(4): 470-472.
3. Löscher W. "Critical review of current animal models of seizures and epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drugs." *Seizure* (2011). 20(5):359–368.
4. Watson, J. B., Mednick S. A., Huttunen M., Wang. X. "Prenatal teratogens and the development of adult mental illness." *Development and Psychopathology* (1999). 11(3): 457-466.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ИДЕНТИФИКАЦИЯ ХИМЕРНЫХ ТРАНСКРИПТОВ ПРИ РАКЕ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ НА ОСНОВАНИИ ДАННЫХ РНК-СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Т. Кекеева, А. Танас, А. Каныгина, Д. Алексеев, А. Шикеева, Л. Завалишина, Ю. Андреева, Г. Франк, Д. Залетаев

*Московский физико-технический институт, Лаборатория системной биологии*

Уротелиальная карцинома является наиболее часто диагностируемой разновидностью рака мочевого пузыря и вторым по частоте встречаемости типом урогенитальных опухолевых заболеваний. Химерные гены являются одним из факторов, вносящих значительный вклад в развитие таких опухолей, поэтому их идентификация и классификация представляет большой научный и клинический интерес.

В данной работе представлен анализ 3 образцов уротелиальной карциномы с целью идентификации ранее не описанных химерных транскриптов с использованием данных высокопроизводительного РНК-секвенирования. Для поиска таких транскриптов применялся набор биоинформатических алгоритмов, позволяющих идентифицировать как уже известные, так и не описанные ранее транскрипты. В результате анализа было идентифицировано 819 потенциальных химерных транскриптов, из которых в соответствии с различными критериями 10 были отобраны для последующей экспериментальной валидации с использованием ПЦР в реальном времени. Было идентифицировано 4 химерных транскрипта (*SEPT9/CYHR*, *IGF1R/TTC23*, *SYT8/TNNI2* и *CAZ1/DFFA*), которые ранее не упоминались в литературе. Дополнительно было исследовано наличие этих транскриптов в 48 образцах рака мочевого пузыря (архивные срезы опухолевых тканей, FFPE). Транскрипты *SEPT9/CYHR*, *IGF1R/TTC23* и *CAZ1/DFFA* не были идентифицированы ни в одном из этих образцов, что дает основания считать их редкими либо уникальными, в то время как транскрипт *SYT8/TNNI2* был идентифицирован в 37.5% (18 из 48) образцов.

#### Список литературы

1. R. Siegel, K. Miller, A. Jemal, Cancer statistics, CA Cancer J. Clin. 65 (2015) 5–29, doi:10.3322/caac.21254.
2. B. Schmitz-Dräger, M. Droller, V. Lokeshwar, Y. Lotan, M.A. Hudson, B.W. van Rhijn, et al., Molecular markers for bladder cancer screening, early diagnosis, and surveillance: the WHO/ICUD consensus, Urol. Int. 94 (2015) 1–24, doi:10.1159/000369357.
3. F. Sanguedolce, A. Cormio, P. Bufo, G. Carrieri, L. Cormio, Molecular markers in bladder cancer: novel research frontiers, Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. 52 (2015) 242–255, doi:10.3109/10408363.
4. S. Zhang, Y. Liu, Z. Liu, C. Zhang, H. Cao, Y. Ye, et al., Transcriptome profiling of a multiple recurrent muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder by deep sequencing, PLoS ONE 9 (2014) e91466, doi:10.1371/journal.pone.0091466.
5. F. Mitelman, B. Johansson, F. Mertens, The impact of translocations and gene fusions on cancer causation, Nat. Rev. Cancer 7 (2007) 233–245.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

6. S. Williams, C. Hurst, M. Knowles, Oncogenic FGFR3 gene fusions in bladder cancer, *Hum. Mol. Genet.* 22 (2013) 795–803, doi:10.1093/hmg/dds486.
7. J. Weinstein, R. Akbani, B. Broom, W. Wang, R.G. Verhaak, D. McConkey, et al., Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma, *Nature* 507 (2014) 315–322.
8. C. Maher, C. Kumar-Sinha, X. Cao, S. Kalyana-Sundaram, B. Han, X. Jing, et al., Transcriptome sequencing to detect gene fusions in cancer, *Nature* 458 (2009) 97–101.228
9. C. Giacomini, S. Sun, S. Varma, A.H. Shain, M.M. Giacomini, J. Balagtas, et al., Breakpoint analysis of transcriptional and genomic profiles uncovers novel gene fusions spanning multiple human cancer types, *PLoS Genet.* 9 (2013) e1003464, doi:10.1371/journal.pgen.1003464.
10. K. Yoshihara, Q. Wang, W. Torres-Garcia, S. Zheng, R. Vegesna, H. Kim, et al., The landscape and therapeutic relevance of cancer-associated transcript fusions, *Oncogene* 34 (2015) 4845–4854.



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## ОПЫТ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ПЕРЕЛОМОВ ДИСТАЛЬНОГО ОТДЕЛА ЛУЧЕВОЙ КОСТИ

Г.П. Кобрицов, А.О. Рагозин

ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Отделение травматологии и ортопедии  
КБ № 123

**Актуальность.** Переломы дистального метаэпифиза лучевой кости (ДМЭЛК) являются самыми часто встречающимися травмами опорно-двигательного аппарата и составляют более одной шестой части всех переломов у обратившихся за экстренной медицинской помощью [4]. По данным Chung данные повреждения составляют около 25% всех переломов длинных костей [5], а в структуре переломов костей предплечья их частота достигает 75% [1].

**Материалы и методы исследования.** На базе отделения травматологии и ортопедии ФНКЦ ФХМ в период с 2011 по 2015 гг. с переломами дистального метаэпифиза лучевой кости (ДМЭЛК) было пролечено 86 пациентов. Мужчин было 19 пациентов (22,1%), женщин – 67 (77,9%). Средний возраст пациентов составил  $46 \pm 3,5$  года (от 24 до 76 лет). Пациентов старше 60 лет было 36 пациентов (41,7%). В основу классификации переломов дистального отдела лучевой кости была положена классификация D.L. Fernandez (1993).

У всех пациентов была применена двухэтапная хирургическая тактика лечения, где при поступлении в экстренном порядке выполняли наложение дистракционного аппарата внешней фиксации с устранением грубого смещения отломков по длине. Далее после купирования отека мягких тканей выполняли второй этап хирургического лечения – открытую репозицию и накостный остеосинтез блокируемыми волярными пластинами.

В настоящее исследование были включены пациенты старше 60 лет с переломами 2 типа, а также больные с повреждениями 3, 4 и 5 типов, которым было выполнено оперативное лечение в связи с риском развития вторичного смещения при иммобилизации в гипсовой повязке, а также невозможностью достичь адекватной репозиции закрыто.

**Результаты исследования и их обсуждение.** У всех пациентов было достигнуто сращение (рентгенологически), средний срок составил  $6 \pm 2,1$  недели. Рентгенологические показатели лучезапястного сустава через 12 месяцев после травмы были получены следующие результаты: лучелоктевой угол –  $20,7 \pm 1,3$  градусов, угол ладонной инклинации –  $7,2 \pm 2,5$  градусов, лучелоктевой индекс –  $0,9 \pm 1,2$  мм. Через год после операции была проведена оценка объема движений в оперированной конечности, силы хвата и функции верхней конечности (опросник DASH). Было установлено, что сгибание в лучезапястном суставе было  $78 \pm 3,5$  градусов, разгибание –  $67,4 \pm 4,1$  градусов, супинация –  $81,6 \pm 5,8$  градусов, пронация –  $82,7 \pm 6,2$  градусов. Функция кистевого сустава по опроснику DASH составила  $7,6 \pm 4,6$  баллов. Сила хвата составила  $87,4 \pm 5,2\%$  от неповрежденной конечности.

**Заключение.** Лечение переломов ДМЭЛК, несмотря на развитие современных технологий, остается одной из наиболее актуальных проблем травматологии. Большое количество пациентов, отсутствие единого стандарта оказания помощи при данных повреждениях, а также высокая частота осложнений при лечении переломов ДМЭЛК



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

требуют дальнейшего изучения и совершенствования хирургических методов лечения данной патологии.

### Список литературы

1. Буковская, Ю. В. Роль спиральной компьютерной томографии в диагностике повреждений лучезапястного сустава и кисти // Радиология. Практикум. — 2007. — № 2. — С. 27-33.
2. Arora R. A comparative study of clinical and radiologic outcomes of unstable Colles type distal radius fractures in patients older than 70 years: nonoperative treatment versus volar locking plating // J. Orthop. Trauma. — 2009. — Vol. 23, № 4. — P. 237–242.
3. Bushnell B.D., Bynum D.K. Malunion of the distal radius // J. Am. Acad. Orthop. Surg. — 2007. — V.15, №1. — P. 27–40.
4. Chung, K.C., Zimmerman N.B., Travis M.T. Wrist arthrography versus arthroscopy: a comparative study of 150 cases // J. Hand Surg. — 1996. — Vol. 21-A, N 4. — P. 591-594.
5. Ewald T., Day C.S., Kamath A.F. Age Discrepancies in the Treatments and Radiographic Outcomes of Distal Radius Fractures // Annual Meeting of American Academy of Orthopaedic Surgeons: Proceedings. — Chicago, 2006. — № 363. — P. 616.
6. Paksima N., Tejwani N., McLaurin T. et al. Early Complications of Distal Radius Fractures: Operative and Nonoperative Treatment // Annual Meeting of American Academy of Orthopaedic Surgeons: Proceedings. — San Diego, 2007. — Paper 409. — P. 510.
7. Tejwani N.C., Takemoto R.C., Nayak G. et al. Who is lost to followup?: a study of patients with distal radius fractures // Clin. Orthop. Relat. Res. — 2010. — № 7, 468(2). — P. 599-604.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### АПО-ФОРМА ЛАКТОФЕРРИНА ВЫЗЫВАЕТ СТАБИЛИЗАЦИЮ ГИПОКСИЯ-ИНДУЦИБЕЛЬНЫХ ФАКТОРОВ-1/2 АЛЬФА И NRF2

В.А. Костевич, А.В. Соколов

*ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Лаборатория биохимической генетики;*

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Отдел биофизики*

**Введение.** Известно, что железо накапливается в мозгу как во время нормального старения, так и в процессе нейродегенерации. Высокая концентрация железа, лабильные формы которого могут запускать окислительный стресс с образованием активных форм кислорода, разрушающих клетку, постоянно наблюдается в мозгу при болезнях Альцгеймера (АБ), Паркинсона (БП), рассеянном склерозе (РС) и при других неврологических заболеваниях. За последние несколько лет появилось много данных о нейропротективных свойствах синтетических хелаторов железа, полученных при клинических исследованиях пациентах и также на моделях АБ, БП и РС у лабораторных животных, и предложен новый терапевтический подход. Суть его – в лечении хелаторами нейродегенерации и ишемии: связывая Fe, хелаторы предотвращают образование радикалов кислорода и стабилизируют гипоксия-индуцибельный фактор, ГИФ-1а, что лежит в основе их кардио- и нейропротективного действия. Например, феномен прекодиционирования объясняется тем, что в ответ на гипоксию усиливается экспрессия сотен генов и транскрипционных репрессоров, зависящих от ГИФ-1а, многие из которых отвечают за выживание клетки. Механизм индукции ГИФ под действием фармакологических миметиков гипоксии, например, хелатора Fe десферала (ДФО), основан на ингибировании Fe-содержащих пролилгидроксилаз (PHD1-3), отвечающих за гидроксирование и последующую деграцию ГИФ при нормоксии. Природный хелатор железа семейства трансферринов, лактоферрин (ЛФ) грудного и коровьего молока, слёз, а также других биологических жидкостей и нейтрофилов (где находится преимущественно в апо-форме), обладает множеством свойств: антимикробным, иммуномодуляторным, противоопухолевым, противовоспалительным, антианемическим, противоартритным. Была изучена способность апо-формы ЛФ и насыщенной железом формы стабилизировать изоформы ГИФ-1а и ГИФ-2а – сходные, но не идентичные транскрипционные факторы, а также транскрипционный фактор, Nrf2, ответственный за ответ клеток на окислительный стресс. Известно, что именно ГИФ-2а отвечает за гипоксическую толерантность и метаболизм железа, усиливая экспрессию эритропоэтина (ЭПО), обладающего нейропротективными свойствами.

**Методы.** Оценивали способность апо-лактоферрина (апо-ЛФ), природного хелатора Fe, вызывать накопление Nrf2, ГИФ-1а/2а в мозгу мышей (в сравнении с насыщенным железом белком и трансферрином), вызывать экспрессию мишеней ГИФ, церулоплазмину и ЭПО. Получали апо-ЛФ из грудного молока хроматографией на CM-Сефадексе, трансферрин выделяли из сыворотки крови. Проводили Вестерн-блоттинг с моноклональными антителами к Nrf2, ГИФ-1а и ГИФ-2а, церулоплазмину и ЭПО мыши.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

**Результаты.** Впервые показано, что апо-форма ЛФ человека, при введении *per os* вызывает накопление Nrf2, ГИФ-1а/2а, усиливает экспрессию церулоплазмينا и ЭПО в мозгу мышей через 6 дней после употребления белка. Стабилизация ГИФ-1а/2а сопровождалась дозозависимым (1-5 мг апо-ЛФ) антигипоксическим эффектом, увеличивая время жизни старых низкоустойчивых к гипоксии мышей до 140% при острой гипоксии с гиперкапнией. Полученные с питьём, насыщенные железом трансферрины и апо-трансферрин человека, который не обладает свойством ЛФ проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), подобным действием не обладали.

**Выводы.** Впервые обнаружены свойства апо-ЛФ как антигипоксанта и индуктора Nrf2, ГИФ-1а и ГИФ-2а, связанные с его хелаторными свойствами. Также обнаружено повышение содержания известного нейропротектора, ЭПО (мишень ГИФ-2а), в крови мышей, получавших апо-ЛФ. Учитывая способность ЛФ проникать через ГЭБ, вызывая стабилизацию ГИФ-1а/2а и Nrf2 в мозгу, и отсутствие побочных действий при длительном применении *per os* (в отличие от ДФО), представляется перспективным использовать лактоферрин по новому назначению: для лечения и профилактики нейродегенеративных заболеваний и для ишемического preconditionирования. Нами получен патент на изобретение № 2465004 «Применение апо-формы лактоферрина человека в качестве антигипоксанта и стабилизатора гипоксия-индуцибельного фактора-1 альфа».

Работа поддержана грантами РФФИ № 13-04-01186 и грантом Президента РФ МК-5074.2016.4.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ОЦЕНКА ПЕРСПЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ИМПЛАНТАТОВ С ПОКРЫТИЕМ ИЗ НИТРИДОВ ТИТАНА И ГАФНИЯ ДЛЯ ТРАВМАТОЛОГИИ И ОРТОПЕДИИ

Е.В. Круглова, В.А. Патрикеев, В.А. Ведин, Ю.Н. Хомяков

ЗАО «Медмаш»

Развитие новых материалов, отвечающих требованиям биосовместимости особенно актуально в травматологии и ортопедии. Одним из самых широко используемых материалов в этих областях является титан – согласно исследованиям *in vitro* он адгезивен для клеток, не обладает цитотоксическими свойствами, не препятствует дифференцировке клеток в остеогенном направлении [1]. Применение имплантатов с покрытием из нитридов титана и гафния для травматологии и ортопедии является инновационной отечественной разработкой, не имеющей аналогов в мире.

Несмотря на успехи в технологии, конструировании и производстве имплантируемых устройств и совершенствовании хирургической техники, инфекция остается одной из серьезных, а порой фатальных осложнений при имплантации. В зоне имплантата можно обнаружить следующие микроорганизмы: стафилококки, энтерококки, возбудители синегнойной инфекции, стрептококки, анаэробную микрофлору [2]. Основные требования предъявляемые к имплантатам это: снижение вероятности инфицирования имплантата и его микроокружения; биосовместимость с клетками; эффективная интеграция имплантата в организме реципиента; механические свойства, оказывающие влияние на эксплуатационные характеристики изделия, риск развития металлоза, появление трещин и раннего износа имплантата [3].

Целью исследования была оценка механических свойств, биосовместимости и бактериостатического действия образцов титановых имплантатов с покрытием из нитридов титана и гафния в условия *in vitro*. Покрытие наносится на титан методом дуального магнетронного распыления.

Испытания на износостойкость покрытия, показали результат в 100 раз превышающий обычный титановый сплав ВТ-6. При исследовании прочности сцепления покрытия с подложкой показано, что при проведении скретч-теста покрытие не отслаивается, а начинает вдавливаясь в титановую подложку, при этом трещин и отслоений не наблюдается.

Заключение о бактериостатическом действии образцов по отношению к штаммам госпитальной инфекции было дано на основании серии экспериментов в соответствии с Федеральным Стандартом ОФС 42-0067-07. Рост бактерий *S. aureus* в присутствии испытуемых образцов практически отсутствует, бактериостатический эффект составляет 75-90%. Рост *E. coli* и *P. aeruginosa* в присутствии испытуемых образцов подавляется, бактериостатический эффект составляет 30-40%. В присутствии контрольных образцов титанового сплава ВТ-6 без покрытия и на стекле бактериостатического эффекта не отмечено. Исходя из результатов испытаний, можно сделать вывод о наличии





## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

бактериостатического эффекта образцов имплантатов с покрытиями, по отношению к госпитальной инфекции.

Заключение о биосовместимости образцов имплантатов с клетками человека было сделано на основании исследований адгезии, роста клеток и цитотоксичности образцов на культурах фибробластов и остеобластов человека. Эксперименты показали отсутствие токсического эффекта у исследуемых образцов, увеличение скорости роста клеток при контакте с образцами, нахождение индекса пролиферации за время испытаний (72 часа) в допустимом диапазоне (2–4). Вовлеченность клеточной популяции в процесс адгезии к имплантату близка к 100 %. Морфология клеток в присутствии всех образцов не отличается от интактной культуры.

Исходя из полученных результатов, нитриды титана и гафния в составе покрытия положительно влияют на механические и прочностные характеристики имплантатов, а также на адгезию, скорость роста и жизнеспособность клеток, контактирующих с имплантатом. Все вышеперечисленные параметры, а также наличие выраженного бактериостатического эффекта будут способствовать улучшению остеоинтеграции имплантата в костную ткань, повысят его биоактивность, минимизируют риск возникновения местной воспалительной реакции и металлоза.

### Список литературы

1. Кадыров Ф.Ф., Шахов М.Ф., Гатина Э.Б. Микробиологические исследования биосовместимого покрытия, нанесенного на поверхность эндопротеза тазобедренного сустава, обладающего бактериостатическими свойствами // Вестник Казанского технологического университета. –2014. – Т. 17. – № 3. – С. 270-273.
2. С.А. Божкова, Р.М. Тихилов, М.В. Краснова, А.Н. Рукина ортопедическая имплантат-ассоциированная инфекция: ведущие возбудители, локальная резистентность и рекомендации по антибактериальной терапии // Травматология и ортопедия России.- 2013 – 4 (70).
3. Севастьянов Б. И., Васин С. Л., Перова Н. В. Методы исследования биоматериалов и медицинских изделий // БИОСОВМЕСТИМОСТЬ, под редакцией В.И. Севастьянова, Москва 1999



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### УРОВЕНЬ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ И РЯДА ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ ПРИ МИАЛГИЧЕСКОМ ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТЕ И БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

С.А. Крынский, Д.П. Огурцов

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Лаборатория клинической иммунологии*

Предполагают, что в патогенезе нейродегенеративных заболеваний мозга большую роль играют иммунные факторы [1]. Системное воспаление может влиять на активацию клеток микроглии в центральной нервной системе посредством активного транспорта цитокинов (ЦК) через гематоэнцефалический барьер, модуляции активности блуждающего нерва, миграции активированных лимфоцитов в ЦНС [1, 2]. Хроническая инфекция, вызванная вирусом Эпштейна–Барр (EBV), является одним из провоцирующих факторов в патогенезе ряда заболеваний ЦНС, в частности миалгического энцефаломиелита (МЭ). МЭ – хроническое неврологическое заболевание с иммунными расстройствами [3]. Существует инфекционная гипотеза патогенеза болезни Альцгеймера. В одной из работ последних лет было показано, что высокий уровень провоспалительных цитокинов в крови ассоциируется с более быстрым прогрессированием БА [1]. Однако данные о нарушениях цитокинового статуса при БА противоречивы, практически не изучено влияние вируса Эпштейна-Барр на сывороточный уровень IFN $\gamma$ , IL-2, IL-15, TNF $\alpha$  при БА [4, 5].

Целью работы было изучение возможной взаимосвязи числа копий ДНК EBV в слюне и крови и сывороточного уровня ЦК (TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-2, IL-15) у 30 больных МЭ (20 мужчин, 10 женщин, средний возраст 34 $\pm$ 5 лет) и у 20 пациентов с БА (9 мужчин, 11 женщин, средний возраст 69,6 $\pm$ 7 лет). Диагноз БА устанавливали в соответствии с критериями NINCDS/ADRDA, диагноз МЭ – в соответствии с Международными консенсусными критериями 2011 г. Критериями исключения были другие заболевания ЦНС, декомпенсированный сахарный диабет, ВИЧ-инфекция, а также другие острые и хронические заболевания. ДНК EBV определяли в слюне и в крови методом количественной ПЦР. Уровень ЦК в сыворотке крови определяли методом ИФА. Для сравнения средних значений использовали критерий Стьюдента и коэффициент корреляций Спирмена, различия считали достоверными при  $p < 0.05$ .

У больных МЭ при клинически значимой вирусной нагрузке (уровень ДНК EBV в слюне более 103 копий) уровень ЦК, ассоциируемых с активностью противовирусного иммунитета (IL-2 и IL-15) был ниже ( $p < 0.05$ ,  $p = 0.03$ ), чем у больных с небольшой вирусной нагрузкой. Также при МЭ число копий ДНК EBV отрицательно коррелировало с уровнем ЦК IL-2, IL-15 и IFN $\gamma$  ( $r = -0.44$ ,  $r = -0.59$  и  $r = -0.35$ , соответственно;  $p < 0.05$ ). Напротив, при БА более высокая вирусная нагрузка EBV соответствовала повышенному уровню ЦК IFN $\gamma$  (133.8 $\pm$ 55.9 пг/мл и 302.4 $\pm$ 32.0 пг/мл, соответственно;  $p = 0,003$ ).

У пациентов с МЭ при более высокой вирусной нагрузке в слюне отмечались признаки активации врожденного иммунного ответа: уровень TNF $\alpha$  был достоверно повышен ( $p = 0.027$ ) и была достоверно выше частота детекции TNF $\alpha$  ( $p < 0.005$ ). При БА наличие



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

герпесвирусов в крови ассоциировалось с более тяжелым когнитивным снижением (различие по баллам теста MMSE, Бостонского теста называния:  $p=0.02$ ,  $p=0.002$ ).

Таким образом, у больных МЭ с более высокой вирусной нагрузкой содержание ключевых цитокинов систем цитотоксичности IL-2 и IL-15 было достоверно ниже, чем у больных с небольшой вирусной нагрузкой, в то время как уровень TNF $\alpha$ , имеющего большой провоспалительный и повреждающий потенциал, был выше.

При БА в случае значимой вирусной нагрузки отмечалось повышение IFN $\gamma$ , что может указывать на относительную сохранность механизмов противовирусного ответа у пациентов. Известно, что IFN $\gamma$  оказывает неблагоприятное воздействие на течение болезни Альцгеймера в эксперименте [6]. Т.о., полученные данные позволяют предположить неблагоприятное влияние активной EBV-инфекции на прогрессирование болезни Альцгеймера.

### Список литературы

1. RazYirmiya, Inbal Goshen. Immune modulation of learning, memory, neural plasticity and neurogenesis. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2011; 25: 181–213.
2. Roubaud Baudron C, Varon C, Mégraud F, Salles N. Alzheimer's disease: the infectious hypothesis. *Geriatr Psychol Neuropsychiatr Vieil*. 2015 Dec 1;13(4):418-424.
3. <http://www.meassociation.org.uk/about/what-is-mecfs/>
4. Brosseron F., Krauthausen M., Kummer M., Heneka MT. Body fluid cytokine levels in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a comparative overview. *Mol Neurobiol*. 2014 Oct;50(2):534-44.
5. Малашенкова И.К., Хайлов Н.А., Крынский С.А., и соавт. Уровень провоспалительных цитокинов и фактора роста VEGF у пациентов с болезнью Альцгеймера и мягким когнитивным расстройством. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2016; № 3: 30-34 (подана в печать).
6. Lee M., McGeer E., McGeer PL. Activated human microglia stimulate neuroblastoma cells to upregulate production of beta amyloid protein and tau: implications for Alzheimer's disease pathogenesis. *Neurobiol Aging*. 2015 Jan;36(1):42-52.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### СРАВНИТЕЛЬНОЕ ВЛИЯНИЕ ТРЕХ ИММУНОАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА C-FOS В РЯДЕ СТРУКТУР МОЗГА КРЫС

А.В. Крючкова, Н.А. Логинова, О.В. Белова, А.Н. Иноземцев, И.В. Зимина, Т.А. Луканидина, С.Н. Москвина

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Лаборатория молекулярной иммунологии и биохимии;*

*ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН;*

*Кафедра ВНД биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова*

В последнее время появляется все больше данных о глубокой взаимосвязи нервной и иммунной систем [1, 2]. В данной работе была поставлена цель оценить влияние трех иммуноактивных веществ (тактивина, высокомолекулярной фракции тимуса и К-активина) на функциональное состояние ряда структур мозга крыс. В ранних работах было уже показано их специфичное влияние на поведение и обучение животных [3–5]. Для изучения их влияния на состояние клеток мозга использовали оценку уровня экспрессии раннего гена *c-fos*.

Работа проводилась на четырех группах крыс-самцов линии Wistar ( $n=5$  в каждой). Животным в течение 5 дней водили внутривенно: физиологический раствор, тактивин (0,4 мг/кг) высокомолекулярную фракцию тимуса (0,4 мг/кг) и К-активин (0,4 мг/кг), далее извлекали мозг. Фронтальные срезы мозга окрашивали по стандартной иммуногистохимической методике на *c-fos*. Проводили визуально-ранговый анализ площади и интенсивности свечения в двадцати одной структуре мозга на уровнях -2,52 мм от брегмы и +0,95 мм от брегмы (Paxinos, Watson, 2005).

Были показаны отличия в активации мозга при введении каждого из трех веществ от контрольной группы и друг от друга. Относительно контрольной группы была показана повышенная экспрессия гена *c-fos*: при введении тактивина – в центральном септуме, при введении высокомолекулярной фракции тимуса – в центральном септуме и моторной коре, К-активина – в хвостатом ядре. Всего из 21-й исследованной структуры, отличия между группами показаны в цингулярной и моторной коре, центральном септуме, стриатуме, соматосенсорной коре, поле СА3 и зубчатой фасции гиппокампа, центральных ядрах таламуса и латеральном гипоталамусе.

Итак, каждое из трех исследуемых веществ влияет на мозг животных специфично, из чего можно предположить, что эффект воздействия каждого реализуется разными путями.

#### Список литературы

1. Denes A., Miyan J.A. Brain-immune interactions in health and disease / Frontiers Media SA, 2015.
2. Sotelo J. The nervous and the immune systems: conspicuous physiological analogies / Journal of Comparative Physiology A. – 2015. – Т. 201. – №. 2. – С. 185-194.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

3. Горлова А.В., Новоселецкая А.В., Киселева Н.М., Иноземцев А.Н., Арион В.Я. Влияние иммуноактивных пептидов на выработку реакций избегания // Здоровье и образование в XXI веке . 2014. №4. С.22-25.
4. Новоселецкая А.В., Киселева Н.М., Белова О.В., Зимина И.В., Москвина С.Н., Быстрова О.В., Иноземцев А.Н., Арион В.Я., Сергиенко В.И. Влияние иммуноактивных препаратов на формирование условного рефлекса пассивного избегания // Вестник РАМН. 2014. №7-8. С.14-18.
5. Крючкова А.В., Иноземцев А.Н., Белова О.В., Луканидина Т.А., Москвина С.Н., Зимина И.В., Шмелева Е.В. Выработка условной реакции активного избегания и ее функциональные нарушения у крыс на фоне введения иммуноактивного препарата кожи К-активина // Биомедицинская радиоэлектроника, 2015, № 4 (спец. выпуск). С. 45-47.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### СОЗДАНИЕ ХИМЕРНЫХ АНТИГЕННЫХ РЕЦЕПТОРОВ С АНТИГЕНРАСПОЗНАЮЩИМ МОДУЛЕМ НА ОСНОВЕ 10-ГО ДОМЕНА III ТИПА ФИБРОНЕКТИНА ЧЕЛОВЕКА

В.В. Кузнецова, С.В. Кулемзин, А.А. Горчаков, А.В. Таранин

*Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Лаборатория иммуногенетики*

Несмотря на значительный прогресс в противоопухолевой терапии, актуальной остается разработка новых, более эффективных и безопасных стратегий лечения онкологических заболеваний. Перспективным подходом является адоптивная иммунотерапия цитотоксическими Т-лимфоцитами, генетически модифицированными с целью экспрессии поверхностного химерного антигенного рецептора (chimeric antigen receptor, CAR). CAR представляет собой искусственно сконструированную белковую молекулу, внеклеточная часть которой наделена способностью к специфичному распознаванию опухоль-ассоциированных антигенов, в то время как цитоплазматический регион содержит сигнальные последовательности, ответственные за передачу активационного сигнала внутрь клетки [1, 2]. Таким образом, после связывания с целевым антигеном, CAR Т-лимфоцит элиминирует опухолевую клетку благодаря собственной цитотоксической функции [2]. В большинстве случаев антигенраспознающий модуль CAR представлен одноцепочечными производными моноклональных антител – scFv (single-chain variable fragment) [3]. Однако данный формат обладает некоторыми недостатками, такими как сложная структура, большой размер, склонность к антиген-независимой кластеризации и иммуногенность. В связи с этим активно разрабатываются альтернативные антигенсвязывающие модули. [3, 4]. Данное исследование направлено на разработку принципиально нового варианта антигенраспознающего региона CAR, основанного на 10-м домене III типа белка фибронектина 1 человека (Fn3). Fn3 является функциональным аналогом антител и обладает способностью к высокоаффинному связыванию, низкой иммуногенностью, небольшим размером и высокой стабильностью [5].

Таким образом, целью работы является изучение функциональной активности Fn3-белков в качестве антигенраспознающего домена CAR, специфичных к опухоль-ассоциированным антигенам VEGFR2, CEA и IGF-1R.

Способность Fn3-CAR Т-клеток распознавать опухоль-ассоциированные поверхностные антигены оценивали методом активационного анализа, в ходе которого CAR-лимфоциты инкубировали с клетками, на которых экспонирован соответствующий антиген, либо с нерелевантными клетками-мишенями в качестве контроля. В первую очередь для этого на основе клеточных линий HEK293T и PC3 разработали модельные линии-мишени, стабильно экспрессирующие VEGFR2, CEA и IGF-1R. CAR Т-клетки были получены с помощью трансдукции Т-лимфомной линии Jurkat лентивирусами, кодирующими Fn3-CAR заданной специфичности и разного модульного состава. Экспрессию анализируемых CAR на поверхности трансдуцированных Т-клеток подтвердили иммуноокрашиванием.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

После 4-часовой инкубации с клетками-мишенями все CAR-содержащие линии (всего 12 линий, отличающихся строением и специфичностью) демонстрировали повышенный по сравнению с контролем уровень экспрессии раннего активационного маркера CD69, что подтверждает способность Fn3-CAR к избирательному связыванию с целевым антигеном и передаче активационного сигнала внутрь Т-клетки. При этом динамика активации CAR Т-лимфоцитов отличалась для химерных рецепторов с различными лидерными и шарнирными последовательностями. В частности, для всех типов CAR в качестве шарнирного региона лучше всего работал модуль, заимствованный от IgG1 человека.

Таким образом, проанализированные Fn3-белки против поверхностных мишеней VEGFR2, IGF-1R и CEA оказались функциональными в качестве антигенраспознающих модулей химерных антигенных рецепторов. В перспективе при конструировании CAR данный аналог антител может стать оптимальной заменой scFv.

Работа поддержана грантом РФФИ №15-04-05749 А.

### Список литературы

1. Bridgeman J.S., Hawkins, R.E., Hombach A.A. et al. Building better chimeric antigen receptors for adoptive T cell therapy //Current gene therapy. 2010. Т. 10., №. 2. С. 77-90.
2. Sadelain M., Rivière I., Brentjens R. Targeting tumours with genetically enhanced T lymphocytes //Nature Reviews Cancer. 2003. Т. 3., №. 1. С. 35-45.
3. Dotti G., Gottschalk S., Savoldo B. et al. Design and development of therapies using chimeric antigen receptor-expressing T cells //Immunological reviews. 2014. Т. 257., №. 1. С. 107-126.
4. Srivastava S., Riddell S. R. Engineering CAR-T cells: Design concepts //Trends in Immunology. 2015. Т. 36., №. 8. С. 494-502.
5. Koide A. et al. The fibronectin type III domain as a scaffold for novel binding proteins // Journal of molecular biology. 1998. Т. 284., №. 4. С. 1141-1151.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### АДАПТАЦИЯ АЛГОРИТМОВ ПОИСКА ПОЛИМОРФИЗМОВ К РЕЗУЛЬТАТАМ ИОННОГО ПОЛУПРОВОДНИКОВОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Н.А. Кулемин, К.А. Бабалаян, Э.В. Генерозов

*ФГБУ ФНЦ физико-химической медицины ФМБА, Лаборатория молекулярной генетики человека*

В связи с широким распространением технологии ионного полупроводникового секвенирования одной из актуальных задач является оптимизация алгоритмов интерпретации данных, получаемых с помощью приборов указанного типа. Проприетарное программное обеспечение секвенатора формирует существенно меньшее количество детектированных генотипов при меньшей точности, тогда как альтернативное свободное программное обеспечение (SAMtools, GATK, FreeBayes) предоставляет большее число возможностей для предварительной подготовки геномных данных. В настоящем исследовании было проведено сравнение эффективности различных алгоритмов определения полиморфизмов и мутаций на основе данных секвенирования тестового образца GCat59 (проект Genome In The Bottle), валидированного на различных технологических платформах. Был произведен подбор оптимальных параметров запуска каждой из указанных программ. В результате были разработаны оптимальные протоколы для определения максимального возможного количества генотипов при допустимой ошибке в 99,5%, а также меньшего количества генотипов при гарантированной точности 99,98%. Независимая валидация протоколов была протестирована на 7 экспериментальных образцах, которые были отсеквенированы в ФНЦ ФХМ с использованием набора для целевого обогащения экзона Ampliseq. В качестве контроля для результатов секвенирования использовалось чип-генотипирование по технологии Illumina BeadChips (OmniExpress24) с дополнительной обработкой.





# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЯ ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ ОСНОВНЫЕ КОМПОНЕНТЫ СЕКРЕТА СЛЮННЫХ ЖЕЛЁЗ МЕДИЦИНСКОЙ ПИЯВКИ

А.С. Курдюмов, В.В. Бабенко, В.А. Манувера

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Лаборатория генной инженерии,  
Лаборатория постгеномных исследований в биологии*

На протяжении многих лет гирудотерапия использовалась в лечении многих заболеваний. Секрет слюнных желез медицинской пиявки (ССЖ), оказывает положительный эффект на организм [1]. Ранее было показано, что сам секрет обладает ярко выраженной тромболитической, антитромбической и антимикробной активностями [2, 3]. Позже были обнаружены белки и пептиды, которые отвечают за ту или иную функцию ССЖ. Гирудин (антикоагуляционный пептид, необратимо связывающийся с тромбином) был открыт ещё в 1884 г [4]. Также гирудин – это первый компонент ССЖ, который стал входить в состав лекарственных препаратов (в рекомбинантной форме). Позже были открыты и другие компоненты ССЖ: ингибиторы системы комплемента, антитромбические белки (калин, саратин, апираза, коллагеназа, гиалуронидаза), тромболитические белки (дестабилаза), протеолитические ингибиторы (антистазин, эглины, ингибитор триптазы, бделлины, ингибитор фактора Ха), антимикробные агенты [5]. Первые работы по исследованию протеомного состава ССЖ проводились с помощью 2D-электрофореза. Этим методом выявлено более 100 белков от 14 до 100 кДа [6]. Для исследования высокомолекулярной фракции использовали метод SELDI-масс-спектрометрии [6]. Этим методом удалось идентифицировать 45 индивидуальных белков. Исследуя низкомолекулярную фракцию (до 650 кДа), авторами было показано присутствие гистамина, серотонина, стероидных гормонов (кортизол, дегидроэпиандростерон, андростендион, тестостерон) [7].

Целью настоящей работы являлось изучение скорости и уровня накопления основных компонентов ССЖ в слюнных клетках после их опустошения. С помощью метода лазерной микродиссекции были вырезаны области, соответствующие клеткам слюнных желёз и мышечной ткани. Из этих образцов была выделена мРНК, получена кДНК библиотека и проведен транскриптомный анализ. Полученные базы данных транскриптома клеток слюнных желёз и мышечных клеток были сравнены между собой и затем отобраны гены, которые дифференциально экспрессируются в клетках слюнных желёз. Были сконструированы и синтезированы олигонуклеотиды для анализа экспрессии 15 таких генов (саратин, эглин С, дестабилаза, гирудин, бделлины, ингибитор триптазы, гиалуронидаза, гирустазин, апираза, GAPDH, эндотелин и ангиотензинпревращающий ферменты и им подобные) и двух референсных генов (изоформы тубулина и актина). В данной работе мы исследовали уровень транскрипции выбранных генов в головной части пиявки (слюнные железы) и в задней присоске (мышечная ткань) в зависимости от времени после опустошения слюнных клеток (после свободного кормления цельной кровью) спустя 0, 12, 24, 72 и 168 часов. Нами было показано, что уровень экспрессии гена дестабилазы (основной



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

тромболитический и антимикробный агент) не меняется от времени, а максимальный уровень экспрессии гена гирудина приходится на 3 сутки. В настоящее время продолжается работа по анализу экспрессии остальных выбранных генов

### Список литературы

1. Hyson J. M. Leech therapy: a history // *J Hist Dent.* – 2005. – Т. 53, № 1. – С. 25-7.
2. Baskova I. P., Nikonov G. I. Antithrombotic effect of salivary gland secretion and other preparations from the leech *Hirudo medicinalis* after intravenous and peroral administration to rats // *Vopr Med Khim.* – 1986. – Т. 32, № 6. – С. 90-3.
3. Budzynski A. Z., Olexa S. A., Brizuela B. S., Sawyer R. T., Stent G. S. Anticoagulant and fibrinolytic properties of salivary proteins from the leech *Haementeria ghilianii* // *Proc Soc Exp Biol Med.* – 1981. – Т. 168, № 2. – С. 266-75.
4. Markwardt F. Pharmacology of hirudin: one hundred years after the first report of the anticoagulant agent in medicinal leeches // *Biomed Biochim Acta.* – 1985. – Т. 44, № 7-8. – С. 1007-13.
5. Hildebrandt J. P., Lemke S. Small bite, large impact-saliva and salivary molecules in the medicinal leech, *Hirudo medicinalis* // *Naturwissenschaften.* – 2011. – Т. 98, № 12. – С. 995-1008.
6. Baskova I. P., Zavalova L. L., Basanova A. V., Moshkovskii S. A., Zgoda V. G. Protein profiling of the medicinal leech salivary gland secretion by proteomic analytical methods // *Biochemistry (Mosc).* – 2004. – Т. 69, № 7. – С. 770-5.
7. Baskova I. P., Ferner Z., Balkina A. S., Kozin S., Kharitonova O. V., Zavalova L. L., Zgoda V. G. Steroids, histamine and serotonin in medicinal leech salivary gland secretions // *Biomed Khim.* – 2008. – Т. 54, № 2. – С. 127-39.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ВОЗМОЖНОСТИ ВЕРИФИКАЦИИ ОЧАГОВЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НЕОПЛАСТИЧЕСКОГО ХАРАКТЕРА, ВИЗУАЛИЗИРУЕМЫХ С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕТОДА МАГНИТНО- РЕЗОНАНСНОЙ ТОМОГРАФИИ

Е.Ю. Лакша

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Отделение магнитно-резонансной томографии центра лучевой диагностики КБ № 123*

**Актуальность.** С учетом полученного опыта обращает на себя внимание значительное количество пациентов, с признаками неопластического поражения предстательной железы, причем направляемых на МР-исследование по другим причинам. Даже при наличии неопластического очага, далеко не всегда удается выявить заболевание, используя стандартную схему диагностики (осмотр уролога, пальцевое исследование, определение уровня простатспецифического антигена – свободного и связанного, ТРУЗИ). С целью раннего выявления указанной патологии, для продуктивного и целесообразного лечения, возможно применять метод МРТ, отличающийся высокой информативностью.

**Материалы и методы.** Исследования проводились с использованием МР-томографа Toshiba Excelart Vantage Atlas 1.5T, применяя универсальную, двухсекционную, мягкую, 8-канальную катушку для исследования грудной клетки, брюшной полости и органов малого таза. Контрастное вещество – «Гадовист» 1 ммоль/мл (1 мл/10 кг массы тела), производства фирмы Bayer. Проведен анализ 212 МР-исследований органов малого таза у мужчин, направленных на диагностику в связи с имеющейся клиникой, характерной для ДГПЖ (в том числе с повышенными или нормальными показателями сывороточного, простатспецифического антигена). ДГПЖ выявлено в 55 случаев (25,9%), очаговые изменения, наиболее соответствующие неопластическому поражению в 109 (51,4%), неопластическое поражение других органов малого таза в 24 (11,3%), послеоперационные изменения в 24 (11,3%). Вне зависимости от изначально предполагаемой патологии, МР-исследования малого таза проводились пациентам по методике, включающей использование всех доступных последовательностей (средневзвешенных по T1, T2, с подавлением сигнала от жира и без, микроскопической диффузии, динамики распределения контраста), в том числе с захватом только лишь предстательной железы (с максимально возможными числовыми показателями матрицы построения изображения) [1].

**Результаты и обсуждение.** Помимо изменений предстательной железы, характерных для ДГПЖ, в виде гипертрофии переходных зон (в единичных случаях с формированием также средней доли за счет гипертрофии подслизистых, периуретральных желез) и соответственно, увеличения размеров органа, в толще преимущественно периферической зоны (реже – в проекции переходных – до 10%) отмечались очаги сниженной интенсивности МР-сигнала в T2 WI, T2 FatSat, с повышением диффузии DWI (качественно), снижением коэффициента диффузии ADC (количественно – менее 1.0), отличающиеся ранним, интенсивным накоплением контрастного вещества и ранним его «вымыванием» [2–5].



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

Очаги имели ровные, четкие контуры, и, в зависимости от стадии процесса, распространялись в другие, помимо периферической зоны, отделы органа, а также за пределы – в стенку мочевого пузыря, через семенные пузырьки, в стенку прямой кишки, в окружающую жировую клетчатку [1]. В большинстве случаев выявления очагов, подозрительных на неопластический процесс (90%), изменений со стороны регионарных узлов не наблюдалось. В остальных случаях, при далеко зашедшем в развитии заболевании, отмечались конгломераты выражено увеличенных лимфоузлов преимущественно по ходу наружных подвздошных сосудов, а также единичных наиболее близко к очагу поражения.

**Выводы.** Сравнительный анализ результатов полученных при проведении МР-исследований, с последующей гистологической верификацией (трансректальная, мультифокальная трепанбиопсия простаты), обнаружил высокую информативность (специфичность) метода, что позволяет в большей степени ориентироваться на неинвазивные типы диагностики, особенно с применением специализированных РЧ-катушек томографа (для предстательной железы – трансректальной). Также установлена значимая связь между показателями микроскопической диффузии, динамикой распределения контрастного вещества и наличием неопластических изменений органа (до 90% специфичности в полученных результатах). Показатели сывороточного, простат-специфического антигена не выявили корреляции между неопластическим и доброкачественным поражением органа (высокая чувствительность, низкая специфичность), и являются дополнением к стандартной схеме диагностики. Таким образом, метод магнитно-резонансной томографии является высокочувствительным и высокоспецифичным в аспекте верификации доброкачественных и злокачественных изменений предстательной железы.

### Список литературы

1. MRI manual of pelvic cancer, Paul Hulse and Bernadette Carrington, Taylor & Francis e-Library, 2004, 4-14, 185-197.
2. Body MRI, Evan S. Siegelman, MD, Philadelphia, PA 2005, 394-405.
3. Ультразвуковая диагностика предстательной железы в современной урологической практике, Г.И. Назаренко, А.Н. Хитрова, Москва: Издательский дом Видар, 2012, 70-109, 119-192.
4. Differential diagnosis in magnetic resonance imaging, Francis A.Burgener, Raymond K.Tan, Georg Thieme Verlag, 2002, 630-635.
5. Magnetic resonance tonography, Maximilian F.Reiser, Wolfhard Semmler, Springer, 2002, 1022-1037.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СПАЕЧНОГО ПРОЦЕССА (СПАЕЧНОЙ БОЛЕЗНИ) ОРГАНОВ МАЛОГО ТАЗА, ОРГАНОВ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ МЕТОДАМИ ЛУЧЕВОЙ ДИАГНОСТИКИ

Л.Г. Леонова

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Отделение лучевой диагностики  
КБ № 123*

**Актуальность.** В настоящее время для выявления и своевременной диагностики спаечной болезни органов малого таза (ОМТ) существует большое количество методов лучевой диагностики, такие как МРТ, УЗИ, МСКТ, рентгенография и более травматичный, но достоверный способ – лапароскопия [1, 3, 8]. Достоверность указанных методик составляет от 69 до 87% [2, 4–7].

**Материал и методы.** Нами обследовано более 500 женщин (МРТ ОМТ, ОБП) с различными нозологическими заболеваниями, и практически более чем в 94% случаев фиксировались случаи спаечной болезни. Причины возникновения были самые разнообразные: 1) хирургические вмешательства в 97% случаев; 2) воспалительные заболевания у женщин – 68% больных; 3) иммуногормональные изменения у женщин – 76% пациентов; 4) травмы брюшной полости у женщин/мужчин – 27%, 5) предрасполагающие факторы (инфекции, передающиеся половым путем) – до 15%, преимущественно у лиц женского пола.

Исследования проводились в КБ № 123 (аппарат МРТ Toshiba-1,5 Т, аппарат УЗД Lodgik 5), а также ЦРБ г. Одинцово (аппарат Lodgik 7). В период с 2014 г. по апрель 2016 г., было проведено УЗ-исследований ОМТ более 5000 тыс., где вне зависимости от нозологии исследования, у пациенток выявлялись УЗ-признаки спаечной болезни. При МР-исследовании за более короткий период с июня 2015 по апрель 2016 гг., обследовано более 500 пациенток, но в процентном соотношении количество выявленных в сравнении с УЗД незначительно снижено.

В проводимых нами исследованиях методом УЗД, было установлено, что для точного определения и явной верификации диагноза спаечной болезни, необходимо во-первых их количественное соотношение, т.к. визуализация их ограничена в связи с конституцией пациента (у тучных людей затруднительна), у пациентов с конституцией более астенического склада диагностика не вызывает затруднений. Основной УЗД признак спаечного процесса: выявление гиперэхогенных тяжей в параметральной области, параовариально или позадидматочно-позадишееечном пространстве, межкишечными петлями.

Преимущество перед МРТ: провести УЗИ пациента в любом физическом состоянии, определить степень вовлечения спаечного процесса между органами брюшной полости (ОБП) и МТ, проследить перистальтику и кровоток участка кишки вовлеченного в патологический процесс.

Недостатки УЗД: минимальное количество спаек (визуализация затруднительна), воспалительные заболевания, расположение органа.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

Метод МРТ более новый (неинвазивный тип исследования): который позволяет определить более точно наличие спаечного процесса в ОБП и МТ (полипозиционного характера), участок и уровень поражения (вовлечения в патологический процесс органа) основываясь на отсутствие их движения во время исследования в сравнении с УЗД. Более информативно для диагностики рубцовых изменений: как ОБП, так и для органов МТ: в первом случае, точно определить спаечный процесс между тонкой кишкой и брюшиной, петлями кишечника, но менее информативна в отношении сальника, где интенсивность сальника и мезентериального жира одинакова. Для ОМТ очень информативна в отношении спаечного процесса между яичниками и петлями толстого и тонкого кишечника (что очень часто приводит у женщин к появлению тазовых болей).

### Список литературы

1. Кулаков В.И., Адамян Л.В., Мынбаев О.А. Послеоперационные спайки (этиология, патогенез, диагностика и профилактика). Рос. Вестн. акушерство-гинекол. 2005: 4: 41-45 с.
2. Кизименко Н.Н., Пигарев В.Н, Воропаева Ю.А «МРТ в оценке развития послеоперационных спаечных процессов после хирургического лечения гинекологических заболеваний, выполненных в разные сроки менструального цикла».- КГМУ-Краснодар: Мед. Визуализация 2012.-5с: 81-85 с.
3. Мершина Е.А, Васильева Е.С. , Лядов В.К. , Синицын В.Е., Егиев В.Н: «Возможности функциональной МРТ в оценке спаечной болезни в период послеоперационного вмешательства» – ФГУ «Лечебно-реабилитационный центр Росздрава». – Москва. 2010г.
4. Симонян К .С. «Спаечная болезнь». – М.: Медицина. 1966.-276с.
5. Труфанов Г.Е. , Панова В.О. «Руководство по лучевой диагностике в гинекологии, ОБП». – ЭЛБИ-СПб 2008.-590с.
6. Хачкурузов С.Г. УЗИ в гинекологии.– СПб.: «Элби»,1999.-651с.
7. Чекмазов И.А «Спаечная болезнь брюшины». – М.: ГЭОТАР-Медиа,2008.-159с.
8. Жепчевский Р.А. «Спаечная болезнь».- М.: Медицина. 1966г.-230с.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА И МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА В ПОСТГИПОТЕРМИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ У КРЫС

Н.А. Лычева, И.И. Шахматов

*НИЦ ФМ ГБОУ ВПО АГМУ МЗ РФ, Лаборатория экспериментальной физиологии*

**Введение.** Действие общей непреднамеренной гипотермии на организм сопровождается развитием стресс реакции с вовлечением всех систем организма. Однако ключевым звеном в развитии постгипотермических осложнений является система гемостаза, включающая в себя не только клеточные и плазменные компоненты, но и сосудистый компонент. При восстановлении температуры и в течение последующих 2-х суток у пострадавшего может не наблюдаться каких-либо гемореологических нарушений. В тоже время оказание своевременной помощи в этом период способствует минимизации осложнений, вызванных непреднамеренном охлаждением. Ответная реакция со стороны плазменного гемостаза может быть представлена как гипокоагуляционными нарушениями, так и гиперкоагуляционными сдвигами [3]. В то же время состояние микроциркуляторного русла в постгипотермическом периоде при общем охлаждении изучено не достаточно. Целью исследования явилось сопоставление параметров системы гемостаза и показателей микроциркуляции в различные периоды гипотермии.

**Материалы и методы.** Гипотермия моделировалась путем помещения животных в емкости с водой на глубину 4,5 см при температуре воды +5°C, воздуха +7°C. В ходе воздействия животные достигали ректальной температуры +20...+23°C (глубокая степень гипотермии). Контролем служила кровь и показатели микроциркуляторного русла животных, находившихся в аналогичных условиях, при температуре воды +30 °C. Кровь забиралась у животных как сразу, так и через сутки после прекращения опытного воздействия. Оценка микроциркуляции также производилась до охлаждения, сразу после охлаждения и через сутки после прекращения опытного воздействия.

**Результаты.** Сразу по окончании воздействия со стороны системы гемостаза регистрировался гиперкоагуляционный сдвиг. Так, наблюдалось увеличение агрегационной активности тромбоцитов в 8 раз ( $p < 0,05$ ). Кроме того, регистрировалось уменьшение времени коагуляции (СТ), по данным тромбоэластограммы, на 25% ( $p < 0,05$ ). Состояние экспериментальных животных усугублялось регистрацией в кровотоке растворимых фибриномономерных комплексов, их концентрация увеличивалась на 50% ( $p < 0,05$ ), и выраженным угнетением активности фибринолитической системы, как по данным коагуляционных тестов, так и по данным тромбоэластограммы. Описанная совокупность укладывается в описание состояния тромботической готовности [4]. Через сутки после прекращения охлаждения состояние системы гемостаза экспериментальных животных характеризовалось нормализацией большинства параметров характерных для тромбинемии.

При анализе микроциркуляции было установлено, что сразу по окончании охлаждения был снижен показатель микроциркуляции в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ), что свидетельствует о сохраняющемся вазоспазме, возникшем на начальных этапах гипотермического воздействия. Кроме того, было зафиксировано снижение вазомоторных амплитуд



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

колебаний кровотока на 60% ( $p < 0,05$ ), что также свидетельствует о снижении нутритивного кровотока. В нейрогенном диапазоне были зафиксированы ритмические колебания синусоидальной формы, что свидетельствует о терморегуляторном механизме зафиксированного вазоспазма [1]. При оценке физиологического состояния микроциркуляторного русла по истечении суток после прекращения охлаждения, было установлено увеличение амплитуды дыхательной волны при увеличении показателя микроциркуляции (при сравнении с таковым у животных до охлаждения и сразу после окончания экспериментального воздействия). Это, в свою очередь, свидетельствовало о развитии застойных явлений в микроциркуляторном русле [2].

Таким образом, при анализе системы гемостаза по истечении суток со стороны плазменного гемостаза животных наблюдалась стабилизация параметров, а при анализе сосудистого компонента было зафиксировано формирование застойных явлений в микроциркуляторном русле. Описанная закономерность может свидетельствовать о том, что оценка состояния микроциркуляции методом ЛДФ-граммы, является более чувствительным способом оценки состояния организма в постгипотермическом периоде.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-60054 мол\_а\_дк.

### Список литературы

1. Дунаев, А.В. Анализ физиологического разброса параметров микроциркуляторно-тканевых систем / А.В. Дунаев, И.Н. Новикова, А.И. Жеребцова // Биотехносфера. – 2013. – № 5 (29) . – С. 44-53.
2. Новикова, И.Н. Функциональное состояние микроциркуляторно-тканевых систем при холодовой прессорной пробе / И.Н. Новикова, А.В. Дунаев, В.В. Сидоров, А.И. Крупаткин // Физиология человека. – 2015. – Т.41. – № 6. – С. 95-103.
3. Повреждение клеток эндотелия и динамика цитокинов у больных в разные периоды местной холодовой травмы / К.Г. Шаповалов, Е.А. Томина, Ю.А. Витковский и др. // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. – 2006. – № 6. – С. 126-128.
4. Шахматов, И.И. Изменения в системе гемостаза в ответ на однократную физическую нагрузку различной интенсивности / И.И. Шахматов, В.М. Вдовин // Вестн. новых медицинск. технолог. – 2011. – Т. XVIII, № 3. – С. 207-209.





## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ОПЫТ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ С РАНАМИ ГРУДНОЙ КЛЕТКИ И ОСТЕОМИЕЛИТОМ ГРУДИНЫ ПОСЛЕ СТЕРНОТОМИИ

Д.И. Максимов

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Отделение гнойной хирургической инфекции КБ № 123*

**Актуальность.** В последнее десятилетие, в связи с внедрением в повседневную практику новых медицинских технологий, широким развитием кардиоторакальной хирургии, резко возросло количество операций на органах средостения. По данным мировой литературы, послеоперационные осложнения после срединной стернотомии — несостоятельность швов грудины, острый медиастинит и остеомиелит грудины и ребер составляют 0,4-6,0% [1–3]. Сложность проблемы определяет обширность раны, нестабильность грудины, близкое расположение жизненно важных органов.

Цель: улучшение результатов лечения гнойных ран в проекции грудины после стернотомии и АКШ методом вакуум терапии (NPWT – Negative pressure wound treatment).

**Материал и методы:** проведен анализ результатов лечения 56 больных возрасте от 45 до 78 лет с гнойными ранами грудной клетки после стернотомии в 2007-2015 г.г.

Мужчин было 35, женщин – 21 человек. Средний возраст 63 года. Срок с момента выполнения кардиохирургического вмешательства до госпитализации в отделение составил от 21 дня до 2 лет. Для определения объема поражения мягких тканей, степени вовлеченности в процесс грудины, переднего средостения выполняли мультиспиральную компьютерную томографию (МСКТ) грудной клетки с фистулографией свищевых ходов с 3D-реконструкцией, бактериологическое исследование раневого отделяемого. Площадь ран колебалась от 12,5 до 29 см<sup>2</sup>. Фоновым заболеванием у 13 больных был сахарный диабет II типа. У 23 больных было выявлено гнойное поражение мягких тканей в области фиксирующих грудину лигатур, остеомиелит грудины без распространения на клетчатку переднего средостения. У 9 пациентов отмечен передний стерномедиастинит с несостоятельностью швов грудины с нестабильностью ее краев, обширным гнойным поражением мягких тканей. Всем 56 больным хирургический подход был направлен на удаление инфицированных лигатур, выполнение ограниченной секвестрэктомии грудины с последующей операцией по повторному наложению стягивающих швов на грудину для ликвидации диастаза краев дефекта грудины.

После хирургической коррекции мы применяли метод вакуумной аспирационной терапии. Курс вакуум терапии (NPWT – Negative pressure wound treatment) длился от 7 до 15 суток постоянного воздействия (смена 1 раз в 2-3 суток). Использование вакуум системы значительно упрощало уход за больными, уменьшало количество перевязок.

**Результаты.** Клинические проявления динамики местного патологического процесса под влиянием вакуум терапии отличались ускоренным очищением раны от наложений фибрина и участков некрозов, уменьшением площади и глубины раны за счет формирования активных грануляций и краевой эпителизации. Следует отметить, что курс вакуум терапии в течение 7-15 суток позволяет значительно ускорить элиминацию гноеродной флоры в ране



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

более чем вдвое, причем уровень контаминации начинает резко снижаться к 4-6 суткам. Чистота раны с применением вакуум терапии составила  $2,30 \pm 0,34$  КОЕ/г против  $5,21 \pm 1,25$  КОЕ/г. Под влиянием вакуума отмечается значительная активизация процессов репарации. Так, уровень фибробластов в мазках-отпечатках к 12-15 суткам соответственно составляли  $9,6\% \pm 1,2$  и  $29,4\% \pm 3,5\%$  по сравнению с контрольной группой –  $5,2\% \pm 1,56$  ( $p \geq 0,05$ ) и  $11,8\% \pm 2,61\%$  ( $p \leq 0,05$ ). Фагоцитарная активность макрофагов возросла до 67,5%, время заживления ран колебалось от 17 до 39 суток.

**Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о выраженном лечебном эффекте вакуум терапии. Следует отметить и значительный экономический эффект при использовании данного метода. Быстрая элиминация раневого отделяемого способствует резкому уменьшению контаминации микробов в ране, что является одним из факторов профилактики внутрибольничной инфекции.

### Список литературы

1. Козлов Б.Н., Шипулин В.Н., Андреев Д.Б. Сравнительный анализ инфекционно-гнойных осложнений после реваскуляризации миокарда на работающем сердце и в условиях искусственного кровообращения // Дальневосточ. мед. журнал-2007-№1-С.41-44.
2. Вишневский А.А., Рудаков С.С., Миланов Н.О. и др. Хирургия грудной стенки. Руководство-М.: Видар-М, 2005.-301 с. [Vishnevskiy A.A., Rudakov S.S., Milanov N.O. et al. Khirurgiya grudnoy stenki. (Chest wall surgery manual.) Moscow: Vidar-M. 2015: 301. (In Russ.)]
3. А.А. Вишневский, А.А. Печетов, Д.В. Даньков Ассиметричная стернотомия как фактор риска в развитии послеоперационного стерномедиастинита // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия : научно-практический журнал. – М., 2012. – N 2. – С. 19-23
4. Meeks M.D, Lozekoot P.W, Verstraeten S.E. et al. Poststernotomy mediastinitis and the role of broken steel wires: retrospective study // Innovations (Phila). — 2013. — Vol. 8, N 3. — P. 219-224.
5. Chaadhuri A., Shekar K., Couter C. Post-operative deep sternal wound infections : making an early microbiological diagnosis. Eur. J. Cardiothorac. Surg. 2012; 41: 1304-1308.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ИММЕДИАТ-ПРОТЕЗИРОВАНИЕ КАК ПРЕДПРОТЕЗНАЯ ПОДГОТОВКА ПОЛОСТИ РТА

С.А. Мартиросова

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Стоматологическое отделение КБ № 123*

**Актуальность проблемы.** Одной из актуальных проблем ортопедической стоматологии является оптимальное сохранение объема тканей протезного ложа после операции удаления зубов [3-5]. Поиск способов повышения эффективности лечения больных в период от удаления зуба до изготовления постоянной ортопедической конструкции, а также методов, способствующих снижению атрофии костной ткани, остается одной из важнейших задач ортопедической стоматологии [1,2,6-8].

**Материал и методы.** Нами были обследованы 83 пациента с пародонтитом, пародонтозом и различными формами гингивита в совокупности обратившихся в стоматологическое отделение Клинической Больницы №123 ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России за период 12 месяцев, нуждавшихся в последующем в иммедиа-протезировании. Было проведено 20 операций по вестибулопластике, 34 операции по костной пластике (удаление экзостозов).

**Результаты и обсуждения.** Врач-стоматолог ортопед должен определить особенности протезирования в зависимости от анатомического, физиологического, патологического и гигиенического состояния зубочелюстной системы пациента. В случаях, когда невозможно немедленно завершить лечение, показано применение иммедиа-протезов, особенно для предупреждения развития патологии височно-нижнечелюстного сустава. Можно применять только те материалы и сплавы, которые допущены к применению, клинически апробированы, безопасность которых доказана и подтверждена клиническим опытом.

После тщательных клинических и рентгенологических исследований необходимо определить зубы, подлежащие удалению. Показания к удалению или сохранению зубов при заболеваниях периодонта до последнего времени большинством специалистов определялись только в зависимости от степени подвижности зубов. В настоящее время утвердилось мнение, что зубы III- IV степени подвижности не подлежат шинированию и их нужно удалять. Удаление зубов вызывает ряд анатомических, функциональных и эстетических изменений: нарушаются процессы жевания, искажается речь, нарушаются эстетические нормы.

В работе используют временные пластиночные иммедиа-протезы с жестким базисом и с базисом на мягкой подкладке которые изготавливают в зуботехнической лаборатории до удаления зубов после снятия альгинатных оттисков.

В процессе работы будут выявлены преимущества предлагаемых базисов для формирования протезного ложа, наиболее благоприятного для дальнейшего протезирования.

Использование данного метода позволяет повысить функционирование зубочелюстной системы пациента и улучшить качество жизни.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

**Выводы.** Большая роль имедиат-протезов заключается в реабилитации, поскольку восстанавливается эстетика, функция жевания и фонетика, позволяет сохранить высоту нижнего отдела лица, которая может быть изменена в результате удаления зубов, удерживающих ее. Кроме этого, имедиат-протезирование имеет лечебный эффект. Под протезом происходит формирование альвеолярного отростка, и ускоряются репаративные процессы костной ткани, кроме того протез служит как «повязка» и способствует сближению краев раны.

Таким образом, имедиат-протезирование: • позволяет восстановить жизненно важные функции — жевание, речь; • сохраняет работоспособность, служит повязкой для послеоперационной раны; • имеет защитную функцию; • передает жевательное давление на альвеолярный отросток, стимулируя костеобразовательные процессы; • обеспечивает эстетический эффект; • формирует протезное ложе.

### Список литературы

1. Гаврилов Е.И. Протез и протезное ложе. М.: Медицина, 1979.
2. Гаврилов Е.И., Щербаков А.С. Ортопедическая стоматология: Учебник / 3-е изд., М.: Медицина, 1984, с. 82–83
3. Калинина Н.В., Загорский В.А. Протезирование при полной потере зубов. — М.: Медицина, 1990. — 224 с.
4. Копейкин В.Н., Миргазизов М.З. Ортопедическая стоматология: Учебник — Изд. 2-е доп. — М.: Медицина, 2001
5. Котляр А.А. К вопросу о непосредственном протезировании / / Стоматология, 1952, № 24, с. 46
6. Мышковская М.Я. и др. Изготовление непосредственных протезов при пародонтозе / / Здоровоохранение Белоруссии, 1980, № 2, с. 44-47.
7. Руководство по ортопедической стоматологии. / Под ред. В.Н.Копейкина. — М., 1993.
8. Справочник по стоматологии. /Под ред. В.М. Безрукова. — М.: Медицина, 1998



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### БИОСПЕЦИФИЧНОСТЬ СВЯЗЫВАНИЯ ПРОТЕИНОВ С ТИАМИНОМ КАК ЛИГАНДОМ АФФИННОГО СОРБЕНТА

О.А. Меженская, О.В. Музычка, А.И. Вовк, В.И. Буник, Ю.М. Пархоменко

*Институт биохимии им. А.В. Палладина НАН Украины*

Положивший начало витаминологии витамин В<sub>1</sub> (тиамин), несмотря на многолетние исследования, не открыл ещё всех своих секретов. Расшифровка молекулярных механизмов, лежащих в основе исключительно высокой чувствительности нервных клеток к дефициту тиамин, даст возможность разрабатывать новые подходы в терапии нейродегенеративных заболеваний, включая болезни Альцгеймера и Паркинсона. Объяснить высокую степень чувствительности нервных клеток к недостатку тиамин только участием его дифосфата (кокарбоксилаза) как кофермента в функционировании ключевых ферментов углеводного обмена не получается. В то же время накапливаются убедительные доказательства существования иных – некоферментных – механизмов участия биологически активных производных тиамин в клеточных процессах. Одним из эффективных подходов к выявлению таких механизмов может быть идентификация клеточных протеинов, связывающих тиамин или его производные. Для выделения таких протеинов, в частности, используются аффинные сорбенты с тиамин в качестве лиганда (Кляшицкий и др., 1980; Постоенко и др., 1987; Mkrtchyan et al., 2015). С помощью подобного аффинного сорбента (АС) с последующей гель-фильтрацией из плазматических мембран синапсом (ПМС) был изолирован тиамин-связывающий протеин, который также проявлял способность избирательно гидролизовать тиаминфосфаты, в том числе тиаминди- (ТДФ) и трифосфат (ТТФ). Идентифицировать этот протеин как индивидуальный до сих пор не удалось. В то же время в элюатах с аффинного сорбента с помощью масс-спектрометрии был идентифицирован целый ряд протеинов, не известных ранее как тиамин-зависимые (Mkrtchyan et al., 2015). Среди этих протеинов достаточно высокую долю составляли энзимы – малатдегидрогеназа (МДГ) и глутаматдегидрогеназа (ГДГ), а также, в меньшей степени, АТФ-аза. Для этих энзимов связывание тиамин и(или) его производных было подтверждено кинетическими исследованиями. Однако в отсутствие таких дополнительных исследований существует вероятность, что многие из связывающихся на АС протеинов, взаимодействуют не с тиамин на АС, а с самим носителем либо ножкой сорбента. С целью выяснения биоспецифичности адсорбции отдельных протеинов на «тиаминовом» аффинном сорбенте (ТАС) и его матрице со спейсером, мы провели синтез двух типов сорбентов. Первый сорбент содержал в качестве лиганда тиамин и был получен по методу Кляшицкого Б.А. с модификацией Вовк А.И. (Постоенко и др., 1987). ТАС синтезирован активацией носителя – сефарозы 4В – бромцианом с применением спейсера – гидразида N-4-аминобензоил-ε-аминокапроновой кислоты. К спейсеру ковалентно привязывали лиганд – тиамин, для чего использовали тиамин бромид. Второй сорбент, в отличие от первого, лиганда не имел, т. е. к активированной матрице был привязан только спейсер. Для выделения протеинов брали следующий биологический материал: 1) гомогенат ткани мозга крысы; 2) экстракт ацетонового порошка (АП) мозга крысы. Специфичность сорбции вышеупомянутых



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

протеинов (МДГ, ГДГ, АТФазы, ТДФ-азы) оценивали по измерению их активности в элюатах с сорбентов и по картине электрофореза (ЭФ) в денатурирующих условиях. В результате серии экспериментов обнаружены различия в спектре протеинов, сорбирующихся на обоих носителях. Во фракциях протеинов, элюированных с сорбента без тиамин, выявляется только аденозинтрифосфатазная активность, однако она в 4 раза ниже, чем во фракциях, полученных элюцией 1М NaCl с тАС. Не исключено, что данная активность принадлежит разным протеинам, обладающим аденозинтрифосфатазной активностью. МДГ-азной, ГДГ-азной и ТДФ-азной активностей протеиновые фракции, элюированные с сорбента без тиамин, не проявили. Следовательно, аналогично протеину (протеинам), имеющему ТДФ-азную активность, МДГ и ГДГ, а, возможно, и определённые протеины с АТФ-азной активностью специфически взаимодействуют с тиаминовой группировкой тАС, а не непосредственно с матрицей или спейсером. Для более точных подтверждений необходимы дальнейшие исследования.

### Список литературы

1. Постоенко В.А., Пархоменко Ю.М., Вовк А.И., Халмурадов А.Г., Донченко Г.В. Выделение и некоторые свойства тиаминсвязывающего белка синапсом головного мозга крыс // Биохимия. – 1987. – Т.52, вып.11. – С.1792-1797.
2. Б.А. Кляшицкий, В.Ф. Позднев, В.Х. Митина и др. Хроматография пируватдекарбоксилазы из пивных дрожжей // Биоорг. химия. – 1980. – № 6 – С. 1572–1579.
3. Mkrtchyan G., Aleshin V., Parkhomenko Y., Kaehne T., di Salvo M.L., Parroni A., Contestabile R., Vovk A., Bunik V. Molecular mechanisms of the non-coenzyme action of thiamin in brain: biochemical, structural and pathway analysis // Sci.Rep. 5, 12583; doi: 10.1038/srep12583 (2015), PMID: 26212886



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### КОМПЕНСАТОРНЫЕ ПРОЦЕССЫ В НИГРОСТРИАТНОЙ СИСТЕМЕ У МЫШЕЙ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ДОКЛИНИЧЕСКОЙ И РАННЕЙ КЛИНИЧЕСКОЙ СТАДИЙ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Э.Р. Мингазов

*ФГУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Лаборатория нервных и нейроэндокринных регуляций*

Ключевым звеном патогенеза болезни Паркинсона (БП) является дегенерация дофаминергических (ДА-ергических) нейронов nigrostriatной системы мозга, которая в норме участвует в регуляции двигательных функций. БП развивается в течение многих лет на доклинической стадии, т. е. без нарушения двигательных функций, что обусловлено нейропластичностью мозга, обеспечивающей компенсацию функциональной недостаточности nigrostriatной дофаминергической системы. Предполагается, что нарушение моторики является следствием не только дегенерации nigrostriatной ДА-ергической системы, но и исчерпания лимитов компенсаторных процессов.

Цель данной работы – поиск компенсаторных механизмов, развивающихся на доклинической стадии, и триггеров, приводящих к проявлению моторных нарушений на клинической стадии БП.

В работе использовались самцы линии C57BL/6 в возрасте 2–2,5 месяца и весом 22–26 г. Для воспроизведения доклинической и ранней клинической стадии БП МФТП вводили двукратно с 2-часовым интервалом в дозе 10 мг/кг и четырехкратно с 2-часовым интервалом в дозе 8 мг/кг. Контрольной группе вводили 0,9% NaCl по аналогичной схеме. Через 2 недели после последней инъекции животных декапитировали, извлекали мозг и выделяли черную субстанцию (ЧС) и стриатум. В выделенных образцах оценивали содержание дофамина (ДА), уровень его спонтанного и стимулированного выделения, обратный захват [3Н]-ДА. Содержание мембранного транспортера ДА (ДАТ) и везикулярного транспортера моноаминов 2 (VMAT2) в ЧС и стриатуме определяли методом вестерн-блоттинга (ВБ). Уровень экспрессии мРНК ДАТ и VMAT2 в ЧС определяли методом ПЦР в реальном времени.

Анализ содержания ДА в ЧС показал, что через 2 недели после введения МФТП уровень ДА не изменился на обеих стадиях. Содержание ДА в стриатуме на доклинической стадии снизилось на 59% по сравнению с контролем, а на ранней симптомной стадии – на 83%. Уровень спонтанного и стимулированного выделения ДА в ЧС остался без изменений на обеих стадиях. При этом в стриатуме на доклинической стадии спонтанное выделение ДА снизилось на 40%, а стимулированное выделение увеличилось на 30%. На ранней клинической стадии спонтанное и стимулированное выделение ДА снизилось на 60% и 30%, соответственно.

Уровень захвата 3Н-ДА в ЧС и в стриатуме на моделях досимптомной и ранней симптомной стадий показал, что ни в одном из случаев обратный захват ДА не изменился по сравнению с контролем.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

*19–20 апреля 2016*

На доклинической стадии содержание мРНК ДАТ в ЧС не изменилось, а VMAT2 снизилось на 41%. При этом количество белка ДАТ снизилось на 28%, а VMAT2 осталось без изменений. На ранней клинической стадии содержание мРНК ДАТ и VMAT2 снижалось соответственно на 63% и 52%. Количество белка ДАТ снизилось на 50%, а VMAT2 не изменилось по сравнению с контролем. Количество белка ДАТ в стриатуме на доклинической стадии снизилось на 35%, тогда как на клинической стадии количество белка ДАТ снизилось на 49%, а VMAT2 – на 57%.

Таким образом, на доклинической стадии в стриатуме показано компенсаторное увеличение стимулированного выделения и захвата ДА, тогда как на ранней клинической стадии выявлены триггеры, приводящие к моторным нарушениям, такие как снижение спонтанного и стимулированного выделения ДА, снижение количества белка ДАТ и VMAT2, а также снижение экспрессии мРНК этих белков в ЧС.





# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## КЛИНИЧЕСКИЕ И ТАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ОСТРОЙ ДЫХАТЕЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Ф.Б. Мирзаев

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Отделение реанимации и интенсивной терапии КБ № 123*

**Актуальность.** Острая дыхательная недостаточность (ОДН)- быстро нарастающее тяжелое состояние, обусловленное несоответствием возможностей аппарата внешнего дыхания метаболическим потребностям органов и тканей, при котором наступает максимальное напряжение компенсаторных механизмов дыхания и кровообращения с последующим их истощением. Даже при максимальном напряжении компенсаторных механизмов чаще всего не обеспечивается нормальное  $P_{aO_2}$  и нормальное  $P_{aCO_2}$ . ОДН всегда сопровождается нарушениями гемодинамики [1,2].

Цель – дать понятие клиническим и тактическим аспектам заместительной терапии ОДН, а также определить частоту встречаемости и соответствие общепризнанных критериев проведения заместительной терапии у больных отделения реанимации и интенсивной терапии с развитием клинических и лабораторно- инструментальных признаков ОДН.

**Материал и методы.** Основу работы составили материалы наблюдений и ретроспективный анализ медицинской документации (истории болезни) 54 больных, находившихся на лечении в ОРИТ последние 6 месяцев, которым была проведена заместительная терапия синдрома острой дыхательной недостаточности. Необходимо отметить, что синдром острой дыхательной недостаточности, развился у больных с исходно разными нозологическими единицами. Математическая обработка зарегистрировавшихся данных выполнена на персональном компьютере типа Intel Core i7 с операционной системой Windows 7 с пакетом прикладных программ Microsoft Office 7.

**Результаты.** При этом наличие патологического результата газового анализа крови являлось достаточным критерием для немедленного проведения заместительной терапии, т.е. 30 больных (55.5 % из общей выборки больных, группа А), что соответствует общепринятым рекомендациям [3]. Из второй же группы (группа Б) заместительная терапия проводилась незамедлительно после интерпретации результатов полученных лабораторных исследований экстраполированных на больного с клинической картиной ОДН, лишь у 20 больных (37,1%), у 4 больных (7,1 %, так называемая группа Б1 ) проводилось динамическое наблюдение и проведение ИВЛ, лишь при получении патологических значений газового анализа крови, что было лишь вопросом времени.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### Анализ выживших больных

Выжившие больные	Абсолютное число	Процент (%)
Группа А	5	9,2
Группа Б	20	37,0
Группа Б1	0	0
Всего	25	46,2

**Заключение.** Необходимость как можно более раннего проведения у больных с ОДН заместительной терапии. Чем раньше начато проведение ИВЛ, тем больше вероятность восстановления спонтанного дыхания, и как следствие выживаемость больных. Одна из самых частых ошибок при лечении больных с дыхательной недостаточностью- позднее начало ИВЛ. Брать во внимание не только абсолютные показания для проведения заместительной терапии острой дыхательной недостаточности, но и сочетание, как минимум, двух относительных, а при тяжелой сопутствующей патологии и одного. Если перевод на ИВЛ был выполнен без достаточных оснований, то ничто не мешает легко «снять» больного с респиратора без всякого ущерба для него.

### Список литературы

1. Зильбер А.П. // Клиническая физиология в анестезиологии и реаниматологии, 1994 г.
2. Кассиль В.Л., Выжигина М.А., Лескин Г.С. // Искусственная и вспомогательная вентиляция легких.- М.: Медицина, 2004.
3. Национальное руководство по интенсивной терапии в 2 т / под редакцией Б.Р. Гельфанда, А.И. Салтанова – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009.
4. Царенко С.В. // Практический курс ИВЛ, 2007



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### Т-ЛИМФОЦИТЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И ИХ МИКРОЧАСТИЦЫ ПРИ ПРЕЭКЛАМПСИИ

*В.А. Михайлова, К.Л. Белякова, Д.О. Баженов, Е.А. Михайлова, С.А. Сельков, Д.И. Соколов  
ФГБНУ «НИИ АГ и Р им. Д.О. Отта», Лаборатория межклеточных взаимодействий отдела  
иммунологии и межклеточных взаимодействий*

Одной из распространенных патологий беременности является преэклампсия, патогенез которой связан с развитием воспаления в зоне маточно-плацентарного контакта. Патофизиологический процесс преэклампсии сопровождается изменением состава основных популяций лейкоцитов в децидуальной оболочке [1] и в периферической крови [2]. До наступления беременности Т-лимфоциты присутствуют в эндометрии, после наступления беременности количество Т-лимфоцитов в децидуальной оболочке снижается [3]. Так как в результате различных межклеточных взаимодействий все эукариотические клетки образуют мембранные микрочастицы [3, 4], вероятно, Т-лимфоциты также могут образовывать микрочастицы. В настоящее время недостаточно полно описаны фенотипические характеристики Т-лимфоцитов периферической крови и образуемых ими микрочастиц при беременности в норме и при преэклампсии.

Целью работы было определение фенотипических характеристик Т-лимфоцитов периферической крови и образуемых ими микрочастиц при преэклампсии.

**Материалы и методы.** Протокол исследования был одобрен Этическим Комитетом ФГБНУ «НИИ АГ и Р им. Д.О. Отта». Обследовано 89 небеременных женщин, 91 женщин с физиологической беременностью на сроке 38–39 недель, 118 женщины с беременностью, осложненной преэклампсией на сроке 38–39 недель. Объектом исследования явилась периферическая кровь. Функциональные тесты по оценке адгезии и трансэндотелиальной миграции Т-лимфоцитов выполняли *in vitro* с применением совместной инкубации мононуклеаров периферической крови и эндотелиальных клеток линии Ea.Hy 926 и последующей окраски антитела к CD45, CD3, CD8, CD4. Экспрессию Т-лимфоцитами периферической крови адгезионных молекул, рецепторов к хемокинам и ростовым факторам оценивали с помощью метода проточной цитофлюориметрии на приборе FACSCantoll. Для анализа микрочастиц Т-лимфоцитов периферическую кровь последовательно центрифугировали при 2600g, 9900g, 19800g, после чего выделенные микрочастицы обрабатывали антителами к CD45, CD3, CD4, CD8.

**Результаты.** Количество Т-лимфоцитов, адгезировавших к активированному эндотелию, по сравнению с количеством Т-лимфоцитов, адгезировавших к интактному эндотелию, было повышено в группе женщин с физиологической беременностью и группе женщин с преэклампсией. В группе женщин с преэклампсией количество CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> лимфоцитов, адгезировавших к активированному эндотелию, было повышено по сравнению с количеством CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> лимфоцитов, адгезировавших к интактному эндотелию. При преэклампсии по сравнению с физиологической беременностью после трансэндотелиальной миграции в нижней камере трансвелла снижено абсолютное количество CD3<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

Установлено, что физиологическая беременность характеризуется повышенной экспрессией CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитами периферической крови рецепторов к хемокинам SDF-1 (CD184), MIP-3 $\beta$  и SLC (CD197), MCP-1 (CD192) и IFN $\gamma$  (CD119) и ряда молекул межклеточной адгезии (CD29, CD49d, интегрин  $\beta$ 7, CD11b, CD11c, CD54). Преэклампсия сопровождается значительным повышением экспрессии CD18 на CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитах периферической крови. CD4<sup>+</sup> Т-лимфоциты при физиологической беременности характеризуются повышенной экспрессией рецепторов к хемокинам SDF-1, MCP-1, MIP-3 $\beta$ , SLC, CXCL13, IFN $\gamma$  и адгезионных молекул интеринового типа CD29, CD49d, Интегрин  $\beta$ 7 и CD47. Преэклампсия по сравнению с физиологической беременностью сопровождается снижением экспрессии интегринов и CD47 CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитами.

У женщин при физиологической беременности по сравнению со здоровыми небеременными женщинами повышено абсолютное количество микрочастиц, отдельно экспрессирующих CD45, CD3, CD4, CD8. Анализ совместной экспрессии лейкоцитарных маркеров на микрочастицах клеток периферической крови выявил, что у женщин с физиологической беременностью по сравнению со здоровыми небеременными повышено количество микрочастиц с фенотипом CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>. Различий по содержанию микрочастиц, совместно экспрессирующих рецепторы CD45, CD3, CD4, CD8, при преэклампсии и при физиологической беременности выявлено не было.

Таким образом, развитие преэклампсии сопровождается изменением функциональных и фенотипических характеристик Т-лимфоцитов периферической крови, что, однако не оказывает влияния на содержание микрочастиц Т-лимфоцитов в плазме крови.

### Список литературы

1. Wilczynski, J.R., et al., Lymphocyte subset distribution and cytokine secretion in third trimester decidua in normal pregnancy and preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2003. 109(1): p. 8-15.
2. Соколов, Д.И., С.А. Сельков, Иммунологический контроль формирования сосудистой сети плаценты. 2012, Спб: Н.-Л. 208.
3. Mause, S.F. and C. Weber, Microparticles: protagonists of a novel communication network for intercellular information exchange. *Circ Res*, 2010. 107(9): p. 1047-57.
4. Burger, D., et al., Microparticles: biomarkers and beyond. *Clin Sci (Lond)*, 2013. 124(7): p. 423-41.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ВЫЯВЛЕНИЕ СОСУДИСТЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ОРГАНОВ МЫШЕЙ СТОКА CD-1 НА ФОНЕ НИЗКОГО УРОВНЯ MAO A

М.А. Наумова

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Лаборатория молекулярной фармакологии*

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются основными причинами смерти населения экономически развитых стран мира, большинства стран с переходной экономикой и становятся проблемой для развивающихся стран. Ежегодно в мире от ССЗ умирает около 17 млн человек. Значительная распространенность сосудистых заболеваний сердечной системы и головного мозга, высокая летальность и инвалидизация больных делает эту проблему чрезвычайно актуальной. Однако в настоящее время в литературе нет данных, свидетельствующих о роли MAO A в патологии сосудистых поражений. Известно, что моноаминоксидазы являются ключевыми ферментами деградации катехоламинов (адреналина, норадреналина, дофамина), принимающих участие в регуляции тонуса сосудов. Понижение уровня MAO A оказывает гипотензивный эффект на мелкие кровеносные сосуды, что может вызвать тромбоцит опосредованное нарушение целостности капилляров, процесс, который лежит в основе сердечно – сосудистых и цереброваскулярных патологий.

Цель – показать, что низкий уровень MAO A приводит к сосудистым патологиям в тканях и органах. Выяснение механизма влияния пониженного уровня MAO A на сосудистую систему позволит проводить раннюю диагностику сосудистых патологий, а также обнаружить новые мишени для лекарственной терапии данных заболеваний, что позволит разработать новые методы лечения сосудистых заболеваний.

В опытах *in vivo* использовали самцов мышей CD-1 (поставщик НПП «Питомник лабораторных животных» ФИБХ РАН, г. Пущино). Мыши содержались согласно Правилам содержания животных в установке Techniplast IVC Transport Unit. Возраст животных к началу экспериментов составлял 8–10 недель. Мыши обоих полов были разделены на 2 группы: опытную и контрольную. Самцы (n=25) в опытной группе получали препарат «Аурорикс» (моклобемид). Самцы (n=25) в контрольной группе оставались интактными на всем протяжении эксперимента. По окончании опыта мышей эвтаназировали в камере с углекислым газом, экстерпарировали мозг и печень, почки, сердце. Гистологическому исследованию подвергались печень, почки, сердце и головной мозг мышей. Органы фиксировали, обезвоживали и пропитывали парафином. Из парафиновых блоков делали срезы толщиной 4-6 мкм. Срезы окрашивали гематоксилин-эозином и исследовали при помощи световой микроскопии при увеличении  $\times 40$ .

В ходе патоморфологического анализа не было выявлено внешних патологий в морфологии сердца и печени. В образцах мозга опытных мышей наблюдалась повышенная гиперемия и полнокровие сосудов. В контроле патологий не обнаружено. В сердце опытных мышей наблюдается инфильтрация нейтрофилов, что может свидетельствовать о начале



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

воспалительного процесса, что в свою очередь может быть следствием некроза, вызванного резким сужением сосудов. В контрольных образцах сосуды были без патологий. Опытные образцы мозга содержат неравномерное утолщение стенок сосудов. Неравномерный диаметр эластичных волокон и гладких мышц сосудов может свидетельствовать о патологических процессах в сосудистой ткани.

В ходе проведенного гистологического анализа мы сделали вывод, что пониженный уровень MAO A вызывает нарушения в структуре сосудов головного мозга и сердца мышей.

### Список литературы

1. Hope Through Research [электронный ресурс]: – National Institute of Neurological Disorders and Stroke, 1999. – Режим доступа – [http://www.ninds.nih.gov/disorders/stroke/detail\\_stroke.htm](http://www.ninds.nih.gov/disorders/stroke/detail_stroke.htm)
2. Bach, A. W. cDNA cloning of human liver monoamine oxidase A and B: molecular basis of differences in enzymatic properties [Text] / N. C. Lan, D. L. Johnson, C. W. Abell, M. E. Bembenek, S. W. Kwan, P. H. Seeburg, J. C. Shih // Proc. Natl. Acad. Sci. USA – 1988. – V.85. – P. 4934–4938.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА RNA-seq ДЛЯ АНАЛИЗА ЭКСПРЕССИОННЫХ ПРОФИЛЕЙ ФИКСИРОВАННЫХ В ФОРМАЛИНЕ ПАРАФИНИРОВАННЫХ ТКАНЕЙ, ПОЛУЧЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ С РАКОМ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А. Никитина<sup>1,2</sup>, Е. Шарова<sup>1</sup>, С. Даниленко<sup>1</sup>, Т. Бутусова<sup>1</sup>, К. Бабалян<sup>1</sup>, К. Ануфриева<sup>1</sup>, Е. Кострюкова<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Лаборатория постгеномных исследований в биологии;

<sup>2</sup>Московский физико-технический институт (Государственный университет)

Рак предстательной железы является вторым по уровню смертности злокачественным заболеванием среди мужчин, для которого в год количество зарегистрированных случаев превышает 899 000, а уровень смертности составляет более 258 000 [1]. При этом, для столь распространенного заболевания, характеризующегося высокой вариабильностью по степени агрессивности и множеством различных подходов к лечению, существует острая потребность в надежных биомаркерах, как прогностических, так и предиктивных, а также позволяющих дифференциально диагностировать РПЖ и доброкачественную гиперплазию предстательной железы (ДГПЖ) [2]. Одним из перспективных подходов для решения данной задачи, а также для формирования более глубокого понимания молекулярных механизмов развития РПЖ является анализ профиля экспрессии генов на уровне РНК в клетках злокачественного новообразования.[3] Удобным источником таких РНК являются фиксированные в формалине парафинированные (FFPE) образцы ткани, получение которых от пациентов при оперативном вмешательстве давно вошло в клиническую практику. На сегодняшний день наиболее полную картину, отражающую профиль экспрессии ткани, можно получить методом высокопроизводительного параллельного секвенирования РНК (RNA-seq). Представляется интересным оценить возможности подхода, основанного на методе RNA-seq в применении к FFPE образцам, в контексте исследования РПЖ.

В данной работе был проведен анализ FFPE образцов тканей, полученных от 15 пациентов с РПЖ и от 3 пациентов с ДГПЖ. Методом РНК-секвенирования были получены данные экспрессии, соответствующие парным образцам от одного и того же пациента: опухолевой и гистологически не измененной прилегающей ткани. Первичный анализ, основанный на многомерном шкалировании (MDS), подтвердил значительное различие экспрессионных профилей этих двух типов тканей. Далее был проведен анализ дифференциальной экспрессии генов между двумя группами образцов: в первую входили образцы, соответствующие «раковой», перерожденной ткани, вторая же группа включала в себя все остальные, то есть «не раковые» образцы, в том числе и относящиеся к ДГПЖ. В результате было обнаружено 2479 статистически значимо дифференциально экспрессированных генов ( $FDR < 0.05$ ), из которых 2199 оказались белок-кодирующими, 77 – длинными некодирующими РНК и 203 соответствовали иным типам некодирующих РНК. При этом некоторые известные по литературным данным потенциальные маркеры РПЖ, такие



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

как PCA3 и EVCAM вошли в полученный список, в то время как другие, например ген KLK3 (PSA), показали недостаточные изменения уровня экспрессии, чтобы назвать их дифференциально экспрессированными для данной выборки.

Таким образом, полученные данные с одной стороны подтверждают принципиальную возможность и адекватность применения метода RNA-seq для анализа РНК, полученной из FFPE образцов, с целью поиска потенциальных биомаркеров РПЖ, а с другой – указывают на недостаточную стабильность и неполноту набора известных на данный момент потенциальных биомаркеров РПЖ и необходимость углубления и расширения имеющейся базы знаний в данной области.

### Список литературы

- [1] A. Jemal, J. Lortet-tieulent, E. Ward, J. Ferlay, O. Brawley, and F. Bray, “International Variation in Prostate Cancer Incidence and Mortality Rates,” vol. 61, pp. 1079–1092, 2012.
- [2] A. M. DeMarzo, W. G. Nelson, W. B. Isaacs, and J. I. Epstein, “Pathological and molecular aspects of prostate cancer.,” *Lancet (London, England)*, vol. 361, no. 9361, pp. 955–64, Mar. 2003.
- [3] T. R. Golub, “Molecular Classification of Cancer: Class Discovery and Class Prediction by Gene Expression Monitoring,” *Science (80-. )*, vol. 286, no. 5439, pp. 531–537, Oct. 1999.





## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ОСОБЕННОСТИ СТАТИСТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ ДАННЫХ МЕТАГЕНОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ В СРЕДЕ R

В.Е. Одинцова, А.В. Тяхт, Д.Г. Алексеев

ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Лаборатория биоинформатики

Анализ данных, полученных путем метагеномного секвенирования, – один из распространённых методов изучения структуры микробных сообществ [1]. Важной частью метагеномного исследования является проверка гипотез о взаимосвязи состава микробиоты с какими-либо факторами (например, полом, возрастом, диетой, наличием опеределенных заболеваний и т.п). В данной работе описаны статистические особенности метагеномных данных, проведён сравнительный обзор методов для статистической обработки метагеномов в среде R, в том числе с учетом опубликованных испытаний этих методов; приведены рекомендации по использованию.

Статистическая оценка важна уже на стадии планирования схемы метагеномного исследования – для оценки статистической мощности результатов, которые будут впоследствии получены. После первичной обработки данных образцам для каждого образца получают основное представление в виде признакового вектора, описывающего относительную представленность бактериальных таксонов в нем. Эти данные обладают рядом особенностей, требующих аккуратного выбора статистических методов, как-то: вариация общей суммы компонент вектора, неоднородность дисперсии представленности таксонов и существенное отклонения распределения данных от нормального.

Среда R широко используется биологами для анализа метагеномных данных благодаря множеству общедоступных пакетов, учитывающих эти особенности [2, 3]. Для покомпонентного сравнения нескольких групп можно воспользоваться пакетом *ALDEx2*, который включает в состав функции стабилизирующего дисперсию преобразования данных (инструмент для более корректного сравнения при небольшом размере выборки), а также статистических критериев Уэлча, Вилкоксона и метод ANOVA. Для сравнения структуры микробных сообществ в целом (например, в смысле бета-разнообразия) можно воспользоваться пакетом *HMP*, основанном на параметрическом сравнении, либо реализованным в пакете *vegan* методом PERMANOVA в сочетании с пакетом *micropower* для оценки необходимого размера выборки. Для многофакторного анализа широко используются пакеты *edgeR* и *DESeq2*, изначально предназначенные для анализа уровня экспрессии генов, а также специально разработанный для данных 16S рНК секвенирования пакет *metagenomeSeq*. Выбор конкретного пакета и способа его применения зависит от характера и количества факторов, парности дизайна эксперимента и доступного количества образцов, и может существенно влиять на межгрупповые различия и другие ключевые результаты метагеномного анализа.

Работа осуществлялась за счет средств субсидии RFMEFI60414X0119 при финансовой поддержке государства в лице Минобрнауки России.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### Список литературы

1. Jonsson, Viktor, et al. "Statistical evaluation of methods for identification of differentially abundant genes in comparative metagenomics." *BMC genomics* 17.1 (2016): 1.
2. Goodrich. J.K. et al. (2014) *Conducting a Microbiom Study*. Cell 158, P.250-262.
3. Weiss S. J. et al. Effects of library size variance, sparsity, and compositionality on the analysis of microbiome data. – PeerJ PrePrints, 2015. – №. e1408.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ЗНАЧИМОСТЬ ЦЕНЗУРИРОВАННЫХ НАБЛЮДЕНИЙ ПРИ АНАЛИЗЕ БЕЗРЕЦИДИВНОЙ ВЫЖИВАЕМОСТИ В КЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЯХ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ФАРМПРЕПАРАТОВ

Д.Д. Онищенко, О.А. Степанов

ООО «M&S Decisions», Москва

Выходу нового лекарственного средства на рынок всегда предшествует продолжительная цепочка клинических испытаний (КИ). Анализ эффективности проводится только при доказанной безопасности лекарства; при этом осуществляется сравнение действия экспериментального препарата с плацебо или стандартом лечения исследуемого заболевания.

При исследовании эффективности онкологических препаратов проявляется ряд специфических особенностей, связанных с этическими аспектами онкологических КИ и со статистическими особенностями конечных точек подобных исследований. Главная из этих особенностей – значительный риск назначения плацебо раковым больным, что требует использования стандарта лечения в контрольной группе [1].

Среди критериев эффективности лечения, наряду с объективными характеристиками динамики заболевания (связанными с изменением размера опухоли), обязательно должны присутствовать статистические характеристики, связанные с выживаемостью, так как именно увеличение продолжительности жизни и/или продолжительности безрецидивного периода является конечным показателем эффективности действия препарата [2]. При этом важно, что для ряда онкологических заболеваний увеличение выживаемости на 3–4 месяца может считаться клинически значимым для подтверждения эффективности [3].

С другой стороны, в онкологических КИ, как правило, выше доля пациентов с неполной информацией о продолжительности безрецидивного периода [2]. Для этого есть ряд причин, включая возможность перехода пациента из экспериментальной группы в контрольную, либо на другую терапию («терапию спасения»), предусмотренную протоколом КИ.

При выборе методов статистического сравнения безрецидивной выживаемости между двумя группами пациентов необходимо делать акцент на максимально эффективном использовании индивидуальных наблюдений – в том числе цензурированных, когда истинная продолжительность безрецидивного периода для данного пациента неизвестна, но имеются сведения об отсутствии прогрессирования опухоли до определённого момента времени. Существует ряд подходов к оценке функции выживаемости по клиническим данным, полученным для группы пациентов [4-6]. Различия между этими подходами обусловлены в основном тем, как вовлечены в анализ цензурированные значения выживаемости, и проявляются наиболее существенно именно в ситуациях, когда процент цензурированных наблюдений относительно велик.

В настоящей работе мы ставили себе целью показать, как доля цензурированных значений выживаемости, наблюдаемая на разных этапах КИ, может повлиять на конечный результат исследования при учёте и игнорировании подобных наблюдений. Для этого нами



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

были составлена база данных опубликованных результатов безрецидивной выживаемости в онкологических КИ. При анализе результатов исследований нами был выделен ряд типовых случаев, когда в исследовании доля пациентов с неполной информацией о выживаемости оказывалась сравнительно велика или, напротив, мала. Было показано, что в обоих случаях цензурированные наблюдения несут содержательную статистическую информацию о группе пациентов в целом, а их игнорирование может привести к существенному искажению оценки медианы выживаемости, причём как в большую, так и в меньшую сторону. Этот вывод был независимо повторён для нескольких методов оценки функции выживаемости.

### Список литературы

1. Bernstein M., Curr. Oncol., 2006, V. 13 (2), P. 55–60.
2. Соухами Р., Тобайас Дж., Рак и его лечение: Пер. с англ., М.: «Бином. Лаборатория знаний», 2009.
3. Fleming T.R., Rothmann M.D., Lu H.L., J. Clin. Oncol., 2009, V. 27 (17), P. 2874–2880.
4. Kaplan E.L., Meier P., J. Amer. Statist. Assn., 1958, V. 53 (282), P. 457–481.
5. Breslow N.E., Crowley J., Ann. Stat., 1974, V. 2, P. 437–454.
6. Andersen P.K., Borgan Ø., Gill R.D., Keiding N., Statistical Models Based on Counting Processes, New York: Springer-Verlag, 1993.



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## ФОРМИРОВАНИЕ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫХ МАТРИКСОВ МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОСПИННИНГА

Е.Р. Павлова, Д.В. Багров, Д.В. Клинов, А.П. Бонарцев, И.И. Жаркова

ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Лаборатория медицинских нанотехнологий

Электроспиннинг – это метод формования полимерных изделий, состоящих из волокон с диаметром от нескольких нанометров до нескольких микрон [1]. Волокнистое строение определяет их основные свойства: пористость, прочность, легкость, и делает привлекательными в качестве фильтров [2], носителей для доставки лекарств, подложек для катализаторов, а также матриц для выращивания тканей [3].

В данной работе получены и исследованы пленки различной ориентации и структуры из известных биосовместимых полимеров: полилактида, поли (гидроксibuтирата) (ПГБ), поли (гидроксibuтирата-со-валерата) (ПГБВ); трубки из полилактида; волокна из белков: фиброина шелка и бычьего сывороточного альбумина (БСА). Исследованы зависимости диаметра волокон от концентрации раствора полимера и ускоряющего напряжения.

Исследована биосовместимость пленок из ПГБВ *in vitro* на культуре клеток рака простаты человека линии DU-145. Для оценки жизнеспособности клеток использовался стандартный ХТТ-тест. Скорость роста клеток на волокнистой пленке сравнивали со скоростью роста на пленке ПГБВ, полученной методом полива. Обнаружено, что показатель жизнеспособности клеток на волокнистой пленке выше, чем на поливной из того же полимера. Это может быть связано с лучшими транспортными свойствами волокнистой пленки, а также с увеличением шероховатости пленки, которая обеспечивает лучшее прикрепление клеток.

Для увеличения гидрофильности были сделаны композитные пленки из ПГБВ (70%) и БСА (30%), изучена их структура. Контактный угол у композитных пленок уменьшается на 10 % по сравнению с пленками из чистого ПГБВ.

### Список литературы

- [1] A. Greiner and J. H. Wendorff, "Electrospinning: A Fascinating Method for the Preparation of Ultrathin Fibers," *Angew. Chemie Int. Ed.*, vol. 46, no. 30, pp. 5670–5703, 2007.
- [2] Y. Liu, M. Park, B. Ding, J. Kim, M. El-newehy, S. S. Al-deyab, and H. Kim, "Facile Electrospun Polyacrylonitrile / poly ( acrylic acid ) Nanofibrous Membranes for High Efficiency Particulate Air Filtration," vol. 16, no. 3, pp. 629–633, 2015.
- [3] T. J. Sill and H. A. Von Recum, "Electrospinning : Applications in drug delivery and tissue engineering," vol. 29, 2008.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### LC-MS/MS ИДЕНТИФИКАЦИЯ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ПЕПТИДНЫХ ФРАГМЕНТОВ, ТРАНСЛИРОВАННЫХ С lncRNA

П.В. Павлович<sup>1,2</sup>, Г.П. Арапиди<sup>1,2</sup>, О.М. Иванова<sup>1,2</sup>, Ф.В. Капранов<sup>3</sup>, В.М. Говорун<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова  
РАН

<sup>2</sup>Московский физико-технический институт (Государственный университет)

<sup>3</sup>ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА

Проект «Геном человека» завершился в 2003 году ([International Human Genome Sequencing Consortium, 2001](#)), однако анализ отдельных участков до сих пор не закончен, постоянно происходит обновление аннотации генома: обнаруживают новые гены. Согласно оценкам консорциума ENCODE, в клетках человека присутствуют транскрипты, покрывающие примерно 70% генома, и многие из них не являются известными тРНК, рРНК или мРНК ([Laurent, 2015](#)). Среди них выделяют отдельный класс длинных некодирующих РНК (lncRNA) – это транскрипты длиннее 200 нуклеотидов, с которых, как известно на сегодняшний день, трансляция не происходит ([Perkel, 2013](#)). Однако не все «lncRNA» являются действительно белок некодирующими. Например, в работе S. Prabakaran и его коллег данные масс-спектрометрического анализа выявили присутствие 250 новых пептидов мыши, кодируемых предположительно lncRNAs ([Prabakaran, 2014](#)). Таким образом, можно предположить, что часть lncRNA человека может являться транскриптами ранее неизвестных генов.

В нашей работе используется масс-спектрометр Sciex TripleTOF 5600+ для исследования пептидома сыворотки крови человека. Идентификация данных масс-спектрометрического исследования проводится против объединенной базы данных (БД): белки человека из UniProtKB и транслированная по шести рамкам считывания БД LNCipedia. LNCipedia представляет собой интегрированную базу хорошо аннотированных транскриптов из различных источников (high confidence set, 79769 transcripts).

Проверку вероятности трансляции транскриптов из LNCipedia проводили с помощью различных биоинформатических алгоритмов: blastx, hmmscan, CPAT, CNCI, CPC. Кроме того, была проанализирована встречаемость транскриптов из LNCipedia в двух клеточных локализациях: ядре и цитоплазме – для 18 клеточных линий по данным ENCODE.

Анализ 89 образцов сыворотки крови здоровых доноров позволил обнаружить 543 пептидов, которые не являются фрагментами известных белков человека, но транскрипты которых содержатся в БД LNCipedia. Эти пептиды встречаются в 819 lncRNAs. Статистический анализ позволил обнаружить корреляцию между вероятностью трансляции lncRNAs и идентификациями пептидов. В докладе будут обсуждаться планируемые шаги по валидации идентифицированных пептидов с помощью биоинформатических и экспериментальных методов.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ВЛИЯНИЕ ИНТРАНАЗАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ 4-МЕТИЛПИРАЗОЛА В НИЗКИХ ДОЗАХ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ПОТРЕБЛЕНИЕ 15% ЭТАНОЛА У ХРОНИЧЕСКИ АЛКОГОЛИЗИРОВАННЫХ КРЫС WISTAR

В.В. Павшинцев<sup>1</sup>, Н.А. Митькин<sup>2</sup>, М.Л. Ловать<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова;

<sup>2</sup>Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН

Алкогольдегидрогеназа (АДГ) – один из основных ферментов метаболизма этанола, катализирующий реакцию окисления спирта до ацетальдегида. Помимо этанола, субстратами АДГ могут выступать также метаболиты эндогенных биоаминов, таких как дофамин, серотонин, норадреналин [1, 2, 3]. Повышенная активность АДГ в организме, наблюдаемая при длительном приеме этанола [4], предположительно может быть причиной нарушения обмена биоаминов и, как следствие, формирования тяги к приему этанола. В ряде работ показано, что острое внутрибрюшинное введение 4-метилпиразола (неспецифического блокатора АДГ) оказывает кратковременный антиалкогольный эффект [5]. При этом роль единственной мозговой формы АДГ III, локализованной, в частности и в нейронах дофаминовой системы, в формировании алкогольной мотивации и обмене биоаминов оставалась неясной.

В данной работе было изучено влияние уровня мозговой активности АДГ III на формирование тяги к приему этанола и метаболизм биоаминов мозга у крыс.

В работе использовали хронически алкоголизованных в течение 6 месяцев 15% этанолом (по методу свободного выбора с водой) крыс стока Wistar SPF категории. Для подавления активности АДГ III мозга осуществляли интраназальное введение 4-метилпиразола в низких дозах, что позволяло избежать ингибирования печеночной изоформы АДГ. Фиксировали потребление 15% этанола, уровень биоаминов (дофамин, дофук, ГВК, адреналин, серотонин) в стриатумах анализировали методом ВЖЭХ.

Введение 4-метил пиразола приводило к снижению активности мозговой изоформы АДГ на 46%, однако не оказывало значимого влияние на потребление этанола крысами. При этом наблюдалось значимое дозозависимое уменьшение концентрации дофамина и увеличение уровня его метаболитов у групп, получавших 4-метилпиразол. Концентрации серотонина и норадреналина значимо не различались. Из полученных данных можно предположить, что изоформа АДГ III вносит существенный вклад в метаболизм дофамина при алкоголизации, однако не влияет на потребление этанола.

#### Список литературы

- [1] Meiser J., Weindl D., Hiller K. Complexity of dopamine metabolism // Cell Commun Signal. 2013. V. 11. № 1. P. 34.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

- [2] Svensson S., Some M., Lundsjö A., Helander A., Cronholm T., Höög J.O. Activities of human alcohol dehydrogenases in the metabolic pathways of ethanol and serotonin // *Eur J Biochem.* 1999. V. 262. № 2. P. 324-9.
- [3] Mardh G., Dingley A.L., Auld D.S., Vallee B.L. Human class II (pi) alcohol dehydrogenase has a redox-specific function in norepinephrine metabolism // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 1986. V. 83. № 23. P. 8908-8912.
- [4] Kravos M., Malešič I., Levanič S. Serum alcohol dehydrogenase levels in patients with mental disorders // *Clinica chimica acta.* 2005. V. 361. № 1. P. 86-94.
- [5] Ловать М.Л., Ключникова М.А., Кушнир Е.А., Ашмарин И.П. Влияние комплексного введения 4-метилпиразола, флуоксетина и тетурама на потребление этанола белыми крысами // *Вопросы наркологии.* 2005. № 3. С.51-56





# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## МОДЕЛИРОВАНИЕ ФОТОННОГО ТРАНСПОРТА В БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЯХ

Д.А. Петров, С.Г. Проскурин

ФГБОУ ВПО «ТГТУ»

Процесс изучения распространения оптического излучения в биологических тканях играет важную роль в формировании и совершенствовании современных методик биомедицинской диагностики и терапии, основанных на взаимодействии света с тканями. Наиболее часто используемой методикой моделирования распространения фотонов в сильно рассеивающих средах, таких как биологические ткани, является способ, основанный на применении методов Монте-Карло [1]. Данный способ позволяет производить моделирование прохождения излучения только в многослойной среде с плоскими границами, в то время как реальные биологические среды имеют более сложную структуру. При этом данный метод отличается также низкой скоростью вычисления, поэтому необходимо выработать новую методику моделирования, которая была бы лишена этих недочетов.

Для проведения моделирования фотонного транспорта в биологических объектах, имеющих сложную пространственную структуру, в том числе в случайно неоднородных средах предлагается перейти к воксельному характеру описания объекта. В этом случае объект задается в виде трехмерного массива элементов, каждый из которых определяется своим набором оптических характеристик (коэффициенты рассеяния и поглощения, анизотропия и показатель преломления). Фотонный пакет при этом начинает движения в одном из сегментов среды, и по мере распространения переходит из одного вокселя в другой. Для высокоскоростного определения того, какую границу вокселя пересекает пучок, предлагается использовать усовершенствованный алгоритм Смита, суть которого заключается в использовании обратных значений направляющих косинусов, что позволяет избавиться от дополнительной проверки на нулевое значение косинусов при каждом пересечении.

Также для увеличения скорости вычисления предлагается использовать технику соединения нескольких вокселей с одинаковыми оптическими свойствами в один сегмент, за счет чего количество необходимых проверок на пересечении существенно снизится, при этом вокселями с минимальным значением длины грани будут оставаться только на границе пересечения слоев или неоднородностей.

Дополнительное существенно увеличение скорости моделирования предлагается производить путем переноса вычислений на графические процессоры. В этом случае распространения каждого фотонного пакета внутри среды рассчитывается отдельно своей нитью (поток), и несмотря на то, что единый микропроцессор графической карты имеет существенно более низкую частоту, чем ядро центрального процессора, но, за счет большого числа таких процессоров увеличение скорости наблюдается в десятки раз, по сравнению с аналогичной реализацией метода на центральном процессоре [2].



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

В классическом виде расчет значения энергии пучка, который поглощается в точке взаимодействия пучка с биологической средой, производится в дискретном виде, что несколько увеличивает время моделирования за счет уменьшения длины свободного пробега фотона, так как в этом случае ее расчет производится путем использования полного коэффициента ослабления:

$$s = -\frac{\ln \xi}{\mu_s + \mu_a}$$

где  $\mu_s$  – коэффициент рассеяния воксела, а  $\mu_a$  – коэффициент поглощения. Для дополнительного увеличения скорости моделирования предлагается рассчитывать поглощение в аналитическом виде с помощью закона Бера-Ламберта:

$$W = W \exp(-\mu_a s)$$

где  $W$  – статистический вес фотонного пакета (энергия). В таком случае формула расчет дистанции свободного пробега преобразуется в:

$$s = -\frac{\ln \xi}{\mu_s},$$

Это означает, что в среднем значение дистанции свободного пробега увеличится и фотон быстрее покинет исследуемый объект.

Данная методика реализована с помощью архитектуры параллельных вычислений CUDA в виде программного обеспечения. При этом скорость моделирования по сравнению с общепринятым способом возрастает в 20–30 раз, что вкуче с воксельным представлением объекта, который позволяет моделировать среду с любой пространственной структурой, позволяет производить экспресс-моделирование фотонного транспорта в различных биологических средах.

### Список литературы

1. L.-H. Wang, S. L. Jacques, and L.-Q. Zheng MCML—Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues // Computer Methods and Programs in Biomedicine 47 (2), 1995. Pp. 131–146.
2. Q. Fang & D.A. Boas. Monte Carlo Simulation of Photon Migration in 3D Turbid Media Accelerated by Graphics Processing Units// Optical Express Vol. 17, Issue 22, 2009. pp. 20178-20190



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### **ОВЕРЭКСПРЕССИЯ МИКРОРНК СЕМЕЙСТВА miR-183-96-182 СПОСОБНА ПРИВОДИТЬ К ОДНОВРЕМЕННОЙ ИНАКТИВАЦИИ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ СУПРЕССОРОВ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА, ФОСФАТАЗ CTDSPL/1/2, ПРИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ЛЁГКОГО**

Г.А. Пузанов, А.А. Дмитриев, Г.С. Краснов, С.В. Куревлев, А.Д. Бениаминов, В.Н. Сенченко  
*Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Лаборатория структурно-функциональной геномики*

Семейство малых сериновых фосфатаз (SCP), включающее в себя белки CTDSPL, CTDSP1 и CTDSP2, играет регуляторную роль в ряде жизненно важных процессов [1, 2]. В частности, показано, что фосфатаза CTDSPL способна активировать белок Rb [3, 4] – супрессор опухолевого роста, являющийся одним из ключевых регуляторов клеточного цикла [5]. Хотя вопрос о том, могут ли CTDSP1 и CTDSP2 дефосфорилировать Rb, является открытым, высокое сходство аминокислотных последовательностей (~83%) и трехмерных структур фосфатаз может указывать на сходную функцию данных ферментов.

В настоящей работе методом количественной ПЦР оценили экспрессию малых сериновых фосфатаз на выборке, включающей 28 парных образцов немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ: 25 образцов плоскоклеточного рака, ПКР, и 3 образца аденокарциномы, АК). Выявлено значительное (в среднем в 5 раз) одновременное снижение уровней мРНК генов всех трех фосфатаз. Такое однонаправленное изменение экспрессии в большинстве образцов НМРЛ (23/28) позволило предположить общий механизм их инактивации посредством микроРНК [6]. С использованием разработанного ранее программного приложения CrossHub (<https://sourceforge.net/projects/crosshub/>) [7], включающего в себя анализ данных высокопроизводительного секвенирования проекта The Cancer Genome Atlas (TCGA) и баз экспериментально показанных или предсказанных мРНК-микроРНК взаимодействий (TargetScan, mirSVR, PicTar, DIANA microT, miRTarBase), обнаружена потенциальная корегуляция экспрессии фосфатаз при НМРЛ с участием микроРНК, входящих в кластер miR-183-96-18. Для подтверждения выявленной закономерности на исследованной выборке образцов НМРЛ оценили экспрессию микроРНК семейства miR-183-96-182 [8]. В результате показано одновременное повышение экспрессии всех трёх микроРНК в большинстве образцов ПКР (20/25): для miR-183 – в среднем в 6 раз, для miR-182 – в 7 раз и для miR-96 – в 5 раз. Во всех образцах АК обнаружено более значительное повышение экспрессии кластера miR-183-96-183, чем в образцах ПКР: в среднем в 8 раз для miR-183, в 8 раз для miR-182 и в 7 раз для miR-96.

Полученные данные указывают на способность фосфатаз семейства SCP проявлять опухолеподавляющую активность, а также свидетельствуют о возможной вовлеченности микроРНК семейства miR-183-96-182 в регуляцию активности белка Rb посредством инактивации генов малых сериновых фосфатаз CTDSPL/1/2 при НМРЛ. В дальнейшем планируется определить способность CTDSP1 и CTDSP2 дефосфорилировать Rb и их возможную опухолеподавляющую активность, а также продемонстрировать вклад



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

микроРНК miR-183, -96, -182 в снижение экспрессии SCP с применением трансфекции клеточных линий рака легкого.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 14-50-00060.

### Список литературы

1. Yeo M, Lee SK, Lee B, Ruiz EC, Pfaff SL, Gill GN, (2005) Small CTD phosphatases function in silencing neuronal gene expression, *Science*, 307:596-600.
2. Wu Y, Evers BM, Zhou BP, (2009) Small C-terminal Domain Phosphatase Enhances Snail Activity through Dephosphorylation, *J. Biol. Chem*, 284(1):640-648.
3. Kashuba VI, Li J, Wang F, Senchenko VN, Protopopov A, Malyukova A, Kutsenko AS, Kadyrova E, Zabarovska VI, Muravenko OV, Zelenin AV, Kisselev LL, Kuzmin I, Minna JD, Winberg G, Ernberg I, Braga E, Lerman MI, Klein G, Zabarovsky ER, (2004) RBSP3 (HYA22) is a tumor suppressor gene implicated in major epithelial malignancies, *PNAS*, 14:4906-4911.
4. Бениаминов АД, Краснов ГС, Дмитриев АА, Пузанов ГА, Снопок БА, Сенченко ВН, Кашуба ВИ, (2016) Взаимодействие двух супрессоров опухолевого роста – фосфатазы CTDSPL и белка Rb, *Молекулярная биология*, 50:504-508.
5. Di Fiore R, D'Anneo A, Tesoriere G, Vento R, (2013) RB1 in cancer: different mechanisms of RB1 inactivation and alterations of pRb pathway in tumorigenesis, *J. Cell Physiol*, 228:1676-1687.
6. Lin PY, Yu SL and Yang PC, (2010) MicroRNA in lung cancer, *British Journal of Cancer*, 103:1144-1148.
7. Krasnov GS, Dmitriev AA, Melnikova NV, Zaretsky AR, Nasedkina TV, Zasedatelev AS, Senchenko VN, Kudryavtseva AV, (2015) CrossHub: a tool for multi-way analysis of The Cancer Genome Atlas (TCGA) in the context of gene expression regulation mechanisms, *Nucleic Acids Research*, doi: 10.1093/nar/gkv1478.
8. Zhu W, Liu X, He J, Chen D, Hunag Y, Zhang YK, (2011) Overexpression of members of the microRNA-183 family is a risk factor for lung cancer: a case control study, *BMC Cancer*, 11:393.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ГЕНЫ ПЛЮРИПОТЕНТНОСТИ В ОПРЕДЕЛЕНИИ СВОЙСТВ ОПУХОЛЕВЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА

А.Р. Рахматуллина, Р.Р. Мифтахова, Р.Н. Мингалеева, А.А. Ризванов

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной  
медицины и биологии, Казань*

На сегодняшний день зарегистрировано 14,1 миллиона новых случаев онкологических заболеваний, из них 8,2 миллиона случаев закончились смертельным исходом [1]. Для большинства видов опухолей смертность сопряжена с метастазированием и рецидивом заболевания. Последние данные свидетельствуют, что развитие этих процессов связано с популяцией стволовых опухолевых клеток (СОК), составляющих всего 0.0001-0.1% от общей массы опухоли. СОК характеризуются повышенной экспрессией генов плюрипотентности, таких как *oct4*, *sox2*, *NANOG*, *Klf4*, *c-Myc* [2].

Цель работы – определить влияющие гены плюрипотентности на свойства СОК карциномы молочной железы человека.

Каждый из исследуемых генов был гиперэкспрессирован в клетках MCF7, трансфектанты были получены с помощью лентивирусной трансдукции. Оценку экспрессии белков проводили с помощью иммуноблоттинга белков, количество СОК оценивалось в тесте на сферообразование стволовых клеток, для характеристики клеток были проведены тесты на пролиферацию и миграцию.

В результате исследования нами были получены клетки карциномы молочной железы человека, стабильно экспрессирующие гены *Oct4*, *Sox2*, *Klf4*, *c-Myc* и *NANOG*. Мы показали, что повышение экспрессии белков *Oct4*, *Klf4*, *NANOG* приводит к увеличению процентного содержания СОК в клеточной линии MCF-7. При этом, скорость пролиферации клеток зависела от уровня экспрессии белка *Oct4*. Повышение миграционной способности клеток наблюдалось при экспрессии белков *c-Myc* и *NANOG*.

#### Список литературы

1. International Agency for Research on Cancer [Electronic resource], [http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_cancer.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx)
2. Mingaleeva, R.N. Cancer stem cells: 20 years behind [Text] / Mingaleeva, R.N., Miftakhova, R.R., Rizvanov, A.A/ Genes and Cells.-2015. –V.10. – P. 11-15.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### КОРРЕКЦИЯ ЦИТОЛИТИЧЕСКОГО СИНДРОМА ТРАВМАТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ ГИПОХЛОРИТОМ НАТРИЯ

М.В. Розанова

*ФГБОУ ДПО ИПК ФМБА России, Кафедра внутренних болезней*

**Актуальность.** Тяжелая сочетанная травма (ТСТ) создает в организме патологическую ситуацию, неизбежно приводящую к дезинтеграции на уровне метаболических процессов, причем в первую очередь при этом страдают высокодифференцированные функции печени, коррекция которых представляет значительные трудности, что диктует необходимость поиска новых эффективных и недорогих методов лечения [14–17].

Одним из таких методов может стать применение у этой категории больных лекарственного препарата гипохлорита натрия ( $\text{NaClO}^-$ ), который в монотерапии зарекомендовал себя с положительной стороны при лечении токсических форм гепатитов [2, 5, 6, 10].

**Материал и методы.** Под нашим наблюдением находилось 51 пострадавший с ТСТ. Критерием включения в исследование стали пациенты с синдромом цитолиза печени [1, 8]. В зависимости от тактики лечения было создано 2 группы. В 1-ю вошли 20 пострадавших, у которых применялась «традиционная» терапия, изложенная в работах ряда авторов [1, 9, 11], во 2-ю – 31 пациент, которым к «базисной» терапии дополнительно назначали р-р гипохлорита натрия, приготовленный из фармакопейного физиологического раствора методом электролиза на аппарате электрохимической детоксикации: «ДЭО-01МЕДЭК» с выборочным контролем концентрации полученного раствора методом титрования. Затем препарат вводился в периферическую (локтевую) вену больных в концентрации 200 мг/л (0,02%) со скоростью 30 капель в минуту объемом 400 мл на одну инфузию. На курс лечения проводилось от 7 до 10 ежедневных внутривенных капельных процедур. Группы были максимально однородными: по полу, возрасту, анамнезу, тяжести травмы и состояния, осложнениям, сопутствующим заболеваниям, что позволяло сократить количество искажений результатов исследования от посторонних факторов – до минимума.

Осуществляли дискриминантный анализ по F-критерию Фишера и корреляционный анализ по t-критерию Стьюдента. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$  (вероятность ошибки менее 5%).

**Результаты.** При многофакторном логистическом регрессионном анализе активность ЛДГ5 ( $r_{xy} = +0,84 \pm 0,006$ ;  $p < 0,001$ ), ГФЛ ( $r_{xy} = +0,81 \pm 0,03$ ;  $p < 0,01$ ), ГлДГ ( $r_{xy} = +0,82 \pm 0,009$ ;  $p < 0,001$ ),  $\gamma$ -ГТФ ( $r_{xy} = +0,82 \pm 0,01$ ;  $p < 0,01$ ), гистидазы и урокиназы (соответственно  $r_{xy} = +0,94 \pm 0,02$ ;  $p < 0,01$  и  $r_{xy} = +0,91 \pm 0,01$ ;  $p < 0,01$ ) была независимым прогностическим показателем возникновения и тяжести цитолитического синдрома ТБП.

В обеих группах цитолиз печени уменьшался за счет снижения активности ферментов: в 1-й группе ЛДГ5 на 16,6%, во 2-й – на 44,1%; ГФЛ – на 19,2 и 32,8% соответственно;  $\gamma$ -ГТФ – соответственно на 11,6 и 29,9%; гистидазы – 20,0 и 33,7% соответственно; урокиназы – на 18,1 и 30,0% соответственно ( $p < 0,01$ ). В целом, предложенное лечение пострадавшим 2-й группы



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

приводило к более раннему и значительному улучшению показателей цитолиза, что способствовало снижению летальности с 30,0% в 1-й группе до 19,4% – во 2-й ( $p < 0,01$ ).

Проведено также проспективное наблюдение отдаленных результатов терапии гипохлоритом натрия у данной группы больных в течение 3-6 месяцев после выписки из стационара. Выявлено, что гипохлорит натрия оказывает достоверный продолжительный по времени позитивный эффект у больных с ТБП. Это выражалось в достоверной стабилизации спустя 3 месяца у всех пациентов на близких к нормальным цифрам уровня ферментов цитолиза. Субъективное состояние больных оставалось удовлетворительным. В течение 3-6 месяцев наблюдения большинство пациентов не предъявляли симптомов (жалоб на боли и тяжесть в правом подреберье, кожный зуд, снижение работоспособности, нарушение сна, нервно-психические расстройства), характерных для клинических проявлений ТБП [3, 7, 8, 12, 13].

**Заключение.** Применение в комплексном лечении гипохлорита натрия у больных с ТБП приводит к значительному и достоверному уменьшению уровня активности ферментов цитолиза, что может свидетельствовать о расширении арсенала лекарственных средств терапии этого тяжелого осложнения сочетанной травмы, способствующему снижению летальности.

### Список литературы

1. Гюнтер Н.А., Розанов В.Е., Болотников А.И., Бондаренко А.В., Хайкин И.В., Розанова М.В. Лечение цитолитического синдрома при острой посттравматической печеночной недостаточности: Материалы конференции «18-я Российская гастроэнтерологическая неделя»//Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.-2012.-Т.XXII.-№5.-С.76.
2. Емельянов Д.Н., Мязин Р.Г. Оценка влияния терапии гипохлоритом натрия на перекисное окисление липидов, антиоксидантную защиту, синдромы цитолиза и холестаза у больных токсическими гепатитами//Вестник АГИУВ.-2013.-№ 4.-С.79-81.
3. Ермолов А.С., Абакумов М.М., Владимирова Е.С. Травма печени-М.: Медицина, 2003.-191 с.
4. Ивашкин В. Т. Болезни печени и желчевыводящих путей. – М.: Издат. дом: М-Вести, 2005. – 536 с.
5. Костюченко А. Л. Эфферентная терапия в комплексном лечении внутренних болезней. – СПб.: Фолиант, 2003. – 338 с.
6. Мязин Р.Г., Емельянов Д.Н., Стаценко И.Ю. Гипохлорит натрия в терапии алкогольной болезни печени: сборник трудов научно-практической конференции профессорско-преподавательского коллектива, посвященной 80-летию Волгоградского государственного медицинского университета. Раздел IX: Внутренние болезни и клиническая диагностика.-Волгоград, 2015. С. 285-288.
7. Розанов В.Е., Каряев А.Г., Юдин В.Е., Хайкин И.В., Ряполов В.С., Майлова Г.Е. Диагностика и лечение острой печеночной недостаточности у хирургических больных: сборник научно-практических трудов 150 Центрального военного госпиталя космических войск «Современные и новые технологии в медицинской практике».-Краснознаменск, 2006.-Т.3.-С.76-91.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

8. Розанов В.Е., Болотников А.И., Бондаренко А.В., Гюнтер Н.А., Розанова М.В., Хайкин И.В. Проблемы лечения цитолитического синдрома у пострадавших с сочетанной травмой: Сборник материалов XIV Российского национального конгресса «Человек и лекарство». -М.,2012.-С.338.
9. Розанов В.Е., Смирнов В.В., Болотников А.И., Розанова М.В. Интенсивная терапия травматической болезни печени//Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.-2015.-Т.25,№5.-С.77.
10. Скворцова З.С., Скворцов В.В., Мязин Р.Г. Влияние гипохлорита натрия на цитолитический синдром у больных хроническим вирусным гепатитом В и С// Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.-2003.-№ 1.-С. 129.
11. Смирнов В.В., Розанова М.В., Болотников А.И., Розанов В.Е. Роль антиоксиданта церулоплазмينا в комплексной интенсивной терапии травматической болезни печени//Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.- 2015.-Т.25,№5.-С.78.
12. Amodio J., Fefferman N., Rivera R. et al. Idiopathic intraparenchymal hematoma of the liver in a neonate // *Pediatr. Radiol.* – 2004. – Vol. 34, N 4.-P. 358-361.
13. Azzam R.K., Alonso E.M., Emerick K.M. et al. Safety of percutaneous liver biopsy in infants less than three months old // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*- 2005.-Vol. 41, N 5. – P. 639 – 643.
14. Chi K.D., Waxman I. Subcapsular hepatic hematoma after guide wire injury during endoscopic retrograde cholangiopancreatography: management and review // *Endoscopy*.-2004.-Vol. 36, N 11.-P. 1019-1021.
15. Karger B., Varchmin-Schultheiss K., Fechner G. Fatal hepatic haemorrhage in a child-peliosis hepatitis versus maltreatment // *Int. J. Legal. Med.* – 2005 – Vol. 119, N 1. – P. 44 – 46.
16. Kritharides L., Stocker R. The use of antioxidant supplements in coronary heart disease// *Atherosclerosis*.- 2002.-Vol. 164,N2.-P.211-219.
17. McKay D.L., Blumberg J.B. The role of tea in human health: an update// *J Am Coll Nutr.*- 2002.-Vol. 21,N1.-P.1–13.





## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ОСОБЕННОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ ЦИТОЛИТИЧЕСКОГО СИНДРОМА ПЕЧЕНИ ПРИ ТРАВМАТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ

М.В. Розанова

*ФГБОУ ДПО ИПК ФМБА России, Кафедра внутренних болезней*

**Актуальность.** По сообщениям ряда исследователей ведущим патоморфологическим синдромом поражения печени независимо от этиологии является цитолитический синдром [3, 4, 6, 12], обусловленный нарушением проницаемости клеточных мембран, некрозом гепатоцитов, распадом мембранных структур, выходом в плазму ферментов [8, 9], изучению которого при травматической болезни (ТБ) посвящены единичные исследования [2, 5].

**Цель.** Оценить роль биохимических «маркеров» в диагностике цитолитического синдрома при травматической болезни печени (ТБП).

**Материал и методы.** Под нашим наблюдением находилось 51 пострадавший с ТБ, у которых развился синдром цитолиза печени. Средний возраст составил  $30,8 \pm 1,6$  лет. Тяжесть травмы была равна  $31,0 \pm 1,4$  баллов по ISS (Injury Severity Score), состояния пострадавших  $32,7 \pm 1,8$  балла по шкале APACHE-II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II).

В качестве мониторинговых лабораторных критериев ТБ исследовали индикаторы цитолитического синдрома: активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АсАТ), глутамилтрансферазы, аргиназы, лактатдегидрогеназы (ЛДГ5 – специфический печеночный изофермент), глутаматдегидрогеназы (ГлДГ), урокиназы, гистидазы, гликогенфосфорилазы (ГФ), гамма-глутамилтрансферазы ( $\gamma$ -ГТФ), которые определяли на биохимическом анализаторе Сапфир 400 кинетическими методами и по конечной точке согласно инструкциям, прилагаемым к наборам.

Осуществляли дискриминантный анализ по F-критерию Фишера и корреляционный анализ по t-критерию Стьюдента. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$  (вероятность ошибки менее 5%).

**Результаты и обсуждение.** Отмечаем увеличение активности АСТ и АЛТ в среднем на  $69,7\% \pm 2,7\%$  у всех пострадавших. Диагностическим критерием нарастания тяжести поражения печени являлось увеличение коэффициента де Ритиса с 0,9 на 2,4, что указывало на прогностически неблагоприятную форму поражения печени [Giannini E. et al., 2005], т.к. летальность в этой группе составила 39,8%.

Повышение концентрации изофермента ЛДГ5 было особенно значимым и составляло  $145,5 \pm 8,9$  У/л, т.е. увеличивалась 18 раз соответственно по сравнению с контрольными данными ( $p < 0,01$ ), что являлось достоверным тестом поражения гепатоцитов [1, 11], при этом во всех случаях увеличение концентрации ЛДГ5 в сыворотке крови всегда предшествовало увеличению активности АсАТ и АЛТ, а также клиническим проявлениям острой печеночной недостаточности (ОПечН).

Концентрация в сыворотке крови ГлДГ повышалась в 12,8 раз,  $\gamma$ -ГТФ – на 26,4%, гистидазы и урокиназы – в 4,0 раза по сравнению с контрольными данными ( $p < 0,01$ ), составляя  $12,5 \pm 1,0$  и  $5,67 \pm 0,17$  пМоль/мл/сек соответственно, ГФ – на 47,4%, при этом ГФLL увеличивалась в 6,7 раза по сравнению с контрольными данными ( $p < 0,01$ ).



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

**Заключение.** При многофакторном логистическом регрессионном анализе активность ЛДГ5 ( $r_{xy}=+0,84\pm 0,006$ ;  $p<0,001$ ), ГФЛ ( $r_{xy}=+0,81\pm 0,03$ ;  $p<0,01$ ), ГлДГ ( $r_{xy}=+0,82\pm 0,009$ ;  $p<0,001$ ),  $\gamma$ -ГТФ ( $r_{xy}=+0,82\pm 0,01$ ;  $p<0,01$ ), гистидазы и урокиназы (соответственно  $r_{xy}=+0,94\pm 0,02$ ;  $p<0,01$  и  $r_{xy}=+0,91\pm 0,01$ ;  $p<0,01$ ) была независимым прогностическим показателем возникновения и тяжести цитолитического синдрома ТБП.

### Список литературы

1. Голиков П.П., Трахтенгерц М.И., Матвеев С.Б. и др. Активность индикаторных ферментов сыворотки крови как показатель нарушений кислородного гомеостаза у больных при неотложных состояниях// Патологическая физиология и экспериментальная терапия.-1986.-№6.-С.60-64.
2. Гюнтер Н.А., Розанов В.Е., Болотников А.И., Бондаренко А.В., Хайкин И.В., Розанова М.В. Лечение цитолитического синдрома при острой посттравматической печеночной недостаточности: Материалы конференции «18-я Российская гастроэнтерологическая неделя»//Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.-2012.-Т.XXII.-№5.-С.76.
3. Подопригорова В. Г., Цыганкова Г. М., Фаращук Н. Ф. Особенности цитолитического синдрома у больных хроническими диффузными заболеваниями печени в зависимости от тяжести патологического процесса//Клиническая лабораторная диагностика.-2006.-№1.-С.15-17.
4. Саламахина О.Ф., Ливзан М.А. Цитолитический синдром в клинической практике//Доказательная гастроэнтерология.- 2014.- № 1. -С. 43-49.
5. Розанов В.Е., Шафалинов В.А., Бондаренко А.А., Розанова М.В. Цитолитический синдром как «маркер» острой печеночной недостаточности у пострадавших с сочетанной травмой: Материалы III-й научно-практической конференции КБ123 ФМБА России «Актуальные проблемы оказания специализированной медицинской помощи в многопрофильной больнице».-Одинцово,2010.-С.110-112.
6. Янковая Т.Н. Состояние свободнорадикального окисления липидов, антиоксидантной системы и цитолитического синдрома у больных хроническим гепатитом в амбулаторных условиях// Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2010. № 1. С. 100-102
7. Янковая Т.Н., Никитин Г.А. Значение показателей свободнорадикального окисления липидов, цитолитического синдрома у больных хроническим гепатитом в зависимости от этиологического фактора// Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2012. № 1. С. 53-55.
8. Ekwall B., Clemedson C, Crafoord B. et al. MEIC evaluation of acute systemic toxicity. Parts V and VI //ATLA.- 1998. -Vol. 26.-P. 571-658.
9. Garcia-Alfonso C., Repetto G., Sanz P. et al. Direct determination of glutathione S-transferase and glucose-6-phosphate dehydrogenase activities in cells cultured in microtitre plates as biomarkers for oxidative stress //ATLA.-1998. -Vol. 26. -P. 321-330.
10. Giannini E. G., Testa R., Savarino V. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians // Canadian Medical Association Journal (CMAJ). – 2005. – Vol. 172. – P. 367-379.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

*19–20 апреля 2016*

11. McLeish P.E. The role of xanthine oxidase and the effects of antioxidants in ischemia reperfusion cell injury// Acta Physiol. Pharmacol. Ther. Latinoam., 2003. – Vol. 49. – P. 13–20.
12. Stamatii A., Zampaglioni F., Zanetti C. The neutral red uptake assay: comments on the results of the Instituto Superiore di Sanita in the EC/HO validation study //ATLA.- 1998. - Vol. 26. -P. 61-68.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ДИНАМИКА МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ПЕРЕПРОФИЛИРОВАНИЯ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА MCF-7 СОЕДИНЕНИЕМ AS-8

А.Х. Сабиров, С.А. Кошкин, М.В. Пугачёв, А.Г. Иксанова, Ю.Г. Штырлин

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Научно-образовательный центр фармацевтики*

В последние годы гипотеза Варбурга о происхождении опухолевых клеток стала вновь привлекать к себе пристальное внимание исследователей вследствие выявления фактов, связанных с нарушением функций митохондрий и влиянием интенсивности клеточного дыхания на рост и деление опухолевых клеток. При этом внимание в области разработки лекарственных препаратов смещается в сторону регуляторов метаболических процессов в опухолевых клетках – гликолиза, пентозофосфатного пути, активности лактатдегидрогеназы и др. В связи с этим актуальным представляется поиск новых безопасных метаболических регуляторов, способных перепрофилировать метаболизм опухолевых клеток с анаэробного гликолиза на окислительное фосфорилирование. Метаболомика позволяет оценить изменения метаболического профиля опухолевых клеток или другого образца в данный момент времени, а также следить за динамикой этих изменений, что делает метаболомику перспективным подходом для изучения влияния лекарственных препаратов на биохимические реакции в биологическом объекте. Целью данной работы являлось изучение влияния гетероциклического соединения AS-8 (НОЦ фармацевтики КФУ) на метаболомный профиль клеток рака молочной железы человека.

Клетки рака молочной железы MCF-7 культивировали на чашках Петри на среде  $\alpha$ -MEM с добавлением 10%-ной эмбриональной телячьей сыворотки, L-глутамина, 1% пенициллина-стрептомицина и препарата AS-8 (10 мкг/мл, опыт) или воды (контроль) в атмосфере 5%-го CO<sub>2</sub> при 37°C до достижения в них монослоя. Инкубацию продолжали в течение 7, 14, 21, 28, 35, 42 и 49 дней. Затем проводили пробоподготовку к метаболомному анализу, включающую стадии фиксации клеток, их разрушения и экстракции метаболитов, и анализ ВЭЖХ-МС.

В ходе анализа было выявлено снижение концентрации метаболитов гликолиза (глюкозы, глюкозо-6-фосфата, фруктозо-6-фосфата, фруктозо-1,6-дифосфата, лактата) и цикла трикарбоновых кислот (ацетил-КоА, цитрата, сукцината, малата) на 7-ой день инкубации с AS-8, что связано как с прямым воздействием AS-8 и его метаболитов на внутриклеточные метаболиты MCF-7, так и гиперэкспрессией шоковых белков. На 35 сутки инкубации наблюдается резкое увеличение пролиферативного потенциала клеток MCF-7/AS-8, в связи с чем концентрации метаболитов гликолиза и ЦТК увеличиваются. На 42-ой и 49-ый дни инкубации наблюдается достоверное снижение концентрации глюкозы и промежуточных продуктов гликолиза, при достоверном увеличении концентрации промежуточных продуктов цикла трикарбоновых кислот. При этом, результаты метаболомного анализа согласуются с результатами протеомного, когда на 42 и 49 сутки инкубации наблюдается увеличение экспрессии субъединиц дыхательной цепи митохондрий.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

*19–20 апреля 2016*

Исходя из этих данных, можно сделать вывод о снижении интенсивности гликолиза и о динамике усиления интенсивности ЦТК в клетках, обработанных препаратом AS-8. Подобные результаты позволяют предложить принципиально новый подход в терапии опухолевых заболеваний – метаболическое перепрограммирование клеток, что несомненно представляет интерес при разработке противоопухолевых препаратов.



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## КЛИНИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ФАКТОРОВ РИСКА ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

А.Н. Самойлова

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Неврологическое отделение КБ № 123*

**Актуальность.** В настоящее время уточнены наиболее важные факторы риска мозговых инсультов – гипертоническая болезнь, атеросклероз, патология сердца, сахарный диабет, гемореологические нарушения (коагулопатии), наследственная предрасположенность, курение, алкоголь, ожирение и др. Популяционная стратегия, направленная на предупреждение этих патологий, является основой профилактики мозговых инсультов, а в случаях свершившегося инсульта дает возможность предупреждения их повторного развития. [1,2].

Цель нашего исследования – изучить факторы риска развития ишемического инсульта (ИИ) для разработки эффективности профилактических мероприятий данного заболевания.

**Материал и методы.** Нами были обследованы 68 больных с ишемическим инсультом, находившихся в отделении неврологии Клинической Больницы №123 ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России за период 12 месяцев: 40 (58,8%) мужчин и 28 (41,2%) женщин. В возрасте 45 – 87 лет. Из них 45-59 лет было 15 (22%) и от 60 лет и старше 53 (78%). Изучение факторов риска развития ИИ осуществляли на основании унифицированной методики «Регистр мозгового инсульта» (данные медико-социальных исходов не учитывались).

**Результаты и обсуждение.** Данные исследования показали, что основным фактором риска явилась артериальная гипертензия (АГ), выявленная в анамнезе и при обследовании у 54 (79,4%) пациентов. Церебральный атеросклероз без повышения артериального давления наблюдался у 14 (20,6%) больных, отягощенный по сердечно-сосудистой патологии. Ишемическая болезнь сердца (ИБС) с нарушением ритма отмечалась у 17 (25%) пациентов, сахарный диабет – у 16 (23,5%), курение – у 30 (44,1%), злоупотребление алкоголем – у 9 (13,2%), ранее перенесенный инфаркт миокарда – 8 (11,8%).

При сопоставлении перечисленных факторов риска развития ишемического инсульта с возрастом больных выявлено, что до 59 лет, то есть в зрелом возрасте, основным фактором риска были артериальная гипертония у 14 (93,3%) пациентов, ИБС и нарушение ритма у 1 (6,7%). В тоже время в возрастной группе 60 лет и старше – соответственно у 53 (100%) и у 20 (37,7%) и атеросклероз артерий головного мозга 53 (100%).

При изучении частоты факторов риска в зависимости от пола установлено, что в возрасте до 59 лет у 30 (56,6%) мужчин и 23 (43,4%) женщин, как фактор риска преобладала артериальная гипертония.

Сахарный диабет наблюдался у 4 (26,7) мужчин от 45 до 59 лет, и у 2 (13,3%) женщин, и в возрастной группе от 60 и старше у 10 (18,9%) мужчин и 12 (22,6%) женщин соответственно.

Летальность в остром периоде инсульта составила 3 (4,4%) случаев, в группе больных от 45 до 59 лет смертность составила 1 (33,3%). В группе старше 60 лет – 2 (66,7%) от числа умерших 2 мужчин, смерть наступала в вследствие осложнения инсульта инфарктом миокарда, нарушениями ритма сердца, острой сердечно-сосудистой недостаточностью.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

Артериальная гипертензия как основной фактор риска ишемического инсульта отмечена во всех определенных нами возрастных группах.

Таким образом, можно сделать выводы: 1. Гипертоническая болезнь – важнейший фактор риска во всех возрастных группах, в первую очередь в молодом возрасте, по отношению развития ишемического инсульта. Активное выявление артериальной гипертензии у больных врачами первичного звена здравоохранения, своевременное установление диагноза и лечение позволят снизить частоту развития ишемического инсульта. 2. Риск развития ишемического инсульта резко возрастает среди лиц старше 45 лет, что требует пристального внимания врачей терапевтов за этим контингентом в целях предупреждения возможности развития мозгового инсульта. 3. Пропаганда здорового образа жизни, рациональной диеты, в первую очередь соблюдение режима труда и отдыха, является залогом успешной профилактики системных сосудистых патологий, в том числе и атеросклероза.

### Список литературы

1. Скворцова В.И. Снижение заболеваемости, смертности и инвалидности от инсультов в Российской Федерации // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова 2007. – Приложение – С. 25-27.
2. Скоромец А.А., Ковальчук В.В. Инсульт: эпидемиология, факторы риска и организация медицинской помощи // Неврологический журнал. 2006. – Т. 11. – № 6. – С. 46-50.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ХРОНИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ ДОКЛИНИЧЕСКОЙ И РАННЕЙ КЛИНИЧЕСКОЙ СТАДИЙ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА НА МЫШАХ

В.В. Сафандеев, А.А. Колачева

*Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Лаборатория нервных  
и нейроэндокринных регуляций*

Основой патогенеза болезни Паркинсона, хронического нейродегенеративного заболевания, является деградация дофаминергической nigростриатной системы мозга [1]. Особенностью данного заболевания является длительное бессимптомное течение (десятилетия), что обусловлено развитием компенсаторных процессов в мозге и медленной гибелью нейронов. Специфические моторные симптомы появляются после истощения компенсаторных резервов мозга и деградации nigростриатной системы до порогового уровня – гибели 50–60% тел нейронов в черной субстанции и 70–80% терминалей их аксонов в стриатуме, что приводит к снижению концентрации дофамина на 70–80% в последнем. Традиционное лечение больных (L-ДОФА), которое начинается только после перехода в клиническую стадию, т.е. после появления симптомов и дегенерации большей части дофаминергических нейронов, малоэффективно.

Единственной возможностью изучения патологических изменений в мозге на доклинической стадии болезни Паркинсона является экспериментальное моделирование *in vitro* и *in vivo* вследствие отсутствия методов ранней диагностики. При этом особое внимание должно уделяться длительности доклинической стадии. В единичных работах, посвященных разработке хронических моделей болезни Паркинсона на мышах, не ставилась задача помимо клинической стадии создать модель доклинической стадии заболевания с дальнейшим сравнением морфофункционального состояния nigростриатной системы [2,3]. Поэтому целью данной работы явилась разработка максимально пролонгированных по времени (хронических) моделей болезни Паркинсона на мышах, воспроизводящих как доклиническую, так и раннюю клиническую стадии заболевания.

В данной работе использованы самцы мышей линии C57BL/6 в возрасте 2-2,5 месяца на момент начала эксперимента. Для моделирования болезни Паркинсона использовали предшественник специфического нейротоксина дофаминергических нейронов – МФТП (1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин), контрольным животным вводили 0,9% NaCl. Через неделю после каждой инъекции МФТП оценивали двигательную активность животных по пройденному пути в тесте «открытое поле» и длине шага.

Через 5 недель введения МФТП (доза 10 мг/кг) изменений двигательной активности животных по перечисленным параметрам обнаружено не было. При этом концентрация дофамина в стриатуме была снижена на 65% от уровня в контроле (ВЭЖХ с ЭД), а количество тел дофаминергических нейронов, выявленных на тирозингидроксилазу – скорость лимитирующий фермент синтеза дофамина методом иммуногистохимии, в черной субстанции не изменялось. Таким образом, такая схема введения МФТП приводит к допороговой деградации nigростриатной системы, что соответствует доклинической стадии болезни Паркинсона.





## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

Нарушения двигательной функции животных были обнаружены только после 10 недель введений МФТП (12 мг/кг), при этом выявлено снижение пройденного пути и длины шага на 24% и 17% соответственно по сравнению с контролем. Концентрация дофамина в стриатуме была снижена на 80%, но дегенерации тел дофаминергических нейронов обнаружено не было. Это может свидетельствовать о развитии адаптационных механизмов при длительном введении пронеуротоксина.

Аналогичные изменения двигательной активности животных и концентрации дофамина в стриатуме были обнаружены после дополнительных четырех инъекций МФТП (8 мг/кг) с интервалом два часа после 10 недель введений пронеуротоксина. Однако в отличие от предыдущей схемы введения МФТП дегенерация тел дофаминергических нейронов в черной субстанции достигала 50%, т.е. дегенерация нигростриатной системы достигает порогового уровня по основным параметрам, что соответствует ранней клинической стадии болезни Паркинсона.

Таким образом, были разработаны максимально пролонгированные по времени модели доклинической и ранней клинической стадий болезни Паркинсона на мышах, сравнение которых позволит найти не только триггеры перехода из одной стадии в другую, но и приблизиться к пониманию молекулярных механизмов патогенеза данного заболевания.

Работа поддержана грантом ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы» Минобрнауки России (уникальный идентификатор проекта RFMEFI60414X0073).

### Список литературы

1. Bernheimer H., Birkmayer W., Hornykiewicz O., Jellinger K., Seitelberger F. // Journal of the Neurological Sciences. 1973. V. 20. P. 415-455.
2. Petroske E., Meredith G.E., Callen S., Totterdell S., Lau Y.S. // Neuroscience. 2001. V. 106. P. 589-601.
3. Fornai F., Schlüter O.M., Lenzi P., Gesi M., Ruffoli R., Ferrucci M., Lazzeri G., Busceti C.L., Pontarelli F., Battaglia G. et al. // PNAS. 2005. V. 102. P. 3413-3418.



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## ТРУДНОСТИ ДИАГНОСТИКИ ЦЕРЕБРАЛЬНЫХ АРТЕРИОВЕНОЗНЫХ МАЛЬФОРМАЦИЙ В УСЛОВИЯХ ПОЛИКЛИНИКИ

А.Б. Сейфединова

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Поликлиника КБ № 123*

**Актуальность.** Артериовенозные мальформации (АВМ)- порок развития сосудов головного мозга (сосудистые мальформации), к которым также следует относить гетерогенную группу дисэмбриогенетических образований ангиоматозного строения, персистирующие эмбриогенные сосуды, различные шунты и фистулы [1], наиболее часто проявляющиеся в клинике внутримозговыми или субарахноидальными кровоизлияниями, а также судорожным синдромом, что сопровождается на этой стадии заболевания высокой летальностью (до 85% при консервативном лечении) или инвалидизацией (41-69%) [2-5]. Поэтому решение этой задачи требует детального изучения закономерностей не только клинического, но и доклинического течения болезни.

**Материал и методы.** В неврологическом отделении поликлиники наблюдается семь пациентов у которых произошел разрыв артериовенозной мальформации. В качестве диагностических методов, наряду с клиническими, были применены объективные неврологические исследования.

**Результаты.** При ретроспективном анализе амбулаторных карт было выявлено, что все пациенты обращались в поликлинику с жалобами на головную боль, головокружение несистемного характера (71%), шаткость походки и неустойчивость ходьбы (85%), шум в голове (71%), эмоциональная лабильность (57%), потери сознания не сопровождающиеся судорогами (28%). Неврологические симптомы проявлялись пирамидной недостаточностью (71,4%), гемипарезом (14,3%), нистагмом (57,2%), мозжечковыми расстройствами (85,7%), нарушениями функции черепных нервов (28,6%), расстройствами чувствительности (85,7%).

Проведенный корреляционный анализ выявил низкую зависимость ( $r_{xy}=+0,291\pm 0,01; p<0,05$ ) как клинических, так и неврологических симптомов с морфологическими изменениями заболевания.

**Заключение.** Всем пациентам обратившихся к неврологу поликлиники с вышеперечисленной симптоматикой необходимо проводить метод транскраниальной доплерографии, КТ, МРТ в ангиорежиме для раннего выявления АВМ и предотвращения такого грозного осложнения как разрыв мальформации.

### Список литературы

1. Медведев Ю.А., Мацко Д.Е. Аневризмы и пороки развития сосудов мозга. СПб., 1993. Т.2. 144 с. 8.
2. Свистов Д.В., Кандыба Д.В., Савелло А.В. Артериовенозные мальформации головного мозга: клиника, диагностика, комплексное лечение // Сборник учебных пособий по актуальным вопросам нейрохирургии / под ред. В.Е.Парфенова, Д.В.Свистова. – СПб., Фолиант. – 2002. – с.199-260.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

*19–20 апреля 2016*

3. Brown R.D., Jr., Wiebers D.O., Tomer J.C. et al. Frequency of intracranial hemorrhage as a presenting symptom and subtype analysis: A population-based study of intracranial vascular malformation in Olmsted County, Minnesota // J. Neurosurg. – 1996. – Vol.85., N1. – P. 29-32.
4. Nath F.P., Nicholls D., Eraser R.J.A. Prognosis in intracerebral haemorrhage // Acta Neurochir. (Wien). – 1983. – Vol.67, N1-2. – P. 29-35.
5. Ondra S.L., Troupp H., George E.D. et al. The natural history of symptomatic arteriovenous malformations of the brain: A 24-year follow-up assessment // J. Neurosurg. – 1990. – Vol.73, N3. – p. 387-391.



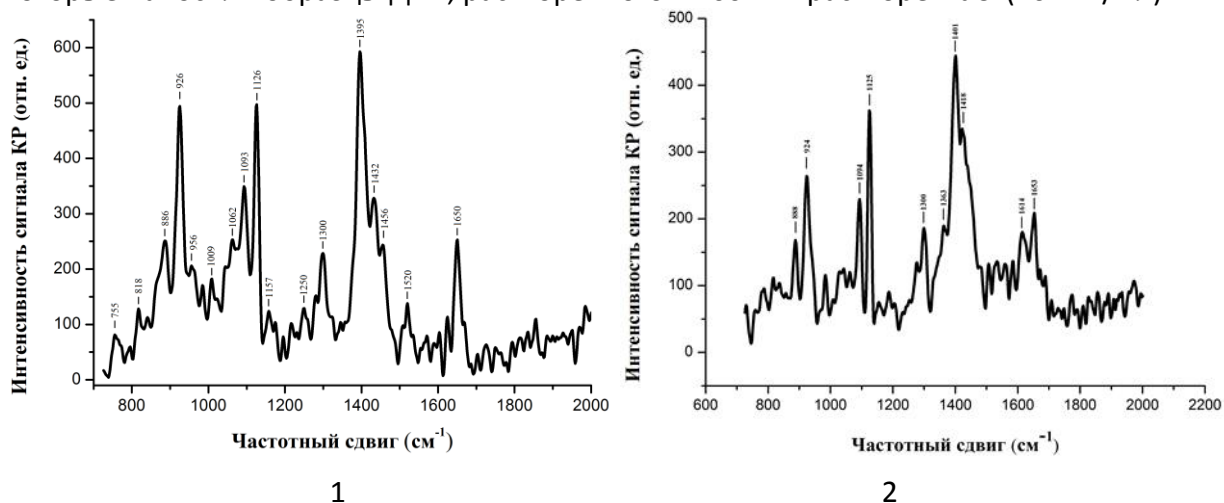
## **ИЗУЧЕНИЕ КОНФОРМАЦИИ ДНК С ПОМОЩЬЮ СПЕКТРОСКОПИИ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ**

Д.И. Сидоров

*ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарёва», факультет биотехнологии и биологии, кафедра генетики*

Исследование молекулярных механизмов регуляции экспрессии генов является актуальным направлением современных биомедицинских исследований, позволяющим получать новые знания о причинах болезней и создавать целенаправленные способы терапевтического воздействия [1].

Нами для оценки конформационных изменений (перестроек) ДНК в норме и у больных с панкреонекрозом, а также при действии холестерина использовался спектрометр комбинационного рассеяния *in via Basis* фирмы Renishaw (Великобритания). Для анализа ДНК использовали характерные полосы спектра КР от 600 до 2000  $\text{см}^{-1}$ . Для усиления сигнала использовали подложки с наноструктурированным покрытием на основе серебра [2], на которые наносили образцы ДНК, растворенного в 100 мМ растворе NaCl (40 мкг/мл).



**Рис. 1.** Спектры КР ДНК доноров (1) и больных с панкреонекрозом (2).

Спектры КР ДНК относительно здоровых доноров отличаются от спектров больных с панкреонекрозом (рисунок 1). Так, в спектре КР больных отсутствует полоса, связанная с колебаниями С–О связи, смещается значительно влево полоса, связанная с колебаниями пуриновых оснований А, Г.

Полученные данные свидетельствуют о возможностях регистрации конформационных изменений в ДНК, обусловленных химическими модификациями, с помощью метода комбинационного рассеяния.

Обнаруженные конформационные изменения в ДНК при панкреонекрозе могут выступать причинами изменения сродства белковых факторов транскрипции к регуляторным последовательностям генов, и как следствие, изменения экспрессивной активности генов.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

При воздействии холестерина в спектре КР ДНК происходит смещение полос, относительно основных связей и появление новых (рисунок 2). Появляется несколько полос, связанных с колебаниями азотистых оснований и пропадает ряд полос, связанных с колебаниями дезоксирибозы и его фосфата.

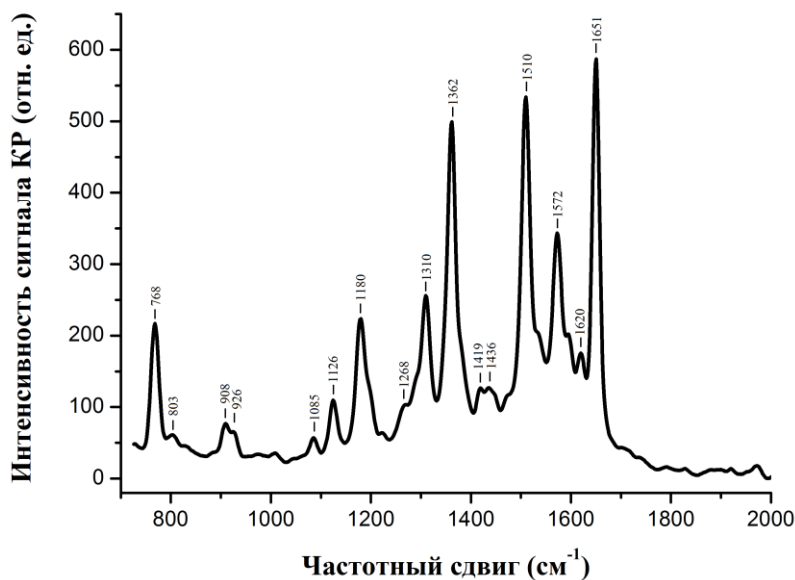


Рис. 2. Спектры КР ДНК при воздействии ХС.

Таким образом, взаимодействие ХС с ДНК приводит к изменению конформации групп атомов как внутри спирали ДНК, так и в сахаро-фосфатном остове, обращенном наружу двойной спирали. Очевидно, что данный факт является отражением явления регуляции генной экспрессии при воздействии различных факторов, в том числе белковой и липидной природы.

### Список литературы

1. Трофимов В.А., Аксенова О.Н. и др. Влияние холестерина на экспрессию генов раннего ответа и митотическую активность перитонеальных макрофагов // Казанский медицинский журнал, 2009, №4. Т. 90. С.560-563.
2. Максимов Г.В., Трофимов В.А., Сидоров Д.И. и др. Использование серебряных наноструктурированных подложек в биомедицинских исследованиях // Технологии живых систем. 2014. №6. С. 13-20.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ЛИЗОГЕНИЗАЦИЯ *ESCHERICHIA COLI* онДНК БАТЕРИОФАГАМИ $\rho\Phi 7$ И $\rho\text{X}174$ : ИНТЕГРАЦИОННО-РЕПЛИКАТИВНЫЙ МЕХАНИЗМ ПРОЦЕССА, ИЗМЕНЯЮЩЕГО БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИЙ

О.И. Смелкова, А.П. Марков, Г.И. Алешкин

ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Лаборатория генетики бактерий

Бактериофаги семейства *Microviridae* наиболее распространены среди вирусов с одноклеточными ДНК геномами (онДНК) в окружающей человека среде [1]. Они инфицируют энтеробактерии *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, бактериоиды *Bacteroides*, а *Chlamydia*, известные в качестве патогенов, вызывающих инфекционные болезни человека. Молекулярно-биологические особенности фагов *Microviridae* стимулируют интерес к их потенциальной роли в генетической изменчивости бактерий. Она связана, прежде всего, с процессами фаговой лизогении и лизогенной конверсии, и зависящими от них геномных перестроек, формирования и передачи островов патогенности, наследования факторов патогенности бактерий [2]. Необходимыми условиями для этих процессов являются горизонтальная (от бактерии к бактерии) и вертикальная (от бактерии к ее потомству) передача фаговых геномов [2]. Мы впервые продемонстрировали, что бактериофаги  $\rho\text{X}174$  и фаг  $\rho\Phi 7$  типичные для семейства *Microviridae* и считавшийся строго литическими, осуществляют лизогению в клетках *E.coli*. Получаемые лизогены обладают свойствами классических лизогенов, резистентностью к фагам  $\rho\text{X}174$  и  $\rho\Phi 7$ , спонтанной индукцией профага и вертикальную передачей фагового генома [2, 3]. Сочетание эффективного лизиса фагами  $\rho\text{X}174$  и  $\rho\Phi 7$  популяции *E. coli* с повышенной частотой лизогенизации фагами Pts и  $\text{Nal}^R$  мутантов в популяции выражается в обогащении популяции этими мутантами [3. В результате изменяются многие клеточных функций, контролируемые общерегуляторной ФТС системой (мутанты Pts) и топоизомеразы II (мутанты  $\text{Nal}^R$ ).

**Цель работы.** Установление молекулярно-генетического механизма лизогении бактериофагов  $\rho\text{X}174$  и фаг  $\rho\Phi 7$  в клетках *E. coli*.

**Задачи работы.** Сформулировать генетически обоснованную модель лизогении бактериофагов  $\rho\text{X}174$  и фаг  $\rho\Phi 7$  в клетках *E. coli*; разработать молекулярно-биологические методики для подтверждения модели лизогении.

В качестве модели для механизма лизогении представляется вероятным встраивание онДНК фага в *dif* сайт терминации репликации хромосомы бактерии-хозяина, зависящее от активности бактериальных XerCD рекомбиназ. Такая модель описана для лизогении онДНК бактериофагов *Inoviridae*, а также для интеграции в хромосому онДНК транспозонов ДНК [2]. Для проверки встраивания ДНК фагов в хромосому мы использовали радио-биологическую методику. Известно, что геном бактериофага-транспозона Mu cts62 облигатно встраивается в хромосому или плазмиды при инфекционном процессе в *E. coli*. УФ-облучение фага приводит к тому, что УФ-димеры фагового генома встраиваются в хромосому бактерии – хозяина. Это вызывает гибель необлученных бактерий дефектных по репарации ДНК [4]. Мы установили, что в *recA uvrA* мутанте АВ2480 инфекция фагами  $\rho\text{X}174$  и  $\rho\Phi 7$ , облученными



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

УФ-светом, вызывает повышенную летальность, аналогичную по кинетике с летальностью, вызываемой УФ-облученным фагом Mu ts62. Полученные данные свидетельствуют об интеграции фаговых геномов  $\phi$ iX174 и  $\lambda$ 7 в репликон хромосомы. Полученные нами данные о высокой W-реактивации плазмидами pKM101 УФ-облученных фагов в клетках дикого типа *E. coli* также свидетельствует об интеграции фагов в плазмидные репликоны.

В работе с *fruA* мутантами *E. coli*, повышающими уровень лизогенизации бактерий фагами  $\phi$ iX174 и фаг  $\lambda$ 7, мы установили, что плаزمида pKM101 в этих мутантах образует мультимеры, что элиминирует образование бляшек бактериофагов. Изогенная плазмида pGW12 с мутацией в гене ДНК-полимеразы V (*musAB*) не оказывает такого эффекта, не образуя мультимеров. Используя «эффект убийства одноклеточными бактериофагами»  $\phi$ iX174,  $\lambda$ 7 [4] во *fruA* штаммах с плазмидой pKM101, мы смогли отобрать лизогены, несущие геномы  $\phi$ iX174,  $\lambda$ 7. Конъюгационная передача плазмиды pKM101 из этих лизогенов в *recA*<sup>+</sup> и *recA* реципиенты показала, что у 80% трансконъюгантов геномы лизогенизирующих фагов сохраняются в репликоне плазмиды.

**Выводы.** Лизогенизация *E. coli* бактериофагами  $\phi$ iX174,  $\lambda$ 7 происходит за счет интеграции он-ДНК фаговых геномов в ДНК хромосомы или плазмид, то есть ДНК, имеющую структуру репликона.

### Список литературы

1. Krupovic, M., Forterre, P. PLoS ONE. 2011, 6 (5): e1983. doi10.371/journal.pone.0019893
2. Brüssow, H., Canchaya, C., et al. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2004, 68(3): 560-602.
3. Алешкин Г.И., Смелкова О.И. и др. Журн.микробиол., 2014, №6, с.14-20.
4. Алешкин Г.И. Репарация ДНК и мутагенез у бактерий, зависящая от плазмид. Дисс.Док. Москва-1989.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА ЭВОЛЮЦИЮ ЦИТОХРОМОВ P450

Е.О. Смирнова, Я.Ю. Топоркова, С.С. Горина, Ю.В. Гоголев, А.Н. Гречкин

*Казанский институт биохимии и биофизики, Лаборатория молекулярной биологии*

Цитохромы P450 – обширная группа белков из семейства цитохромов. Представители этого суперсемейства обнаружены у разных групп живых организмов: от бактерий и простейших до высших растений, животных и человека. Цитохромы P450 осуществляют реакции окисления молекулярным кислородом органических соединений и являются важнейшими элементами системы детоксикации ксенобиотиков. Кроме того, ферменты этого суперсемейства принимают участие в метаболизме алифатических, алициклических и ароматических молекул, катализируя реакции гидроксирования, эпоксицирования, деалкилирования, дезаминирования и др. Общий механизм реакций, катализируемых цитохромами P450, основан на активации и расщеплении молекулярного кислорода, то есть данные ферменты являются монооксигеназами. Однако существуют представители суперсемейства P450, которым для каталитического действия не нужен ни кислород, ни окислительно-восстановительный партнер. Такими свойствами обладают исследуемые нами ферменты семейства CYP74. В связи с особенностями каталитического действия в структуре ферментов CYP74 присутствуют некоторые особенности. Так, в их последовательностях отсутствуют сайты, консервативные для монооксигеназ P450. Кроме того, гем-связывающий домен ферментов CYP74 содержит дополнительный мотив из девяти аминокислотных остатков. К настоящему времени, в нашей лаборатории накоплены данные (в том числе филогенетические), свидетельствующие о том, что ферменты CYP74 являются наиболее древними представителями суперсемейства P450. Это подтверждается следующими данными. С эволюционной точки зрения, делеция девяти аминокислотных остатков является более вероятным событием, чем встраивание. Появление ферментов CYP74 связано с накоплением молекулярного кислорода в атмосфере, в результате чего появилась необходимость избавления клетки от окисленных активными формами кислорода жирных кислот, входящих в состав мембран. Эти ферменты катализировали преобразование окисленных жирных кислот в различные соединения – оксипирины, которые впоследствии стали функционировать в качестве сигнальных молекул. Это подтверждает тот факт, что структура ряда ферментов CYP74 сходна со структурой каталаз. И наконец, предположение о поступательном развитии от двухкомпонентной системы к сложному реакционному комплексу в ходе эволюции представляется в достаточной мере оправданным.

Работа поддержана грантом 16-34-60231-мол\_а\_дк.





## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### БЕЛКОВЫЙ ПРОФИЛЬ *MELIORIBACTER ROSEUS* В АЭРОБНЫХ И АНАЭРОБНЫХ УСЛОВИЯХ

А.В. Смоляков, И.А. Алтухов, О.В. Побегуц, И.О. Бутенко, И.В. Кубланов, Д.Г. Алексеев

ФГБУН НИИ физико-химической медицины ФМБА, Москва;

Московский физико-технический институт (Государственный университет),

Долгопрудный

*Melioribacter roseus* – новый анаэроб, являющийся одним из двух типичных представителей типа *Ignavibacteriae*. Это метаболически универсальная бактерия, способная расти за счет питания сахарами или пептидами, за счет аэробного дыхания или за счет диссимилятивной утилизации арсената (соль мышьяковой кислоты), нитратов или Fe(III). Недавний анализ генома выделил ключевые элементы цепи переноса электронов, позволяющие понять способность бактерии адаптироваться к изменяющимся условиям окружающей среды за счет комбинации окисления различных доноров электронов при аэробном дыхании или сокращения акцепторов электронов [1].

В данной работе мы провели количественный и качественный анализ протеомного профиля на основе масс-спектрометрических экспериментов для белкового лизата *M. roseus* P3M-2, полученных с прибора AB SCIEX TripleTOF 5600 в лаборатории протеомного анализа ФНКЦ ФХМ. Идентификация производилась при помощи программы Mascot (версия 2.5.1). Количественный анализ проводился с помощью программы Progenesis LC-MS.

В ходе анализа было идентифицировано по двум и более пептидам хотя бы в одном эксперименте 1127 белков. При поиске против протеомной базы было найдены 129 пептидов (GSSP), не идентифицированных против протеомной базы. Из них 24 – из ORF, содержащие аннотированные гены, и 56 – из ORF содержащие псевдогены, 49 – на неаннотированные ORF. 239 белков имеют дифференциальную экспрессию (изменение экспрессии между состояниями более чем в два раза и *p*.value теста Стьюдента < 0,05). 206 белков были недопредставлены и 110 перепредставлены в аэробных условиях. Найден метаболический путь преобразования серы из степени окисления в +6 к степени -2.

#### Список литературы

1. Podosokorskaya O. A. et al. Characterization of *Melioribacter roseus* gen. nov., sp. nov., a novel facultatively anaerobic thermophilic cellulolytic bacterium from the class *Ignavibacteria*, and a proposal of a novel bacterial phylum *Ignavibacteriae* // *Environmental microbiology*. – 2013. – Т. 15. – №. 6. – С. 1759-1771.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### КОМПЛЕКСЫ БЕЛКОВ НЕЙТРОФИЛОВ И МЕДИАТОРОВ ВОСПАЛЕНИЯ С ЦЕРУЛОПЛАЗМИНОМ

А.В. Соколов, В.А. Костевич, С.О. Козлов

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Лаборатория биохимической генетики

**Введение.** Первым ответом на появление чужеродных микроорганизмов является стимуляция нейтрофилов, что сопровождается изменением их формы, адгезией, направленным движением в очаг повреждения, усиленным потреблением кислорода («кислородным взрывом»), дегрануляцией. Дегрануляция характеризуется слиянием цитоплазматических гранул с фагосомой, поступлением содержащихся в гранулах ферментов в фагосому и частичной секрецией этих ферментов во внеклеточное пространство. Примером патологической активности нейтрофилов является отторжение донорских органов при неэффективном удалении нейтрофилов из кровеносных сосудов во время перфузии. Логично предположить, что активация нейтрофилов непосредственно в кровяном русле должна сдерживаться в норме и при воспалении. Белки острой фазы, концентрация которых повышается при воспалении, могут выступать регуляторами функций иммунных клеток. Увеличение молярной концентрации церулоплазмينا (СР, ферро:О<sub>2</sub>-оксидоредуктаза) во время острой фазы воспаления (с 3 до 10 мкМ) уступает только увеличению концентрации таких мажорных белков плазмы, как фибриноген и гаптоглобин. Вместе с тем, в литературе нет однозначной точки зрения на функции СР при воспалении. Как фермент СР активно препятствует образованию и существованию свободных радикалов, обладая активностями феррооксидазы, купроксидазы, супероксиддисмутазы, глутатион-зависимой пероксидазы и NO-оксидазы. От присутствия гена СР зависит выживание нейронов при острофазном ответе на липополисахарид. С другой стороны, прооксидантные свойства приписывают меди, лабильно связанной с СР.

**Методы.** В работе использовали СР выделенный из плазмы крови с помощью хроматографии на UNO-Sphere Q и неомицин-агарозе. Идентификацию белков проводили с помощью масс-спектрометрии фрагментов трипсинолиза. Трехмерные модели получали при сотрудничестве к. ф.-м. н. В.Р. Самыгиной методами рентгеноструктурного анализа и рассеяния рентгеновских лучей под малыми углами.

**Результаты.** Были охарактеризованы комплексы СР с катионными белками нейтрофильных лейкоцитов и медиаторами воспаления: лактоферрином, миелопероксидазой, эластазой, катепсином G, протеиназой 3, азуроцидином, 5-липоксигеназой, тромбином (FIIa). Анионный СР (рI ~ 4.7) взаимодействует с катионными белками довольно стереотипно, но при этом наблюдается определенное разнообразие комплексов. Была показана высокая аффинность компонентов в образующихся комплексах. Так, сродство СР к лактоферрину и к азуроцидину характеризуется  $K_d \sim 13$  нМ. СР способен как *in vitro*, так и *in vivo* формировать мультимерные комплексы, включающие в себя лактоферрин и миелопероксидазу. Была изучена трехмерная структура таких комплексов,



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

определены сайты взаимодействия, включающие контакт N-концевого катионного кластера лактоферрина с доменами 1 и 6 СР, лигандирующими ионы меди его активного центра, а также контакт лабильной к протеолитической атаке петли СР, соединяющий 5 и 6 домены, белка с входом в гемовый карман миелопероксидазы. Лактоферрин, образовав комплекс с СР, увеличивает его ферроксидазную активность. Связывая лабильные ионы меди, лактоферрин защищает СР от деградации пероксидом водорода, индуцирующим в присутствии меди СР сайт-специфическую продукцию гидроксильных радикалов. Взаимодействие СР с миелопероксидазой приводит к ингибированию ее прооксидантной активности. Ингибируя хлорирующую активность миелопероксидазы, СР уменьшает проатерогенную модификацию липопротеинов низкой плотности. Ингибирующий эффект СР зависит от целостности его молекулы: частично протеолизированный СР не эффективен как ингибитор хлорирующей активности миелопероксидазы, а также не ингибирует синтез лейкотриенов 5-липоксигеназой. Нами было изучено взаимодействие СР с ключевыми медиаторами воспаления FIIa и MIF. Образование комплекса СР с FIIa приводит к ингибированию ферроксидазной активности СР. Конкурентное вытеснение СР из комплекса с FIIa с помощью лигандов экосайтов I и II показало их участие в комплексообразовании. Протеолиз СР, опосредованный FIIa, приводит к выходу прооксидантных ионов меди из молекулы СР. Наличие протеолизованного СР в синовиальной жидкости больных ревматоидным артритом совпадает с наличием активных FIIa и миелопероксидазы. В синовиальной жидкости обнаруживается как апо-форма СР, так и свободная медь.

**Выводы.** Таким образом, провоспалительные факторы, взаимодействующие с СР, влияют на целостность его молекулы и присутствие связанной с ним лабильной меди, что, в конечном итоге, определяет способность СР регулировать функции нейтрофилов в кровяном русле и очаге воспаления. Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-03620 и грантом Президента РФ МК-5074.2016.4.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ *Mycobacterium bovis* BCG-1 (RUSSIA) МЕТОДАМИ СРАВНИТЕЛЬНОЙ ГЕНОМИКИ

Е.А. Сотникова, Е.А. Шитиков, М.В. Малахова, Е.С. Кострюкова, Е.Н. Ильина

ФГБУН НИИ физико-химической медицины ФМБА, Лаборатория молекулярной генетики микроорганизмов

БЦЖ, широко используемая во всем мире вакцина против туберкулеза, была создана в начале двадцатого века в результате аттенуации вирулентного штамма *Mycobacterium bovis*. С течением времени субштаммы, возникшие из первичного вакцинного штамма при его распространении, приобрели специфичные мутации, для части которых показано влияние на фенотип [1, 2]. Целью работы было изучение генетической стабильности вакцинного штамма *Mycobacterium bovis* BCG-1 (Russia) в процессе производственного культивирования.

В ходе работы было проведено секвенирование фрагментных библиотек первой и шестой генераций маточной культуры на платформе GS FLX + (Roche, США). Дополнительно для исследуемых штаммов было осуществлено секвенирование библиотек парных фрагментов на приборе Ion Torrent PGM (Applied Biosystems, США). Для определения полной геномной последовательности штамма первой генерации маточной культуры было использовано секвенирование по Сэнгеру. Полученные данные использовались для поиска мутаций в геноме шестого пассажа относительно генома первого пассажа и сравнения с другими геномами штаммов *M. bovis* BCG, в том числе BCG Russia, представленными в базе данных GenBank.

По результатам полногеномного секвенирования с последующей сборкой *de novo* для геномов первого и шестого пассажей маточной культуры было получено 81 и 89 контигов, соответственно. Использование библиотек парных фрагментов позволило получить 3 и 4 скаффолда для исследуемых образцов. Полная геномная последовательность штамма первой генераций маточной культуры составила 4370705 нуклеотидов. В ходе филогенетического анализа было установлено, что исследуемые образцы относятся к подгруппе DU2-I группы ранних штаммов, совместно со штаммами Tokyo-172 и Moreau из GenBank [3, 4]. Дополнительно штаммы несли делецию RDRussia [5]; строение межгенного участка *senX3-regX3* было характерным для *M. bovis* BCG Russia [6]. Анализ однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs), вставок/делеций и рекомбинационных событий не выявил отличий между геномами первого и шестого пассажей маточной культуры. При сравнении штаммов с референтным геномом BCG Pasteur были выявлены 23 SNPs, характерные для штаммов *M. bovis* BCG Russia. Дополнительно была идентифицирована ранее не описанная делеция в гене *pknA*, продукт которого участвует в регуляции формирования клеточной стенки [7].

Методами сравнительной геномики была подтверждена стабильность маточной культуры *M. bovis* BCG Russia, а также определены уникальные полиморфизмы, которые могут служить для создания систем генетического мониторинга.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

Исследование проводилось в рамках выполнения договора №1078/14 с НПО «Микроген».

### Список литературы

1. Charlet, D., Mostowy, S., Alexander, D., Sit, L., Wiker, H. G., & Behr, M. A. (2005). Reduced expression of antigenic proteins MPB70 and MPB83 in *Mycobacterium bovis* BCG strains due to a start codon mutation in sigK. *Molecular microbiology*, 56(5), 1302-1313.
2. Behr, M. A., Schroeder, B. G., Brinkman, J. N., Slayden, R. A., & Barry, C. E. (2000). A point mutation in the *mma3* gene is responsible for impaired methoxymycolic acid production in *Mycobacterium bovis* BCG strains obtained after 1927. *Journal of bacteriology*, 182(12), 3394-3399.
3. Brosch, R., Gordon, S. V., Garnier, T., Eiglmeier, K., Frigui, W., Valenti, P., ... & Cole, S. T. (2007). Genome plasticity of BCG and impact on vaccine efficacy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(13), 5596-5601.
4. Behr, M. A., & Small, P. M. (1999). A historical and molecular phylogeny of BCG strains. *Vaccine*, 17(7), 915-922.
5. Mostowy, S., Tsolaki, A. G., Small, P. M., & Behr, M. A. (2003). The in vitro evolution of BCG vaccines. *Vaccine*, 21(27), 4270-4274.
6. Magdalena, J., Supply, P., & Locht, C. (1998). Specific Differentiation between *Mycobacterium bovis* BCG and Virulent Strains of the *Mycobacterium tuberculosis* Complex. *Journal of clinical microbiology*, 36(9), 2471-2476.
7. Nagarajan, S. N., Upadhyay, S., Chawla, Y., Khan, S., Naz, S., Subramanian, J., ... & Nandicoori, V. K. (2015). Protein kinase A (PknA) of *Mycobacterium tuberculosis* is independently activated and is critical for growth in vitro and survival of the pathogen in the host. *Journal of Biological Chemistry*, 290(15), 9626-9645.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ОЦЕНКА ЭМБРИОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НАНОЧАСТИЦ КРЕМНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ *IN VITRO*

И.В. Стрекаловский, Ю.А. Панфёрова, В.Б. Попов

*ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА, Лаборатория общей токсикологии*

Опасность развития патологий, связанных с проникновением в организм наноразмерных частиц, существует уже сегодня и, по-видимому, в будущем будет нарастать. Выяснение причин патологического действия наночастиц и разработка путей борьбы с заболеваниями, связанными с проникновением этих частиц в организм, являются предметом нового направления в экспериментальной биологии и медицине. Известно, что наночастицы кремния различного размера обладают цитотоксическим эффектом в исследованиях с применением клеточных культур [1, 2]. В то же время в настоящее время имеется относительно мало данных о влиянии наночастиц на эмбриогенез [3, 4]. Нами был разработан экспресс-метод оценки эмбриотоксичности наночастиц диоксида кремния в системе *in vitro* с использованием культуры постимплантационных эмбрионов крысы.

В исследовании были использованы стерильно экстирпированные из матки беременных самок крыс линии Wistar эмбрионы на стадии формирования головного отростка (9,5–11,5 дни развития). Водную суспензию сферических наночастиц диоксида кремния размером 12 нм (Sigma-Aldrich, США) для предотвращения агломерации обрабатывали ультразвуком, затем в суспензию добавляли бычий сывороточный альбумин до конечной концентрации 15 мкг/мл. Постимплантационные эмбрионы культивировали в течение 48 ч. в инкубаторе при повышенном содержании CO<sub>2</sub> (5%) со стадии 2–4 пар сомитов до стадии 30 пар сомитов. Суспензия наночастиц диоксида кремния добавлялась в культуральную среду в начале культивирования в концентрациях 20, 100 и 200 мкг/мл. Оценивался морфогенез эмбрионов при культивировании в среде с 20, 100 и 200 мкг/мл кремниевых наночастиц и уровни экспрессии генов, связанных с образованием нервной трубки, что является ключевым событием для данного этапа развития эмбрионов (9,5–11,5 дни развития), при концентрации наночастиц в среде 100 и 200 мкг/мл. В качестве маркеров были выбраны следующие гены: bone morphogenetic factor 2, bone morphogenetic factor 4, sonic hedgehog, tubby-like protein 3, neurogenin-1. Согласно литературным данным, нарушение экспрессии этих генов приводит к появлению морфогенетических дефектов краниофациального отдела развивающихся эмбрионов. Оценку экспрессии генов проводили методом количественной ПЦР с использованием наборов праймеров «RT2-qPCR Assay SYBR Green I» (Sabioscience, Qiagen, Германия) согласно прилагаемой инструкции производителя.

В ходе исследования было установлено, что внесение наночастиц диоксида кремния во всех трёх концентрациях не вызывает эмбриолетального эффекта в культуре постимплантационных эмбрионов крысы. Отмечено общее торможение морфогенеза эмбрионов, в том числе замедление сомитогенеза на исследованных контрольных сроках (11,5 день развития), уменьшение краниокаудального отдела. Оценка экспрессии генов показала, что внесение в культуральную среду частиц диоксида кремния в концентрациях



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

200 и 100 мкг/мл приводит к активации экспрессии гена neurogenin-1 в 6,77 и 5,1 раз, соответственно; уровни экспрессии других исследованных генов, связанных с нейрональной дифференцировкой и формированием нервной трубки, значимо не изменялась. По-видимому, активация транскрипции нейрогенина-1 связана с нарушениями развития нервной трубки у эмбрионов.

Таким образом, в ходе работы была установлена эмбриотоксическая активность наноразмерных частиц диоксида кремния на постимплантационные эмбрионы крысы.

### Список литературы

1. Искусных И.Ю., Попов А.Л., Попова Т.Н., Кашкаров В.М., Ципенюк В.Н. Влияние нанокристаллического кремния на метаболическую активность и пролиферацию фибробластов и клеток карциномы гортани // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2012. – № 1. – С. 97-102.
2. Глушкова А.В., Радилов А.С., Рембовский В.Р. Нанотехнологии и нанотоксикология — взгляд на проблему // Токсикологический вестник. – 2007. – № 6. – С. 4-8.
3. Bosman S., Nieto S., Patton W., Jacobson J., Corselli J., Chan P. Development of mammalian embryos exposed to mixed-size nanoparticles // Clin. Exp. Obstet. Gynecol. – 2005. – V. 32. – P. 222-224.
4. Zalgeviciene V., Kulvietis V., Bulotiene D., Didzapetriene J., Rotomskis R. The effect of nanoparticles in rats during critical periods of pregnancy // Medicina (Kaunas). – 2012. – V. 48. – P. 256-264.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ЛЕЧЕНИЕ И ОТДАЛЁННЫЕ ИСХОДЫ ОСТРОГО КОРОНАРНОГО СИНДРОМА, СОЧЕТАЮЩЕГОСЯ С ФИБРИЛЛЯЦИЕЙ ПРЕДСЕРДИЙ У ПАЦИЕНТОВ, ГОСПИТАЛИЗИРОВАННЫХ В «НЕИНВАЗИВНЫЙ» СТАЦИОНАР

К.Г. Ткаченко, А.Д. Эрлих

*Лаборатория клинической кардиологии*

**Предпосылки и цель.** Наличие некоторых клинических состояний. Фибрилляция предсердий (ФП) является одним из клинических состояний, которое у пациентов с ОКС связано с худшим прогнозом. ФП также связана с повышенным риском тромбоэмболических осложнений и требует использования пероральных антикоагулянтов, что затрудняет лечение ОКС. Данные об особенностях лечения пациентов с ФП в российских стационарах, о его краткосрочных и долгосрочных исходах очень скудны. Цель работы состояла в том, чтобы оценить клинические особенности пациентов с ОКС и ФП, их лечение и исходы за время госпитализации и через 12 месяцев от начала ОКС.

**Материал и методы.** Исследование проводилось как одноцентровый проспективный регистр в ГКБ № 29 г. Москвы («неинвазивная» больница, т.е., не имеющая возможности выполнять коронарные процедуры). С декабря 2013 г. в течение 12 месяцев включались все последовательно госпитализированные пациенты с ОКС и ФП или трепетанием предсердий на первой ЭКГ, зарегистрированной в связи развитием ОКС. Через 12 месяцев от начала ОКС путём телефонных опросов собиралась информация об отдалённых исходах и о препаратах, принимаемых на день опроса.

**Результаты.** В исследование включено 234 пациента с ОКС и ФП (средний возраст  $72,0 \pm 11,6$  лет, пациенты старше 65 лет – 73,5%, женщины 68,8%). Наличие ФП до развития нынешнего ОКС отмечали у себя 65,0% пациентов, у 35,0% ФП была расценена как впервые возникшая.

У 229 (97,9%) пациентов был ОКС без подъёмов ST (ОКСбпST). Депрессии ST на исходной ЭКГ отмечались у 89,9% пациентов с ОКСбпST. У 59,8% был повышен уровень тропонина. Медиана значения шкалы CHADS<sub>2</sub>VASC составила 5 баллов (1-3й квартили 3-6 баллов). Доля пациентов со значением шкалы CHADS<sub>2</sub>VASC < 5 баллов составила 41,0%. Медиана длительности госпитализации составила 14 дней. За это время умерло 7 пациентов (3,0%), у одного (0,4%) развился новый ИМ.

Через 12 месяцев от начала ОКС 24 пациента (10,2%) оказались не доступны контакту. Таким образом, группа с известными отдалёнными исходами составила 210 человек. За это время умерло 38 пациентов (18,1%). Доля умерших после выписки из стационара составила 15,3%. Среди пациентов, которым при выписке было назначено сочетание АСК с оральным антикоагулянтом через 12 месяцев умерло 12,8%, а среди тех, кому была назначена ДАТ – 12,1% ( $p=0,88$ ). Доля пациентов, через год после ОКС, принимавших только АСК составила 62%, оральные антикоагулянты – 36% (14% варфарин, 22% – новый оральные антикоагулянты [НОАК]), двойную антитромбоцитарную терапию (ДАТ) – 11%.





## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

Доля «сохранения» назначений (то есть, частота приёма того или иного препарата, назначенного при выписке) через 12 месяцев составила для АСК 71%, для ДАТ – 20%, для варфарина – 33%, для НОАК – 63%, для любых оральных антикоагулянтов – 58%, для сочетания АСК с оральным антикоагулянтом – 27%.

Независимыми предикторами смерти через 12 месяцев после выписки и стационара стали уровень гемоглобина при поступлении  $<110$  г/л (отношение шансов [ОШ] 16,0; 95% доверительный интервал [95%ДИ] 2,57-99,50;  $p=0,003$ ), неиспользование никаких антитромботических препаратов до начала ОКС (ОШ 7,22; 95%ДИ 2,20-23,68;  $p=0,001$ ), высокий риск смерти  $>140$  баллов по шкале GRACE (ОШ 6,88; 95%ДИ 1,44-32,80;  $p=0,015$ ) и неназначение АСК при выписке из стационара (ОШ 3,21; 95%ДИ 1,20-8,61;  $p=0,02$ ).

**Заключение.** Результаты наблюдательного исследования пациентов с ОКС и ФП, поступивших в московскую «неинвазивную» больницу, показали:

- антитромботическое лечение в виде сочетания АСК с оральным антикоагулянтом при выписке получали 38% пациентов, а 48% выписались с прописанной ДАТ; частоты отдалённых смертельных исходов в этих подгруппах значимо не различались;
- смертность через 12 месяцев от начала ОКС составила 18,1%;
- «сохранение» приёма антитромботических препаратов через 12 месяцев от начала ОКС было наилучшим для АСК – 71% и для НОАК – 63%;
- независимыми предикторами смертельных исходов, развившихся после выписки из стационара в течение 12 месяцев от начала ОКС стали исходный уровень гемоглобина  $<110$  г/л, неиспользование антитромботических препаратов до ОКС, риск госпитальной смерти по шкале GRACE  $>140$  баллов и неназначение АСК при выписке из стационара.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### НОВЫЕ БЕНЗОТИАЗОЛЬНЫЕ ЛИГАНДЫ ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ НЕКАНОНИЧЕСКИХ СТРУКТУР ДНК

А. Тураев, М. Танкевич, А. Аралов, А. Варижук

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Лаборатория искусственного антителогенеза*

Формирование и роль неканонических структур ДНК, в частности G-квадруплексов (G4 - четырехцепочечные структуры, образуемые G-богатыми фрагментами полинуклеотидов) и I-мотивов (IM – «интеркалированные» мотивы, образуемые C-богатыми фрагментами полинуклеотидов) в геноме, а также возможности использования таких структур в нанотехнологии и медицинской химии активно обсуждаются в научной литературе. Для идентификации, стабилизации и визуализации G4 и IM широко применяются низкомолекулярные лиганды [1-2]. Перспективным направлением является разработка флуоресцирующих лигандов, чувствительных к вторичной структуре олигонуклеотидов (“light-up”- пробы). Соединения такого рода позволяют выявлять неканонические структуры в составе протяженных фрагментов нуклеиновых кислот; фиксировать индуцированные различными факторами (рН, белки-регуляторы и др.) конформационные переходы в них; используются при создании соответствующих сенсоров и диагностикумов. Ярким примером “light-up”-пробы, применяемой в фундаментальных исследованиях нуклеиновых кислот и входящей в состав тест-систем на основе G4 олигонуклеотидов, является бензотиазольный краситель тиофлавин Т [3]. Как и прочие известные лиганды, тиофлавин имеет ограничения и недостатки (чувствительность существенно зависит от топологии конкретного G4, возможны артефакты). В настоящей работе представлены дизайн, синтез и исследования флуоресцентных характеристик серии новых лигандов на основе бензотиазола (пиридиниевые производные). Определены параметры флуоресценции новых лигандов в составе одноцепочечных фрагментов ДНК, дуплексов, G4 и IM. Проанализированы влияние последовательности и вторичной структуры олигонуклеотидов на флуоресценцию лиганда, а также влияние лиганда на стабильность различных структур ДНК. Выявлено лидерное соединение, имеющее перспективы применения в качестве “light-up”-пробы к G4.

Работа поддержана грантом РФФИ 14-25-00013.

#### Список литературы

1. Ilyinsky et al. *Molecular Biology* 2014, 48(6): 778-794
2. Day et al. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 2014, 22(16): 4407-4418.
3. Mohanty et al. *JACS* 2013, 135(1): 367-376



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЗЕНХИМАЛЬНО-СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ДЛЯ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ. ПРОБЛЕМЫ

О.В. Тюмина, С.Е. Волчков, П.А. Овчинников, А.И. Горина

*Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Самарский областной центр планирования семьи и репродукции»*

**Введение.** Клеточные технологии – перспективное направление в развитии современной медицины. Спектр их применения достаточно широк, и во многих случаях уже достигнуты значительные успехи; многочисленные исследования сейчас находится на стадии доклинических и клинических испытаний по всему миру. С точки зрения регенеративной медицины, наиболее перспективными типами клеток являются мезенхимально-стромальные (МСК). Обычно, в клинической практике рассчитывают на 1 млн. донорских клеток на килограмм веса пациента, что в большинстве случаев требует их наращивания. В настоящее время культивирование клеток проводится с использованием питательных сред с добавлением сывороток животного происхождения, однако использование ксеногенных компонентов не рекомендовано, а в некоторых странах запрещено. Альтернативой сывороткам являются рекомбинантные цитокины или обогащенная тромбоцитами плазма (ОТП). Использование рекомбинантных цитокиновых коктейлей при масс-культивировании клеток значительно увеличивает себестоимость процедуры за счет высокой цены компонентов, поэтому альтернативным источником остается обогащенная тромбоцитами плазма (тромбоплазма, ОТП). В данной работе, мы предлагаем обратить внимание на использование обогащенной тромбоплазмы из пуповинно-плацентарной крови в качестве заменителя ЭСК при масс-культивировании ММСК для клинического применения. Пуповинная кровь сама по себе является богатым источником стволовых клеток, которые в свою очередь, способны к повышенной продукции цитокинов, поэтому приготовление обогащенной тромбоплазмы из пуповинной крови как ростовых факторов цитокинов более оправдано по сравнению с тромбоплазмой из периферической крови взрослых доноров.

**Материалы и методы.** В ходе настоящего исследования были отработаны методы получения ОТП из пуповинной крови, получены цифровые значения концентраций цитокинов VEGF, PDGF, FGF, EGF в полученных образцах, а также отработан механизм лиофилизации и хранения ОТП без потери активности целевых белков. Мы определили количественное содержание VEGF, PDGF, FGF, EGF в ОТП из ПК. А так же провели сравнительный анализ ростовых и морфологических характеристик культуры МСК при культивировании на стандартных средах – 10% ЭСК и с применением ОТП – 10% ОТП.

**Результаты.** В ходе эксперимента мы не обнаружили существенных различий в морфологии культивированных клеток МСК, выращенных на исследуемой и контрольной среде. Пролиферативные свойства клеток так же не отличались. Таким образом мы склонны полагать, что ОТП, может применяться как альтернатива животным сывороткам и способна поддерживать нормальную пролиферацию клеток.



## **ВИЗУАЛИЗАЦИЯ НАНОЧАСТИЦ В ОРГАНИЗМЕ ПОЧВЕННЫХ НЕМАТОД *CAENORHABDITIS ELEGANS***

Г.И. Фахруллина, Ф.С. Ахатова, Э.И. Гаязова, Р.Ф. Фахруллин

Лаборатория бионанотехнологии и биоматериалов, Казань

Высококонтрастная усиленная темнопольная микроскопия (УСМ) CitoViva® позволяет быстро, просто и эффективно наблюдать наночастицы внутри живых организмов без использования химической фиксации или флуоресцентных красителей. Целью нашего исследования было изучить с помощью УСМ локализацию и степень агрегации наночастиц внутри организма нематод *Caenorhabditis elegans*. Изображения в режиме усиленного темного поля были получены с помощью конденсора CitoViva®, присоединенного к микроскопу Olympus BX51, который оснащен флюоритным 100x объективом и CCD камерой.

Для контролируемой доставки галлуазитных нанотрубок (ГНТ) внутрь *C. elegans* мы использовали «наноживки» – нанопокрываемые бактерии *Escherichia coli* в качестве единственного пищевого источника микрочервей [1]. Высококонтрастные изображения УТМ показали, что через 30 минут после кормления нематод нанопокрываемыми бактериями ( $10^{10}$  кл/мл; концентрация наночастиц 1 мг/мл) ГНТ в основном концентрировались в области глотки и передней части кишечника (Рис.1). Спустя час и 2 часа после приема пищи ГНТ были обнаружены исключительно в пищеварительной системе червей, начиная с ротовой полости до ануса, с существенными скоплениями в области глотки, преимущественно в расширениях (бульбус). В среднем и заднем отделах кишечника наночастицы были также четко видны, однако в случае с ГНТ наблюдалось меньше агрегаций. Для единичных изолированных наночастиц было характерно броуновское движение в кишечнике нематод.

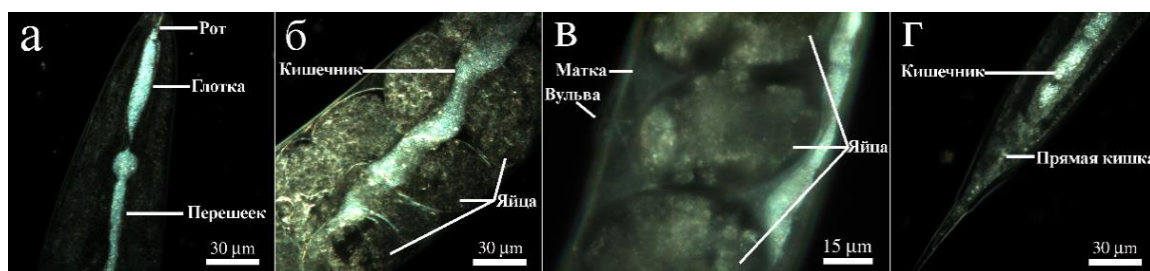


Рис. 1. Темнопольные микрофотографии, демонстрирующие локализацию нанотрубок галлуазита в кишечнике нематод: а) внутри глотки; б,в) в среднем отделе кишке (нанотрубки отсутствуют в эмбрионах, матке и вульве; г) задний отдел кишки.

Важно отметить, что вне кишечника нематод нанотрубки галлуазита не обнаружены. Предыдущие исследования свидетельствуют о том, что наночастицы оксида кремния попадают в организм *C. elegans* не только через ротовой аппарат, но и через вульву, откуда они диффундируют в другие органы [2]. В случае с ГНТ, мы не видим какого-либо скопления



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

нанотрубок вблизи вульвы, более того, их не было обнаружено в матке, сперматеке и в эмбрионах [3]. Мы связываем это с относительно большими размерами ГНТ (до 1500 нм), по сравнению с 50-нм кремния, используемого в предыдущем исследовании.

Описанная в данной работе техника усиленной темнопольной микроскопии, несомненно, может использоваться для визуализации широкого спектра наночастиц в режиме реального времени.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №14-14-00924).

### Список литературы

1. Konnova S.A., Danilushkina A.A., Fakhrullina G.I., Akhatova F.S., Badrutdinov A.R., Fakhrullin R.F. Silver nanoparticles-coated "cyborg" microorganisms: rapid assembly of polymer-stabilised nanoparticles on microbial cells // RSC Adv. 2015, №5, p. 13530-13537.
2. Scharf A., Piechulek A., Mikecz A. Effect of Nanoparticles on the Biochemical and Behavioral Aging Phenotype of the Nematode *Caenorhabditis elegans* // ACS Nano. 2013, №7, p. 10695-10703.
3. Fakhrullina G.I., Akhatova F.S., Lvov Y.M., Fakhrullin R.F., Toxicity of halloysite clay nanotubes in vivo: a *Caenorhabditis elegans* study // Environ. Sci.: Nano. 2015, №2, p. 54-59.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### **АНАЛИЗ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ *SHOX2*, *RASSF1*, *DAPK1*, *GSTP1*, *RARBETA*, *TGFBR1* И *MIR-375* ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ОНКОПАТОЛОГИЯХ ЛЕГКИХ**

Д.С. Ходырев<sup>1</sup>, О.И. Бровкина<sup>1</sup>, М.Г. Гордиев<sup>2</sup>, Н.Н. Летуновский, А.Г. Никитин<sup>1</sup>,  
А.В. Аверьянов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральный научно-клинический центр ФМБА, Лаборатория генетики;

<sup>2</sup>ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер МЗ РТ»

**Введение.** В XXI веке остро стоит проблема поиска эффективных и дешевых методов для раннего выявления рака легких. Пациенты с подозрением на злокачественное заболевание легких, как правило, подвергаются клиническим исследованиям, таким как КТ-сканирование грудной клетки и бронхоскопии. Последнее преимущественно применяется для подтверждения диагноза. Тем не менее, даже когда признаки, симптомы и рентгенологические данные указывают на то, что клинический диагноз злокачественного заболевания легких является очевидным, требуются дополнительные инвазивные процедуры для получения биологического материала, пригодного для окончательного подтверждения наличия злокачественных клеток. В настоящее время есть четкое понимание необходимости поиска биомаркеров способных на доклинической стадии выявлять клетки рака с помощью малоинвазивных процедур. Недавно был обнаружен ценный биомаркер, основанный на метилировании гена *SHOX2*, для выявления рака легких в бронхиальных аспиратах [1]. Аномальное метилирование гена *SHOX2* является отличительной чертой опухолей легких и коррелирует с увеличением числа копий участка локуса *3q25.3* [2–3]. Метилирование гена *SHOX2* обнаруживается при злокачественной трансформации легких даже у пациентов с отрицательным результатом по цитогистологии [4]. Кроме того, метилирование гена *SHOX2* наблюдается в различных гистологических подтипах рака легких [2, 4]. Однако, в настоящее время недостает информации о молекулярном механизме регулирования *SHOX2*. Для лучшего понимания причин возникновения онкопатологии легких в нашей работе был проведен одновременный анализ метилирования гена *SHOX2* и ряда генов: *RASSF1*, *DAPK1*, *GSTP1*, *RARBeta*, *TGFBR1* и *miR-375*, которые вовлечены в патогенез различных онкопатологий.

**Материалы и методы.** Было исследовано 90 образцов ткани легкого, из которых: аденокарцинома легкого – 20 образцов, плоскоклеточный рак легкого – 20 образцов, мелкоклеточный рак легкого – 10 образцов, прилежащая к опухоли гистологически нормальная ткань легкого – 20 образцов, ткань легкого *post mortem* от пациентов без онкологической патологии – 20 образцов. Образцы собраны и клинически охарактеризованы в ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер МЗ РТ» (Казань). Образцы ткани легкого *post mortem* от пациентов без онкологической патологии собраны в ФГБУ ФНКЦ ФМБА России. Использовали ткани только тех больных, которые до операции не получали лучевую или химиотерапию. Выделение, конверсия и очистка ДНК проводилось с использованием наборов QIAGEN на автоматической станции пробоподготовки QIAcube.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

Изучение профилей метилирования производилось с помощью метода HeavyMethylLight PCR на амплификаторе с детекцией в режиме реального времени StepOnePlus (Applied Biosystems).

**Результаты.** При аденокарциноме легких выявляется метилирование генов *SHOX2*, *TGFBR1*, *RARbeta*, *RASSF1* и *mir-375* с частотами 50%, 10%, 40%, 5% и 10%, соответственно. При плоскоклеточном раке легкого метилирование обнаруживается у генов *SHOX2*, *RARbeta*, *RASSF1*, *DAPK1*, *GSTP1* и *mir-375* с частотами 80%, 45%, 40%, 10%, 5% и 10%, соответственно. При мелкоклеточном раке легкого установлено метилирование генов *SHOX2*, *RARbeta*, *RASSF1* и *mir-375* с частотами 70%, 30%, 60% и 10%, соответственно. Для образцов гистологически нормальной ткани, прилежащей к аденокарциноме легкого, метилирование исследуемых генов не обнаружено. В случае с образцами, прилежащими к плоскоклеточному раку легкого, метилирование обнаружено для гена *DAPK1* в одном образце. При анализе образцов ДНК из ткани легкого *post mortem* от пациентов без онкологической патологии, метилирование выявлено для генов *DAPK1*, *GSTP1* и *mir-375* с частотой 30%, 5% и 45%, соответственно.

### Список литературы

1. Schmidt B, Liebenberg V, Dietrich D, et al. *SHOX2* DNA methylation is a biomarker for the diagnosis of lung cancer based on bronchial aspirates. *BMC Cancer* 2010; 10:600.
2. Dietrich D, Hasinger O, Liebenberg V, Field JK, Kristiansen G et al. (2012) DNA methylation of the homeobox genes *PITX2* and *SHOX2* predicts outcome in non-small-cell lung cancer patients. *Diagn Mol Pathol* 21: 93–104.
3. Schneider KU, Dietrich D, Fleischhacker M, Leschber G, Merk J et al. (2011) Correlation of *SHOX2* gene amplification and DNA methylation in lung cancer tumors. *BMC Cancer*. 11: 102.
4. Dietrich D, Kneip C, Raji O, Liloglou T, Seegebarth A et al. (2012) Performance evaluation of the DNA methylation biomarker *SHOX2* for the aid in diagnosis of lung cancer based on the analysis of bronchial aspirates. *Int J Oncol* 40: 825–832.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ И ИНТЕГРАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ИЗМЕНЕНИЙ КИШЕЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ НА ФОНЕ ЭРАДИКАЦИИ *H. PYLORI*

Д.Р. Хуснутдинова<sup>1</sup>, Т.В. Григорьева<sup>1</sup>, С.Р. Абдулхаков<sup>1,2</sup>, Д.Д. Сафина<sup>1</sup>, Е.А. Булыгина<sup>1</sup>,  
С.Ю. Маланин<sup>1</sup>, М.Н. Синягина<sup>1</sup>, М.И. Маркелова<sup>1</sup>, Р.А. Абдулхаков<sup>2</sup>, В.М. Чернов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань;

<sup>2</sup>Казанский государственный медицинский университет, Казань

В данной работе был проанализирован состав микрофлоры кишечника у пациентов, страдающих язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки в стадии обострения и/или ремиссии, гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, хроническим гастритом, у которых при эндоскопическом обследовании была обнаружена инфекция *Helicobacter pylori*. Образцы были собраны на базе амбулаторно-поликлинического отделения Республиканской клинической больницы №2 (Казань) и платных клиник города Казани от пациентов, наблюдающихся у терапевтов/гастроэнтерологов, при первичном обращении и после проведенного курса эрадикационной терапии. Показаниями для проведения эрадикационной терапии служили заболевания/состояния, указанные в IV Маастрихтском консенсусе.

Для анализа были использованы 96 образцов кала (43 от *H. pylori*-позитивных пациентов до эрадикационной терапии, 43 – от тех же самых пациентов после эрадикации, а также 10 образцов от здоровых *H. pylori*-негативных волонтеров). Эрадикационная терапия включала в себя амоксициллин 1000мг дважды в день, кларитромицин 500 мг дважды в день, висмута субсалицилат 240мг дважды в день, эзомепразол 20 мг дважды в день в течение 14 дней. В качестве пребиотика применялась лактулоза на протяжении всего курса терапии. Тотальная ДНК, выделенная из образцов кала, была подготовлена методом шотган ипросеквенирована на приборе SOLiD 5500 Wildfire. Полученные риды были собраны в контиги и проаннотированы с использованием базы nr/ntNCBI.

По предварительным результатам для контрольной группы доминирующими оказались рода (более 1% от сообщества): *Bacteroides*, *Lachnospiraceae*, *Faecalibacterium*, *Prevotella*, *Blautia*, *Coprococcus*, *Eubacterium*, *Roseburia*, *Parabacteroides*, *Alistipes*, *Ruminococcus*, *Anaerostipes*, *Dorea*, *Bifidobacterium*. Стоит отметить, что даже среди здоровых пациентов наблюдались сильные различия в составе микробного сообщества кишечника.

Для оценки изменений в микробиоте кишечника под действием препаратов для эрадикации *H. pylori* использовали показатель индекса разнообразия Шеннона и расстояние между образцами микробиоты до/после проведения терапии при двумерном шкалировании метагеномных данных. Наряду с интегральными показателями охарактеризовали качественные изменения в составе микробиоты. В отличие от группы контроля для пациентов с *H. pylori*-ассоциированными заболеваниями характерен более широкий диапазон вариаций по составу кишечной микрофлоры и часто более низкий индекс видового разнообразия, что может свидетельствовать об изначальной нестабильности сообщества микрофлоры кишечника больных.





## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

По характеру изменений числа видов и индекса Шеннона эффекты действия антибиотиков можно разделить на 8 групп:

1 группа – самая многочисленная (50% случаев), когда уменьшается и количество видов и индекс Шеннона;

2 группа – индекс Шеннона увеличивается, а количество видов остаётся тем же;

3 группа – индекс Шеннона не меняется, а количество видов увеличивается;

4 группа – индекс Шеннона увеличивается, количество видов уменьшается;

5 группа – индекс Шеннона не меняется, количество видов уменьшается;

6 группа – индекс Шеннона уменьшается, количество видов не меняется;

7 группа – индекс Шеннона увеличивается, количество видов увеличивается;

8 группа – индекс Шеннона и количество видов не изменяется;

Оценка дистанций между образцами до/после проведения терапии на основе метагеномных данных позволили выявить случаи со слабыми, средними и кардинальными изменениями в составе кишечной микробиоты, однако этот показатель не коррелирует с изменением индекса Шеннона и требует более глубокого анализа на функциональном уровне.

После терапии наиболее достоверно отмечается увеличение представленности в составе кишечной микрофлоры родов *Bacteroides* и *Clostridium*, и снижение доли *Bifidobacterium*, а также менее распространенных *Collinsella*, *Coprococcus*, *Akkermansia*, *Dialister*, *Haemophilus*, *Roseburia*, *Sutterella*, *Bilophila*, *Holdemania* и *Lactobaccillus*.

Таким образом, необходимо учитывать индивидуальные особенности состава микрофлоры кишечника при прогнозировании возможных побочных эффектов от фармацевтических препаратов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы» (Соглашение №14.575.21.0076 от 22.08.2014, ID RFMEFI575I4X0076).



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ ФЛУОРЕСЦИРУЮЩИХ НАНОКЛАСТЕРОВ СЕРЕБРА, КООРДИРОВАННЫХ С БЫЧЬИМ СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ

И.Д. Шайбакова, Д.В. Клинов

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Лаборатория медицинских нанотехнологий*

Флуоресцентные металлические нанокластеры включают в себя от нескольких до сотен атомов благородных металлов. За счет своих размеров нанокластеры проявляют свойства, похожие на свойства молекул: так, для них характерны дискретные энергетические уровни<sup>1</sup>. Как и в органических флуорофорах, электронные переходы между энергетическими уровнями приводит к поглощению и испусканию света (флуоресценции). Было показано, что металлические нанокластеры стабильнее органических флуорофоров к выгоранию.<sup>2</sup> Эти уникальные для металлических частиц оптические свойства предполагают возможное использование нанокластеров в качестве биосенсоров и биомаркеров.<sup>2</sup>

Цель работы: синтез флуоресцентных серебряных нанокластеров и изучение их оптических, физико-химических свойств.

Были синтезированы нанокластеры серебра, связанные с бычьим сывороточным альбумином (БСА). Для подтверждения синтеза нанокластеров были получены спектры флуоресценции – серебряные нанокластеры флуоресцируют в синей области при возбуждении длиной волны в 365нм.

Было изучено влияние pH на оптические свойства нанокластеров. В результате экспериментов был выявлен оптимальный pH для получения стабильных, интенсивно флуоресцирующих нанокластеров.

Исследование методом кругового дихроизма показало, что белки частично денатурируют. Анализ с помощью атомно-силового микроскопии подтвердил данный факт – на полученных изображениях меняется морфология белка, видны как белковые глобулы, так и фибриллы. Просвечивающая электронная микроскопия подтвердила присутствие нанокластеров серебра внутри белковой глобулы.

Анализ токсичности для культуры клеток Hela с использованием набора флуоресцентных красителей life/dead показал, что нанокластеры не проникают в монослойные культуры клеток и, следовательно, нетоксичны по отношению к эукариотическим клеткам.

### Список литературы

1. Li J, Zhu J-J, Xu K. Fluorescent metal nanoclusters: From synthesis to applications. *Trends Anal Chem.* 2014;(58):90-98.
2. Le Guevel X, Hotzer B, Jung G, Hollemeyer K, Trouillet V, Schneider M. Formation of Fluorescent Metal (Au, Ag) Nanoclusters Capped in Bovine Serum Albumin Followed by Fluorescence and Spectroscopy. *J Phys Chem C.* 2011;(115):10995-10963.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### **РАЗРАБОТКА ПЛАСТЫРЯ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ, ИСПОЛЬЗУЕМОГО ДЛЯ УСКОРЕННОГО ЗАЖИВЛЕНИЯ КОЖНЫХ ГЕМАТОМ И УШИБОВ**

Ю.Д. Шакирова, Р.Ю. Галимзянова

*ФГБОУ ВПО «КНИТУ», Казань, Россия*

На сегодняшний день огромное количество людей во всем мире страдают появлением гематом на теле в разных местах. Вообще их появление и исчезновение во многом определяется показателем циркуляции крови на том или ином участке тела. Во многих случаях кожные гематомы выглядят не эстетично. Возникает желание скорейшего избавления от данного недуга. Причины возникновения гематом также могут быть различными. Это, прежде всего, травмы, механическое воздействие на тело. Гематомы могут появляться не только от удара, но и являться следствием какого-либо заболевания, например, при заболеваниях внутренних органов, нарушений в работе кровеносной системы [1].

На данный момент в России выпускают пластыри, которые могут ускорить заживление кожных гематом и ушибов. Их действие, как правило, направлено на разогревание пораженного участка и улучшение циркуляции крови за счет присутствия таких компонентов как перцовые растворы. Как известно, данные виды пластыря имеют множество недостатков, а именно возникновение ожогов кожи. Также перцовые пластыри нельзя использовать в первый день ушиба, а следствие этого может стать увеличение поражения кожи [2]. Поэтому актуальным является разработка пластыря на основе нетканой вискозы с активным веществом гепарином, который сможет исключить возникновение подобных осложнений.

Вискозная нетканая основа в сочетании с полиакрилатным адгезивом будет обеспечивать гипоаллергенность и будет наиболее подходящей для кожного покрова человека. А телесный (бежевый) цвет пластыря сможет осуществить относительную маскировку пораженного участка.

Действие данного пластыря будет основано на пролонгированном высвобождении активных веществ из пластырной матрицы и локальном воздействии их на кожу. Доказано, что гепарин оказывает антитромботическое действие и уменьшает воспалительный процесс, улучшает микроциркуляцию и активизирует тканевой обмен, благодаря этому ускоряет процессы рассасывания гематом и тромбов и уменьшения отека тканей [3].

Пластырь будет представлять собой трехслойную конструкцию, содержащую воздухо- и влагопроницаемую подложку – нетканую вискозу, на эту подложку будет нанесен слой адгезива в виде безвредного для кожи полиакрилата. На ней будет закреплена гигроскопичная и атравматичная прокладка, выполненная также из нетканой вискозы, на которую будет нанесен состав из гепарина. Пластырь сможет иметь прямоугольную, круглую форму и другие геометрические формы любого размера. Он будет обладать улучшенными эксплуатационными характеристиками и ускорять процесс регенерации.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

Пластырь будет разработан с учетом требований, предъявляемых к хирургическому перевязочному материалу ГОСТ Р 53498 – 2009. Несмотря на плотную фиксацию, пластырь будет легко удаляться, поэтому его можно будет применять для самой чувствительной кожи. Гипоаллергенный адгезивный слой не будет вызывать никаких раздражений. Пористая структура сможет позволять влаге беспрепятственно испаряться, не нарушая прочность прилипания.

Благодаря таким свойствам, как хорошая воздухопроницаемость (541,3 мм/с), отличная гигроскопичность (высота подъема жидкости 45мм), легкость окрашивания в различные цвета(бежевый), нетканое полотно на основе вискозного волокна стало наиболее подходящим для разработки данного пластыря. При выборе адгезива главными требованиями являлось гипоаллергенность и хорошая адгезия коже, а также безболезненное снятие данного пластыря. Полиакрилатный адгезив при начальном этапе наложения повязки будет приклеиваться к клеткам кожи, расположенным на поверхности, при этом в области контакта будут оставаться небольшие пустоты. Через некоторое время адгезив заполняет эти пустоты и степень прикрепления к коже нарастает, что очень удобно, когда необходима прочная или длительная фиксация.

### Список литературы

1. Гематомы на теле [Электронный ресурс]: Режим доступа: <http://hirurgs.ru/content/gematomy-na-tele> , свободный.
2. Виды пластырей [Электронный ресурс]: Режим доступа: <http://pozvonki.com/preparaty/plastyri/> , свободный.
3. Хомутов А.Е., Орлов Б.Н., Физиологическая роль гепарина: Учеб. пособие – Н.Н.: 1987. – 110-115.



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## СРАВНЕНИЕ УРОВНЯ ПРЕДСТАВЛЕННОСТИ МРНК И БЕЛКОВ ШТАММОВ *HELICOBACTER PYLORI* 26695, J99, A45 И ТРЕХ ИЗОГЕННЫХ МУТАНТОВ ШТАММА A45 ПО ГЕНАМ МЕТИЛАЗ

Т.И. Шашкова, О.Е. Глущенко, Д.С. Ищенко, А.И. Манолов, Д.Г. Алексеев

ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Лаборатория биоинформатики

Объектом исследования данной работы является бактерия *Helicobacter pylori*. *H. pylori* – грам-отрицательная бактерия, признанная в качестве основного возбудителя хронического воспаления слизистой оболочки желудка человека, язвенной болезни; является одним из основных факторов риска развития рака желудка [1]. Бактерия представлена примерно у 50% населения мира, но болезни желудка развиваются меньше, чем у 10% носителей [2].

Интенсивно изучается патогенность бактерии *H. pylori*, особенно факторы вирулентности: эффектор *CagA*, цитотоксин *VacA*, *IceA* и *VabA*, а также ее адгезины и уреазы. Последние позволяют бактерии нейтрализовать кислую среду за счет производства аммония. Ограниченность обитания *H. pylori* в желудке связана с пониженной функциональной избыточностью его небольшого генома (~1,6 Мб), характеризующегося сниженными количеством транскрипционных регуляторов [3]. На сегодняшний день получен большой объем метаданных о бактерии *H. pylori*, что позволяет провести комплексный биоинформатический анализ и разобраться в механизмах регуляции.

В представленной работе проводится сравнительный анализ транскриптомных и протеомных профилей экспрессии генов у штамма *H. pylori* A45 и трех его изогенных мутантов по генам систем рестрикции-модификации, а также штаммов 26695 и J99.

Мы проанализировали транскрипционные профили и выявили гены, которые высоко экспрессируются в одних штаммах и низко – в других. Также была произведена оценка представленности белков в диком типе A45 и мутантах с использованием программы Progenesis. С учетом литературных данных и анализа собственных протеомных данных мы сравнили композиции белковых комплексов и их представленность в бактерии.

В результате данной работы мы определили возможные количественные комбинации сочетания представленности транскриптов и белков, при которых могут существовать бактерии вида *H. pylori*.

### Список литературы

1. Marshall BJ One hundred years of discovery and rediscovery of *Helicobacter pylori* and its association with peptic ulcer disease. *Helicobacter pylori: physiology and genetics*. Washington (D.C.): ASM Press. Pp 19–24 (2001) .
2. Malfertheiner P., F.K. Chan, K.E. McColl, Peptic ulcer disease. 374, 1449–1461 (2009). doi:10.1016/S0140-6736(09)60938-7 PMID:19683340
3. Tomb JF, White O, Kerlavage AR, Clayton RA, Sutton GG, et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature* 388: 539–547 (1997)



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### КОНСТРУИРОВАНИЕ БИОДОСТУПНЫХ АССОЦИАТОВ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА

В.В. Шашкова, И.А. Пышная

*Новосибирский государственный университет, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Лаборатория бионанотехнологии, Новосибирск*

Наночастицы золота (НЧЗ) благодаря их способности проникать в клетки, сродству к различным молекулам и уникальным оптическим свойствам широко исследуют и используют в бионанотехнологии. Ассоциаты НЧЗ с различными соединениями (как низко- и высокомолекулярными) также являются перспективными объектами. Ранее в лаборатории бионанотехнологий было показано образование стабильных наностержней золота, покрытых слоем линейного полиэтиленимина (PEI), и исследовано проникновение этих ассоциатов в различные клетки. Кроме этого, гистологические исследования продемонстрировали, что при введении таких конъюгатов в опухоль мыши и облучении лазером, наблюдается выраженное разрушение и уменьшение опухоли. Это свидетельствует о перспективном использовании конъюгатов на основе наночастиц золота для биомедицинских приложений. Как правило, создают ковалентные конъюгаты биомолекул с НЧЗ. Однако это затрудняет высвобождение лекарственного препарата и его доставку в клетку. «Слой-за-слоем» – это эффективный способ получения нековалентных нанокомпозитов с любым типом субстрата [1].

Цель работы – конструирование биодоступных ассоциатов на основе наночастиц золота, содержащих чередующиеся слои олигодезоксирибонуклеотида (ON) и высокомолекулярных полимеров.

НЧЗ были синтезированы методом цитратного восстановления (14 нм). Частицы характеризовали просвечивающей электронной микроскопией (ПЭМ) и фотонно-корреляционной спектроскопией (ФКС). На первом этапе для стабилизации проводили адсорбцию гомоолигонуклеотидов  $A_{26}$ ,  $C_{26}$  или  $T_{26}$ , которые нековалентно связывались с поверхностью НЧЗ. Далее для повышения биосовместимости сорбировали тиолированную полиэтиленгликолевую кислоту (HS-PEG-COOH) на поверхность наночастиц посредством связи Au-S. Последующую сборку ассоциатов осуществляли обработкой полученных конструкций линейным полиэтиленимином (PEI), ON и опять PEI. Олигонуклеотиды и полимеры связывались «слой-за-слоем» за счет электростатических и гидрофобных взаимодействий. Продукты, полученные на каждом этапе, характеризовали ПЭМ и ФКС. Показано, что введение линейного PEI приводило к смене поверхностного заряда на положительный, что важно для проникновения ассоциатов через клеточную мембрану [2]. Стоит отметить, что полученные результаты отработаны на разветвленном PEI и воспроизведены с линейным, нетоксичным PEI. На изображениях ПЭМ наблюдали, что частицы находятся в стабильном, неагрегированном состоянии. Кроме этого, частицы обладали ярко выраженной «коронай». При контрастировании ассоциатов разнозаряженными агентами наблюдали положительно и отрицательно заряженные слои.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

Наличие слоев ON и PEI подтверждали вытеснением последних раствором дитиотреитола с формамидом при высокой температуре или раствором глутатиона (Glut) в физиологических условиях. В обоих случаях за счет сильного сродства Au-S серосодержащие агенты высвобождали ON и PEI в раствор. Количество ON и PEI оценивали по интенсивности радиоактивности и флуоресценции соответственно. При воздействии глутатиона частицы не агрегировали, оставались стабильными. По электрофоретическому анализу предположили, что при вытеснении глутатионом частицы присутствуют в виде комплекса Au-PEG-Glut.

Поскольку конечной целью является использование ассоциатов НЧЗ в качестве терапевтического средства необходимо было учесть возможность взаимодействия сывороточного альбумина с наночастицами золота. Показана стабильность ассоциатов в среде с альбумином, при этом взаимодействии белок не вытеснял ON.

Кроме создания ассоциатов на основе наночастиц золота с олигонуклеотидами перспективной задачей является получение комплексов наночастиц золота с пептидами.

В качестве нековалентно присоединяемого белка использовали RL<sub>2</sub> (аналог лактапина), который связывался с поверхностью НЧЗ за счёт физической сорбции. Ковалентно присоединяли к наночастицам пептиды, обладающие противобактериальной активностью. Эксперименты по воздействию таких ассоциатов на клетки *Salmonella Typhimurium* продемонстрировали перспективность данных конструкций для дальнейших биомедицинских приложений.

Таким образом, охарактеризованы все стадии создания положительно заряженных многослойных, биодоступных ассоциатов на основе НЧЗ. Получены сферические НЧЗ, несущие полиэтиленмин и олигонуклеотид. Предложен возможный механизм проникновения и доставки ассоциатов с помощью клеточного глутатиона.

### Список литературы

1. R. Cao-Mila et. al, Expert opinion Drug Delivery, 2014, 11(5), 741-752
2. I.A. Pyshnaya et. al, BioMed Research International, 2014, ID 908175



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ВЛИЯНИЕ КОМОРБИДНОЙ ПАТОЛОГИИ НА РАЗВИТИЕ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ПНЕВМОНИИ

Е.С. Шубина, Е.С. Акулов

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины, Терапевтическое отделение КБ № 123*

**Актуальность.** В силу ряда экологических и социальных процессов неспецифическая бронхоплевральная патология является ведущей причиной временной нетрудоспособности и одной из главных причин инвалидизации и смерти от инфекционных болезней [2], которая составляет от 3 до 6% у лиц молодого и среднего возраста без сопутствующих заболеваний [3] и достигает 15-30% у пациентов старше 60 лет при наличии сопутствующей патологии [4]. Наибольшую проблему для врачей представляют пациенты с тяжёлым, осложнённым течением пневмонии, так как, несмотря на доступные методы диагностики и лечения, в том числе современные антимикробные препараты, летальность у данной категории больных остается высокой, а лечение является сложным и дорогостоящим [1].

Целью проведенного анализа являлось выявление влияния коморбидной патологии на частоту развития осложнений пневмонии в терапевтическом отделении КБ№123.

**Материал и методы.** Проведен анализ 162 историй болезни за 2015г с основным диагнозом пневмония. Во всех случаях диагноз был подтверждён рентгенологически.

У 125 (77%) пациентов имелась сопутствующая коморбидная патология (сахарный диабет, алкогольная болезнь, хронический вирусный гепатит С, героиновая наркомания). 37 (22.8%) пациентов сопутствующей патологии не имели.

**Результаты.** За 2015 год в отделении терапии было зафиксировано 7 случаев осложнённого течения пневмонии, что составляет около 4% от всего числа больных пневмонией, пролеченных за этот год: ОРДС – 4 случая, деструкция – 2 случая, эмпиема плевры – 1 случай. Доля мужчин с осложнениями пневмонии составила 70%, женщин – 30%. Доля лиц младше 60 лет составила 45%, старше 60 лет – 55%. Во всех случаях осложнённого течения пневмонии была выявлена тяжёлая коморбидная патология: алкогольная болезнь – 3 случая; хронический вирусный гепатит «С», ВИЧ, героиновая наркомания – 3 случая, сахарный диабет – 1 случай.

Летальность при осложнённых пневмониях составила: при развитии ОРДС – 75% (3 случая из 4), деструкции лёгких – 0% (0 случаев из 2), эмпиемы плевры – 0% (0 случаев из 1).

**Выводы.** Анализ продемонстрировал высокую степень влияния коморбидной патологии на развитие осложнений пневмоний: во всех случаях осложнённого течения пневмонии сопутствующая патология имела место. Полученные данные анализа будут использоваться нами: с целью изначальной оценки рисков развития осложнений, с целью оценки прогноза течения заболевания, с целью рационализации антибактериальной терапии (у пациентов из группы риска – назначение антибактериальных препаратов более широкого спектра действия, либо препаратов резерва).





## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### Список литературы

1. Клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике тяжелой внебольничной пневмонии у взрослых. *Consilium Medicum*. 2015; 3: 8-37
2. Воробьев П.А. Прерывистый плазмаферез в нефрологической практике / П.А. Воробьев // Материалы I конференции Московского общества гемафереза. М., 1993. -С.112-117.
3. Ветров В.В. Синдром эндогенной интоксикации / В.В. Ветров // Эфферентная терапия. 2001. – № 1. – С. 12-19.
4. Mammen E.F. Perspectives for the future / E.F. Mammen // *Intensive Care Med*. 1993. – Vol. 19, (Suppl 1). – P. S29-S34.



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## МОДЕЛИРОВАНИЕ СВОЙСТВ ДИНАМИЧЕСКОГО ФИКСАТОРА В ПРОЦЕССЕ КОНСОЛИДАЦИИ ПЕРЕЛОМОВ БЕДРЕННОЙ КОСТИ

И.М. Щербаков, И.А. Кузькин

*ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины, Травматологическое отделение КБ № 123*

**Цель исследования:** определить свойства динамического фиксатора в процессе консолидации перелома.

**Объект и методика исследования.** В настоящем исследовании проводилось изучение объемной модели чрезвертельного перелома бедренной кости, фиксированного динамическим фиксатором Targon PF, с использованием метода конечных элементов. Измеряемыми параметрами являлись величина и направление смещения элементов системы, величина давления в зоне контакта отломков и распределение напряжений von Mises в области металлофиксаторов в зависимости от погружения динамического винта относительно втулки фиксатора.

**Результаты.** Полученные данные показали, что в процессе сращения перелома и укорочения оси шейки бедренной кости на 10 мм стабильность системы «кость-металлофиксатор» возрастает, на что указывает уменьшение деформации системы под нагрузкой на 16,8%, уменьшение напряжения в элементах фиксатора на 20,2% и снижение давление в зоне контакта отломков на 19,8%.

**Вывод.** В процессе консолидации перелома бедренной кости происходят изменения свойств динамического фиксатора в виде повышение его стабильности, уменьшения напряжения в его элементах, что сопровождается снижением давления в зоне контакта отломков и может создать благоприятные условия для завершения консолидации перелома.

### Список литературы

1. Александров, А.В. Сопротивление материалов: учебник для вузов/ А.В. Александров, В.Д. Потапов, Б.П. Державин. – М.: Высш. шк., 2009. – 560 с.
2. Анурьев, В.И. Справочник конструктора-машиностроителя в 3 т./В.И.Анурьев. – М.: Машиностроение, 2001. – 864с.
3. Гланц, С. Медико-биологическая статистика/пер. с англ. – М., Практика, 1998. – 459 с.
4. Bowman, K.F. A clinically relevant review of hip biomechanics / K.F.Bowman, Jr.J.Fox., J.K.Sekiya // Arthroscopy. — 2010. — Vol.26, №8. — P.1118 - 1129
5. Clinical results of trochanteric fractures treated with the TARGON® proximal femur intramedullary nailing fixation system / Y.Kawatani, K.Nishida, Y.Anraku at al. // Injury. - 2011. - Vol.42, №4. - P.22 - 27
6. Ct-based finite element models can be used to estimate experimentally measured failure loads in the proximal femur / J.E.Koivumäki, J.Thevenot, P.Pulkinen at al. // Bone. - 2012. - Vol.50, №4. – P.824 - 829



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

7. Finite element analysis and CT-based structural rigidity analysis to assess failure load in bones with simulated lytic defects / L.Anez-Bustillos, L.C.Derikx, N.Verdonschot et al. // *Bone*. - 2014. - Vol.58. - P.160-167
8. Finite element analysis of four different implants inserted in different positions to stabilize an idealized trochanteric femoral fracture / P.Helwig, G.Faust, U.Hindenlang et al. // *Injury*. — 2009. — Vol.40, №3. — P.288 - 295
9. Goffin, J.M. A computational study on the effect of fracture intrusion distance in three- and four-part trochanteric fractures treated with Gamma nail and sliding hip screw / J.M.Goffin, P.Pankaj, A.H.Simpson // *J. Orthop. Res.* — 2014. — Vol.32, №1. — P.39 - 45
10. Goffin, J.M. Are plasticity models required to predict relative risk of lag screw cut-out in finite element models of trochanteric fracture fixation? / J.M.Goffin, P.Pankaj, A.H.Simpson // *J. Biomech.* - 2014. - Vol.47, №3. - P.323 - 328
11. Hambli, R. A quasi-brittle continuum damage finite element model of the human proximal femur based on element deletion / R.Hambli // *Med. Biol. Eng. Comput.* - 2013. - Vol.51, №1-2. - P.219 – 231
12. Prevention of excessive medialisation of trochanteric fracture by a buttress screw: a novel method and finite element analysis / B.Mahaisavariya, N.Chantarapanich, K.Riansuwan, K.Sitthiseriratip // *J. Med. Assoc. Thai.* - 2014. - Vol.97, №9. - P.127 - 132
13. Shih, K.S. A biomechanical investigation of the effects of static fixation and dynamization after interlocking femoral nailing: a finite element study / K.S.Shih, C.C.Hsu, T.P.Hsu // *J. Trauma Acute Care Surg.* - 2012. - Vol.72, №2. - P.46 - 53
14. Type of hip fracture determines load share in intramedullary osteosynthesis / S.Eberle, C.Gerber., G.von Oldenburg et al. // *Clin. Orthop. Relat. Res.* — 2009. — Vol.467, №8. — P.1972 - 1980.
15. van den Munckhof, S. How accurately can we predict the fracture load of the proximal femur using finite element models? / S.van den Munckhof, A.A.Zadpoor // *Clin. Biomech. (Bristol, Avon)*. - 2014. - Vol.29, №4. - P.373 - 380



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ НА СОДЕРЖАНИЕ КАТЕХОЛАМИНОВ В НАДПОЧЕЧНИКАХ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС

А.Д. Щербицкая

*Лаборатория сравнительной физиологии и патологии центральной нервной системы, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук (ИЭФБ РАН)*

Внутриутробный период развития организма – это время, когда формируются системы, определяющие становление механизмов приспособления к условиям внеутробной жизни. Огромное влияние на процесс адаптации к постнатальной жизни оказывает симпатoadrenalовая система, состояние которой отражают её медиаторы и гормоны. К основным патологическим факторам, способным нарушать механизмы саморегуляции и вызывать стойкие отдаленные последствия, относится пренатальная гипоксия. В связи с этим, значительный интерес представляет изучить влияние внутриутробной гипоксии на содержание катехоламинов у крыс в раннем онтогенезе, что стало целью данного исследования.

Состояние гипоксии плода было смоделировано путем трехчасового воздействия на беременных самок крыс линии Вистар (14-й день беременности) нормобарической гипоксии (в камере емкостью 100 литров, концентрация  $O_2$  – 7%). У родившихся крысят забирали кровь на 5-й, 10-й, 20-й и 30-й день жизни для определения концентрации катехоламинов с помощью иммуноферментного анализа, а также были выделены надпочечники, в которых проводили анализ содержания норадреналина (НА) и адреналина (АД) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Показано, что пренатальная гипоксия приводит к достоверному снижению содержания НА и АД в надпочечниках крысят 5-го дня жизни, которое может быть результатом усиленной секреции катехоламинов в кровь, что также обнаружено в нашем исследовании при анализе сыворотки. Начиная с 10-го дня жизни у животных, перенесших пренатальную гипоксию отмечается нормализация уровня НА в надпочечниках и крови, однако у этих животных в возрасте 10, 20 и 30-ти дней жизни выявлено снижение АД в надпочечниках при достоверно не изменяющихся показателях в крови. Возможно, это связано с повышенной активностью в надпочечниках ферментов, осуществляющих метаболическую инактивацию катехоламинов.

Таким образом, пренатальная гипоксия оказывает существенное негативное влияние на развивающийся организм в период эмбриогенеза, вызывая изменения содержания и нарушения метаболизма катехоламинов в надпочечниках и плазме крови крысят различного возраста.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ ПАЦИЕНТОВ С ПЕРЕЛОМАМИ ПРОКСИМАЛЬНОГО ОТДЕЛА БЕДРЕННОЙ КОСТИ

А.В. Юдин

ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Травматологическое отделение  
КБ № 123

**Цель исследования:** создание эффективной концепции раннего оперативного лечения пациентов с переломами проксимального отдела бедренной кости.

**Материалы и методы.** Исследование построено на анализе лечения 259 пациентов с различными переломами проксимального отдела бедренной кости, проходивших лечение с 2008 по 2014 гг. в травматологическом отделении КБ № 123 которым было проведено оперативное лечение с использованием разнообразных оперативных методик. Средний возраст пациентов (женщин 182 70,2%, мужчин 77 29,8%) составил 72 года (от 29 до 91) лет.

**Результаты.** Результаты лечения в течение 1 года после операции были оценены у 245 пациентов (остальные больные выбыли из-под контроля ввиду смены места жительства, смерти и др. и были исключены из исследования).

Из полученных осложнений наиболее частым (51 наблюдений – 19,7% от всех наблюдений) оказался аваскулярный некроз головки бедра (при переломах шейки бедренной кости). Данным пациентам рекомендовалось плановое эндопротезирование тазобедренного сустава. В 41-ом наблюдении зафиксирована миграция фиксаторов с появлением выраженного болевого синдрома, при этом консолидация перелома не произошла. После удаления фиксаторов болевой синдром значительно регрессировал, однако сохранялись функциональные нарушения конечности, сохранялся болевой синдром, в связи с чем данным пациентам рекомендовалось проведение эндопротезирования сустава.

**Обсуждение.** Полученные результаты позволяют заключить, что основная проблема переломов проксимального отдела бедренной кости – несращение переломов шейки бедренной кости. Метод деротационного динамического остеосинтеза переломов шейки бедренной кости с использованием системы Targon FN является высокоэффективным методом, позволяет добиться правильного положения отломков, их стабильной фиксации без широкого доступа, однако он не является альтернативой эндопротезированию тазобедренного сустава – “золотому стандарту” хирургического лечения переломов шейки бедренной кости.

**Выводы.** Раннее малоинвазивное оперативное вмешательство позволяет более точно репонировать отломки, провести их прочную фиксацию и, благодаря этому, раньше начать функциональное лечение, что снижает риски гипостатических и тромбозных осложнений.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### Список литературы

1. Лазарев А.Ф., Солод Э.И., Рагозин А.О. и др. Лечение переломов проксимального отдела бедренной кости на фоне остеопороза // Вестник травматологии и ортопедии. — 2004. — №4. — С. 27-31.
2. Карев Д.Б., Карев Б.А., Болтрукевич С.И. и др. Ошибки и осложнения в лечении пациентов с медиальными переломами бедренной кости // Вестник Витебского ГМУ. — 2009. — Т. 8. №1. — С. 39-44.
3. Гильфанов С.И., Ключевский В.В., Даниляк В.В. Внутренний остеосинтез вертельных переломов // Травматология и ортопедия России. — 2009. — №1 (51). — С. 86-90
4. Руденко Э. В., Буглова А. Е., Руденко Е. В., Самоховец О. Ю. Медикаментозное лечение остеопороза у взрослых. Учебно-методическое пособие, Минск: БелМАПО, 2011 — 22 с
5. Kannan A, Kancherla R, McMahon S, Hawdon G, Soral A, Malhotra R. (2012) Arthroplasty options in femoral-neck fracture: answers from the national registries. Int Orthop 36:1–8
6. Schnependahl J, Grassmann JP, Petrov V, Böttner F, Körbl B, Hakimi M, Betsch M, Windolf J, Wild M (2012) Decreasing mortality after femoral neck fracture treated with bipolar hemiarthroplasty
7. Parker MJ, Stedtfeld H (2010) Internal fixation of intracapsular hip fractures with a dynamic locking plate; initial experience and results for 83 patients treated with a new implant. Injury 41:348–351
8. Körver RJ, Wieland AW, Kaarsemaker S, Nieuwenhuis JJ, Janzing HM (2013) Clinical experience, primary results and pitfalls in the treatment of intracapsular hip fractures with the Targon® FN locking plate.
9. Pauwels F (1976) Biomechanics of the normal and diseased hip. Springer, New York



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ПОЧЕЧНОЙ РЕАБСОРБЦИИ ГЛЮКОЗЫ И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ИНГИБИТОРАМИ НАТРИЙ- ГЛЮКОЗНОГО КОТРАНСПОРТЕРА 2 ТИПА (SGLT2) МЕТОДАМИ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

Т. Яковлева, К. Жуденков, В. Соколов

Компания M&S Decisions, Москва

С учётом недиагностированных форм распространённость сахарного диабета (СД) может достигать 6% человеческой популяции, что соответствует, примерно, 230 миллионам человек. Наиболее распространён диабет второго типа: 85–90% от всех типов СД. Одним из современных и эффективных методов лечения СД 2 типа является ингибирование реабсорбции глюкозы в почках, что ведет к увеличению её выведения с мочой и, соответственно, опосредованному снижению концентрации глюкозы в крови.

Реабсорбция глюкозы осуществляется двумя транспортерами семейства натрий-глюкозных котранспортеров первого (SGLT1) и второго типа (SGLT2). Транспортеры находятся в разных сегментах проксимального канальца и отличаются по способности к реабсорбции глюкозы. На основе *in vitro* экспериментов было показано, что SGLT2, обеспечивает 80-90% всей реабсорбции, в то время как SGLT1 отвечает за реабсорбцию оставшихся 10%. Несколько препаратов из класса глифлозинов – пероральных ингибиторов SGLT2 – в последние годы были одобрены для применения в США и Европе. Однако, как свидетельствуют результаты клинических исследований, не смотря на высокую степень ингибирования SGLT2, достигается снижение реабсорбции глюкозы только на 30–50% вместо ожидаемых 80–90%. Существует ряд возможных объяснений несоответствия экспериментальных и ожидаемых результатов. Наиболее вероятные причины:

Концентрация препаратов в просвете почечных проксимальных канальцев недостаточна для полного ингибирования работы SGLT2;

Вклад SGLT2 в условиях *in vivo* составляет менее 80–90%;

При ингибировании SGLT2 включается компенсаторный механизм приводящий к усилению реабсорбции глюкозы через SGLT1.

Для проверки был использован метод математического моделирования физиологических систем организма. Системная математическая модель (QSP – quantitative systems pharmacology) была создана для изучения механизма реабсорбции глюкозы и объяснения недостаточной по сравнению с ожидаемой эффективности лечения препаратами класса глифлозинов. QSP модель представляет собой систему обыкновенных дифференциальных уравнений, описывающих фармакокинетику препаратов, распределение глифлозинов и глюкозы в крови и почечных канальцах, а также экскрецию с мочой. Действие препаратов было описано уравнением конкурентного ингибирования с соответствующими IC50 для SGLT2 и SGLT1. Параметры модели были определены на базе опубликованных экспериментальных данных клинических исследований глифлозинов. Модель была создана с помощью программного обеспечения IQM software (<http://www.intiquan.com/>).



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

QSP модель адекватно описывает экспериментальные данные о 24-часовой экскреции глюкозы для здоровых добровольцев при применении трех одобренных препаратов класса глифлозинов – Дапаглифлозином, Канаглифлозином и Эмпаглифлозином. Максимальный вклад для SGLT2 в условиях полного насыщения по глюкозе был оценен в 87%, что близко соотносится с предсказаниями *in vitro* экспериментов. Вклад SGLT2 *in vivo* составил 77%.

Наблюдаемые уровни экскреции глюкозы с мочой зависят от концентрации препаратов в проксимальных канальцах и соответствующих IC50 для SGLT2/SGLT1. Согласно проведенным расчетам, при лечении препаратами класса глифлозинов в рекомендованных дозах, 35% глюкозы продолжает реабсорбироваться посредством SGLT2. Что позволяет сделать вывод, что все три выше сформулированных эффекта вносят вклад в наблюдаемые *in vivo* величины и соотношения реабсорбции глюкозы при применении глифлозинов.

Таким образом, использование математического моделирования для описания процесса реабсорбции глюкозы в почечных канальцах позволило оценить вклад каждого из транспортеров SGLT1/SGLT2 в реабсорбцию глюкозы *in vivo* и объяснить кажущееся несоответствие ожидаемых результатов и данных клинических исследований для трех препаратов класса глифлозинов.

### Список литературы

1. Lu Y, Griffen SC, Boulton DW, Leil TA. Use of systems pharmacology modeling to elucidate the operating characteristics of SGLT1 and SGLT2 in renal glucose reabsorption in humans. *Front Pharmacol.* 2014 Dec 10;5:274.
2. Hummel CS, Lu C, Loo DD, Hirayama BA. Glucose transport by human renal Na<sup>+</sup>/D-glucose cotransporters SGLT1 and SGLT2. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2011 Jan;300(1):C14-21.
3. DeFronzo R.A., Davidson J.A., Del Prato S. The role of the kidneys in glucose homeostasis: a new path towards normalizing glycaemia. *DiabetesObes. Metab.* 14, 5–14.





## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

### ВЛИЯНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ И МЕХАНОРЕЦЕПТОРНЫХ СВОЙСТВ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ПАРАМЕТРЫ СИНТЕТИЧЕСКИХ МАТРИКСОВ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

И.Д. Клабуков<sup>1,2</sup>, Т.Г. Дюжева<sup>2</sup>, А.В. Люндуп<sup>2</sup>, Т.Х. Тенчурин<sup>3</sup>, А.Д. Шепелев<sup>3</sup>,  
В.Г. Мамагулашвили<sup>3</sup>, С.Н. Чвалун<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА

<sup>2</sup>Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ

<sup>3</sup>НИЦ «Курчатовский институт»

**Актуальность.** Использование биоразлагаемых полимерных эндопротезов особенно актуально в абдоминальной хирургии при повреждении желчных протоков, для которых методы тканевой инженерии и использование биodeградируемых материалов представляет малоизученную область [1]. Характеристики таких тканеинженерных конструкций связаны как с биохимическим сигналингом, так и с механорецепторными свойствами поверхности. Клеточная механотрансдукция позволяет воспринимать и переводить внешнее механическое воздействие в биохимические сигналы, влияющие на внутриклеточные процессы [2]. Таким образом, физико-механические свойства материалов способны непосредственно влиять на внутриклеточные процессы, регулирующие миграцию, пролиферацию, дифференцировку и метаболизм, а химический состав матрикса – на параметры биodeградации и межклеточной коммуникации [4].

Одним из проявлений данного свойства является влияние состава и физических размеров полимерных материалов и конструкций, создаваемых методами электроспиннинга, на пролиферацию и дифференцировку клеток для тканевой инженерии [4]. Например, в отношении фибробластов кожи человека наибольшая пролиферация и экспрессия тканеспецифичных генов была получена для диаметра волокон фиброина в диапазонах 250–300 нм [5], а для волокон поливинилацетата оптимальный диапазон составил 300–700 нм. Отмечается, что параметры волокон оказывают различающееся влияние на различные типы клеток, например кератиноциты более чувствительны к свойствам поверхности, чем фибробласты [6], при этом на клетки оказывает влияние не только диаметр волокон, но и их направление (хаотичное/выровненное), характеристики материала и размеры пор [7]. С другой стороны, в работе Сытиной Е.В. и соавт. (2014) было показано, что для обеспечения высокого уровня пролиферации фибробластов и их проникновения в толщу полимерного матрикса минимально достаточные значения диаметра волокон составляют 2–3 мкм, а размер пор материала ~20 мкм. Результаты были получены на различных материалах, включая ацетат целлюлозы, поликапролактон, смесь поликапролактона с поливинилпирролидоном, поли-L-лактид, поли-D-L-лактид, хитозан и фторопласт Ф-42В [8]. При этом диаметр волокон нативного внеклеточного матрикса органов и тканей человека, как правило, составляет 260–410 нм [9].

Механочувствительность клеток и восприятие ими механического воздействия в равной степени относится как к животным клеткам, так и бактериям. Показано, что в отношении



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

морфологически удлинённых клеток (*E. coli* и *P. aeruginosa*) оптимальным для роста являлся диаметр волокнистого материала порядка 1 мкм, а переход к нано-размерам приводил к снижению способности пролиферации. В то же время для стафилококков *S. aureus* оптимальными оказывались нано-размеры [10]. Возможности вариации антибактериальных характеристик матрикса непосредственно связывают физико-химические свойства материалов с проблемой ограничения роста патогенной микробиоты и предотвращения развития послеоперационных осложнений.

Целью настоящей работы был выбор и обоснование использования биodeградируемых материалов для изготовления тканеинженерных конструкций желчного протока.

**Материалы и методы.** Методами электроспиннинга были изготовлены экспериментальные образцы биосовместимого каркаса для формирования тканеинженерной конструкции желчного протока с использованием четырех полимеров: поликапролактона (ПКЛ), сополимера D,L-лактида с гликолидом состава 75:25 (ПДЛГА), сополимер L-лактида с  $\epsilon$ -капролактоном состава 70:30 (ПЛК), диацетата целлюлозы (ДАЦ). Образцы представляли собой не расслаивающиеся двухслойные конструкции, обладающие непроницаемым для желчи слоем. Первый, внутренний слой изготавливали из ПКЛ, и его характеристики были одинаковы для всех образцов. Экспериментальные образцы изготовлены в количестве 55 шт., длиной 35 мм, внутренним диаметром 4,3 мм и толщиной стенки 0,5 мм. Определение оптимальных образцов проводили на основании результатов экспериментов по МТТ-тестированию с двумя стандартизованными линиями клеток стромального и эпителиального происхождения. Испытание кинетики биodeградации экспериментальных образцов биосовместимого каркаса проводилось в различных средах: воде, фосфатном буфере, реактиве Фентона, питательной культуральной среде с сывороткой и без нее, а также в присутствии эукариотических клеток.

**Результаты.** Проведенные исследования по биodeградации экспериментальных образцов биосовместимого каркаса в различных средах, особенно в желчи, проведенные согласно разработанным Протоколам биodeградации биосовместимого каркаса, показали целесообразность дальнейшего использования в качестве материала каркаса ПКЛ, ДАЦ и ПЛК (сохраняют свои конструкционные свойства более 2 недель). Время биodeградации образцов из ПДЛГА составило менее 14 суток, что не позволяет использовать данный материал для создания каркаса тканеинженерной конструкции желчного протока ввиду рисков пролива желчи в брюшную полость и развития желчного перитонита. Возникающее при пассаже желчи гидродинамическое давление составляет от 80–140 мм вод. ст. в норме, а при различных патологиях может возрасти до 300 мм вод. ст. и привести к дискинезии или разрушить слишком рано деградировавшую конструкцию [11]. Ранее в экспериментальных работах на животных было установлено, что биомеханические свойства желчных протоков мини-свиней возрастом от 7 до 10 месяцев наиболее близки к соответствующим параметрам протока у человека [12]. При реконструкции внепеченочного протока мини-свиней с использованием коллагенового матрикса, функционализированного rhFGF, образование полного монослоя SK19<sup>+</sup>-эпителиоцитов фиксировалось спустя 8 недель после проведения операции [13]. Использование биodeградируемого сополимера ПКЛ и полимолочной кислоты (50:50), армированного волокнами полигликолевой кислоты, при реконструкции



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

желчного протока потребовало 6 мес. для регенерации эпителия в случае полноценного протеза [14] и 4 мес. при использовании заплатки размерами 20 мм × 10 мм [15].

**Выводы.** Создание искусственного матрикса для разных типов клеток представляет собой сложную задачу, связанную с подбором нетоксичных полимеров, выбором метода формирования материала, оценкой матриксных свойств каркаса и биологического эффекта заселенной клеточно-инженерной конструкции. Заключительные выводы о целесообразности использования того или иного полимера могут быть сделаны только после исследований роста клеток на каркасах, изготовленных из материала определенным способом (параметры электроспиннинга влияют на морфологию материала), и исследований в модельных средах, а также *in vivo*. Продолжение работы с нетканым волокнистым материалом из ПДЛГА нецелесообразно. Полученные данные для нетканого волокнистого материала из ДАЦ требуют дальнейшего обсуждения. Нетканый материал из ПКЛ подходит для изготовления внутреннего слоя в матриксах желчных протоков. Нетканый материал из ПЛК по своим свойствам может быть использован для изготовления наружного слоя.

*Настоящая работа выполнена при поддержке соглашения о субсидии №14.604.21.0133 Минобрнауки РФ (уникальный идентификатор RFMEFI60414X0133).*

### Список литературы

1. Дюжева Т.Г., Савицкая Е.Е., Котовский А.Е., Батин М.А. Биodeградируемые материалы и методы тканевой инженерии в хирургии желчных протоков //Анналы хирургической гепатологии. – 2012. – Т. 17. – №. 1. – С. 94-99.
2. Godin L.M. et al. Mechanically induced intracellular calcium waves in osteoblasts demonstrate calcium fingerprints in bone cell mechanotransduction //Biomechanics and modeling in mechanobiology. – 2007. – Т. 6. – №. 6. – С. 391-398.
3. Luo T. et al. Molecular mechanisms of cellular mechanosensing //Nature materials. – 2013. – Т. 12. – №. 11. – С. 1064-1071.
4. Christopherson G.T. et al. The influence of fiber diameter of electrospun substrates on neural stem cell differentiation and proliferation //Biomaterials. – 2009. – Т. 30. – №. 4. – С. 556-564.
5. Hodgkinson T., Yuan X. F., Bayat A. Electrospun silk fibroin fiber diameter influences *in vitro* dermal fibroblast behavior and promotes healing of *ex vivo* wound models //Journal of tissue engineering. – 2014. – Т. 5. – С. 1–13.
6. Pelipenko J., Kocbek P., Kristl J. Nanofiber diameter as a critical parameter affecting skin cell response //European Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2015. – Т. 66. – С. 29-35.
7. Whited B.M., Rylander M.N. The influence of electrospun scaffold topography on endothelial cell morphology, alignment, and adhesion in response to fluid flow //Biotechnology and bioengineering. – 2014. – Т. 111. – №. 1. – С. 184-195.
8. Сытина Е.В. и др. Сравнительная оценка биосовместимости полимерных матриксов, полученных путем электроформования, и их использование для создания объемных дермальных эквивалентов //Молекулярная медицина. – 2014. – №6. – С.38-47.
9. Bettinger C. J. et al. Engineering substrate topography at the micro-and nanoscale to control cell function //Angew Chem Int Ed. – 2009. – Т. 48. – №. 30. – С. 5406-5415.



## НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

*19–20 апреля 2016*

10. Abrigo M., Kingshott P., McArthur S. L. Electrospun Polystyrene Fiber Diameter Influencing Bacterial Attachment, Proliferation, and Growth //ACS applied materials & interfaces. – 2015. – Т. 7. – №. 14. – С. 7644-7652.
11. Hallenbeck G. A. Biliary and pancreatic intraductal pressures //Handbook of Physiology, Alimentary Canal, Secretion. – 1967. – С. 1007-1025.
12. Li W. C. et al. Comparison of biomechanical properties of bile duct between pigs and humans for liver xenotransplant //Transplantation proceedings. – Т. 45. – №. 2. – С. 741-747.
13. Li Q. et al. Extrahepatic bile duct regeneration in pigs using collagen scaffolds loaded with human collagen-binding bFGF //Biomaterials. – 2012. – Т. 33. – №. 17. – С. 4298-4308.
14. Miyazawa M. et al. A Tissue-Engineered Artificial Bile Duct Grown to Resemble The Native Bile Duct //American journal of transplantation. – 2005. – Т. 5. – №. 6. – С.1541-1547.
15. Aikawa M. et al. A novel treatment for bile duct injury with a tissue-engineered bioabsorbable polymer patch //Surgery. – 2010. – Т. 147. – №. 4. – С. 575-580.



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНКЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

## АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Абдулхаков Р.А. 148  
Абдулхаков С.Р. 148  
Аверьянов А.В. 148  
Акопов Д.Ю. 11  
Акопова И.Л. 13  
Акулов Е.С. 158  
Алексеев Д.Г. 62, 103,  
135, 155  
Алешин В. 15  
Алешкин Г.И. 132  
Алтухов И.А. 134  
Андреева Ю. 62  
Анисимова Е.А. 17  
Ануфриева К. 99  
Аралов А. 142  
Арапиди Г.П. 19, 48, 107  
Ахатова Д.Р. 17  
Ахатова Ф.С. 145  
Бабалян К.А. 19, 48, 76, 99  
Бабенко В.В. 26, 39, 78  
Багров Д.В. 105  
Баженов Д.О. 95  
Байкова Ю.П. 29  
Балашов Д.Н. 26  
Баранова Е.А. 21  
Белова О.В. 72  
Белякова К.Л. 95  
Бениаминов А.Д. 111  
Бессолицына Е.К. 21  
Бобровский П.А. 23  
Бобрынина В.О. 26  
Бойкова Ю.П. 45  
Болдырева Д.И. 24  
Бонарцев А.П. 105  
Бриллиантова В.В. 26  
Бровкина О.И. 27, 146  
Бруслик Н.Л. 17  
Букато О.Н. 29  
Булыгина Е.А. 148  
Буник В.И. 15, 89  
Бутенко И.О. 134  
Бутрович Г.М. 31  
Бутусова Т. 99  
Валялин А.А. 34  
Варижук А. 144  
Васина Д.А. 34  
Вахитова М.Т. 37  
Ведин В.А. 68  
Власенко А.Ю. 39, 42  
Власенок М. 42  
Вовк А.И. 89  
Войнова И.В. 42  
Волчков С.Е. 144  
Вострюхина О.А. 32  
Галимзянова Р.Ю. 153  
Гаранина И.А. 43  
Гаязова Э.И. 145  
Генерозов Э.В. 19, 48, 78  
Глуценко О.Е. 153  
Говорун В.М. 31, 45, 50,  
108  
Гоголев Ю.В. 132  
Гончаренко А.В. 57  
Гордиев М.Г. 27, 146  
Горина А.И. 145, 132  
Городничев Р.Б. 45  
Горчаков А.А. 74  
Гревцева А.С. 48  
Гречкин А.Н. 134  
Григорьева Т.В. 148  
Гришин А.Ю. 19, 48  
Гусев О.А. 27  
Даниленко С. 99  
Демченко И.А. 52  
Дмитриев А.А. 111  
Дырхеева Н.С. 52  
Дюжева Т.Г. 167  
Евсютина Д.В. 43, 55  
Еникеев Р.Ф. 27  
Ермакова Е.А. 23  
Жаркова И.И. 107  
Жданов Д.Д. 34  
Жуденков К. 163  
Завалишина Л. 62  
Залетаев Д. 64  
Замахаев М.В. 57  
Зимица И.В. 72  
Иванова О.М. 107  
Иксанова А.Г. 119  
Ильина Е.Н. 46, 138  
Иноземцев А.Н. 72  
Исаакова Е. 60  
Исмагилова Р.К. 17  
Ищенко Д.С. 153  
Калинина Д.С. 60  
Каныгина А. 62  
Капранов Ф.В. 107  
Кекеева Т. 62  
Клабуков И.Д. 167  
Клинов Д.В. 105, 151  
Кобрицов Г.П. 64  
Козлов С.О. 136  
Колачева А.А. 126  
Костевич В.А. 39, 42, 66,  
135  
Кострюкова Е.С. 101, 136  
Кошкин С.А. 119  
Краснов Г.С. 111  
Круглова Е.В. 68  
Крынский С.А. 70  
Крючкова А.В. 72  
Кубланов И.В. 134  
Кузнецова В.В. 74  
Кузькин И.А. 160  
Кулемзин С.В. 74  
Кулемин Н.А. 76  
Курдюмов А.С. 78  
Куревлев С.В. 111  
Курникова Е.Е. 27  
Кэне Т. 15  
Лаврик О.И. 52  
Ладыгина В.Г. 29  
Лакша Е.Ю. 81  
Ларин А.К. 23  
Леонова Л.Г. 83  
Летуновский Н.Н. 146  
Ловать М.Л. 109  
Логинова Н.А. 72  
Луканидина Т.А. 72  
Лычева Н.А. 83  
Людуп А.В. 167  
Максимов Д.И. 87  
Маланин С.Ю. 148  
Малахова М.В. 136  
Мамагулашвили В.Г. 167  
Манолов А.И. 153  
Манувера В.А. 55, 79  
Маркелова М.И. 148  
Марков А.П. 130  
Мартиросова С.А. 89  
Масчан М.А. 26  
Матюшкина Д.С. 29  
Меженская О.А. 15, 89  
Мингазов Э.Р. 93  
Мингалева Р.Н. 113  
Мирзаев Ф.Б. 95  
Мирлина Е.Д. 31  
Митькин Н.А. 108  
Мифтахова Р.Р. 113  
Михайлова В.А. 95  
Михайлова Е.А. 95  
Москвина С.Н. 74  
Музыка О.В. 89  
Наумова М.А. 99  
Никитин А.Г. 29, 146  
Никитина А. 99  
Овчинников П.А. 144  
Огурцов Д.П. 72  
Одинцова В.Е. 101  
Онищенко Д.Д. 103  
Орлова В.С. 37  
Павлова Е.Р. 105  
Павлович П.В. 107  
Павшинцев В.В. 108  
Панфёрова Ю.А. 138  
Пархоменко Ю.М. 15, 91  
Патрикеев В.А. 68  
Петров Д.А. 109  
Побегуц О.В. 29, 55, 134  
Полина Н.Ф. 24  
Поляков А.В. 26  
Попов В.Б. 140  
Проскурин С.Г. 111  
Пугачёв М.В. 119  
Пузанов Г.А. 111  
Пышная И.А. 156  
Рагозин А.О. 66  
Ракитина Д.В. 29, 45  
Рахматуллина А.Р. 113  
Ризванов А.А. 115  
Розанова М.В. 116, 119  
Сабиров А.Х. 119  
Сакаева Д.Д. 27  
Самойлова А.Н. 124  
Сафандеев В.В. 124  
Сафина Д.Д. 148  
Сейфединова А.Б. 128  
Сельков С.А. 95



# НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ФГБУ ФНЦ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ФМБА

19–20 апреля 2016

Сенченко В.Н. 113	Таранин А.В. 76	Хуснутдинова Д.Р. 148	Шумков М.С. 58
Сидоров Д.И. 130	Тенчурин Т.Х. 167	Чвалун С.Н. 167	Щербаков И.М. 158
Синягина М.Н. 148	Ткаченко К.Г. 140	Чернов В.М. 150	Щербаков П.Л. 45
Смелкова О.И. 130	Тойменцева А.А. 17	Черныш М.А. 62	Щербицкая А.Д. 162
Смирнова Е.О. 132	Топоркова Я.Ю. 21, 132	Шайбакова И.Д. 150	Эрлих А.Д. 142
Смоляков А.В. 134	Трахтман П.Е. 26	Шакирова Ю.Д. 151	Юдин А.В. 163
Соколов А.В. 39, 43, 68, 135	Тураев А. 142	Шарова Е. 99	Яковлева Т. 163
Соколов В. 165	Тюмина О.В. 144	Шахматов И.И. 85	Яруллина Д.Р. 17
Соколов Д.И. 97	Тягт А.В. 101	Шашкова В.В. 155	Beard W.A. 52
Соколов Н.Н. 34	Фахруллин Р.Ф. 146	Шашкова Т.И. 153	Çağlayan M. 52
Сотникова Е.А. 136	Фахруллина Г.И. 145	Шепелев А.Д. 167	Cuneo M.J. 52
Степанов О.А. 105	Фисунов Г.Ю. 43, 57	Шеховцова Л.Н. 26	Freudenthal B.D. 52
Стрекаловский И.В. 138	Франк Г. 62	Шикеева А. 62	Sassa A. 52
Танас А. 62	Хабарова И.Г. 31	Шитиков Е.А. 136	Wilson S.H. 55
Танкевич М. 142	Ходырев Д.С. 27, 146	Штырлин Ю.Г. 122	
	Хомяков Ю.Н. 70	Шубина Е.С. 156	

---

## ОГЛАВЛЕНИЕ

	<i>стр.</i>
Приветствие	1
Программа конференции	
19 апреля	3
20 апреля	7
Научные труды	11
Авторский указатель	171