



СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ В КЛЕТОЧНОЙ БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

Сборник трудов
Всероссийской конференции
г. Орёл, 16-17 ноября 2023 года

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «ОРЛОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ И.С. ТУРГЕНЕВА»
НАУЧНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР БИОМЕДИЦИНСКОЙ ФОТОНИКИ
ЛАБОРАТОРИЯ КЛЕТОЧНОЙ ФИЗИОЛОГИИ И ПАТОЛОГИИ

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ В КЛЕТОЧНОЙ БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

Сборник трудов
Всероссийской конференции
г. Орёл, 16-17 ноября 2023 года

Орёл
ОГУ имени И.С. Тургенева
2023

УДК 535+576

C56

Редакционная коллегия:

А.Ю. Абрамов – зав. лабораторией клеточной физиологии и патологии
НТЦ биомедицинской фотоники ОГУ имени И.С. Тургенева, д-р биол. наук (со-пред.);

А.В. Дунаев – вед. науч. сотр. НТЦ биомедицинской фотоники
ОГУ имени И.С. Тургенева, д-р техн. наук (со-пред.);

Е.В. Потапова – ст. науч. сотр. НТЦ биомедицинской фотоники ОГУ имени И.С. Тургенева,
канд. техн. наук (член редкол.);

А.Ю. Винокуров – ст. науч. сотр. лаборатории клеточной физиологии и патологии
НТЦ биомедицинской фотоники ОГУ имени И.С. Тургенева, канд. техн. наук (член редкол.);

Е.О. Брянская – инженер отдела организационного сопровождения НИР,
стажёр-исследователь НТЦ биомедицинской фотоники ОГУ имени И.С. Тургенева
(член редкол.);

К.Ю. Кандурова – стажёр-исследователь НТЦ биомедицинской фотоники
ОГУ имени И.С. Тургенева (секр.)

C56 Современные методы исследования в клеточной биологии и медицине: сборник трудов Всероссийской конференции, г. Орёл, 16-17 ноября 2023 года / Министерство науки и высшего образования Российской Федерации, ОГУ имени И.С. Тургенева ; редкол. : А.Ю. Абрамов [и др.]. – г. Орёл : ОГУ имени И.С. Тургенева, 2023. – с. 57. – 500 экз. – ISBN 978-5-9929-1435-1. – Текст: непосредственный.

Представлены работы (тезисы докладов) участников Всероссийской конференции «Современные методы исследования в клеточной биологии и медицине», доложенные в рамках конференции. Исследования докладчиков охватывают широкий круг теоретических и прикладных вопросов применения методов биофотоники в медико-биологической практике, а также исследования физиологических процессов в клеточных культурах и тканях.

Предназначены научным работникам, занимающимся исследованиями в области естественных, медицинских и технических наук. Могут использоваться преподавателями, специализирующимися в области оптики, биомедицинской фотоники, клеточной физиологии и патологии, а также студентам и аспирантам, обучающимся по направлениям подготовки, связанным с данными научными областями.

СОДЕРЖАНИЕ

СЕКЦИЯ 1

ИССЛЕДОВАНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ И ТКАНЯХ

***IN VITRO* ИССЛЕДОВАНИЯ МЕХАНИЗМА ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА «КОНФУМИН» В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК В СОСТОЯНИИ ГИПОКСИИ**

**БЕЛЯКОВ Д.Ю., ПОПОВ Д.Ю., ЗАКРЖЕВСКАЯ В.Д., ГУСЕЙНОВ Р.Г., СИВАК К.В.,
ПЕРЕПЕЛИЦА В.В., ВИНОКУРОВ А.Ю., ПОПОВ С.В.10**

НАРУШЕНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИНАМИКИ ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ **БЕРЕЖНОВ А.В., ФЕДОТОВА Е.И., КРИЦКАЯ К.А., НАДЕЕВ А.Д.11**

ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССОВ РОСТА И БИОСИНТЕЗА СТЕВИОЛ-ГЛИКОЗИДОВ В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК *STEVIA REBAUDIANA* BERTONI

БОНДАРЕВ Н.И., БОНДАРЕВА Т.А.12

***IN VITRO* ИССЛЕДОВАНИЯ УВЕЛИЧЕНИЯ АВТОФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ФАД КАК СИГНАЛА РАЗВИТИЯ ПАТОЛОГИИ, ПРИВОДЯЩЕЙ К ГИБЕЛИ КЛЕТОК**

БРЯНСКАЯ Е.О., ВИНОКУРОВ А.Ю., ДУНАЕВ А.В., АНГЕЛОВА П.Р., АБРАМОВ А.Ю. .13

АНАЛИЗ КАЧЕСТВЕННЫХ И КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ БИОМАРКЕРОВ ОСТРОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК В ОПРЕДЕЛЕНИИ СТЕПЕНИ ФАРМАКОПРОТЕКЦИИ

**ПОПОВ С.В., ДУНАЕВ А.В., ГУСЕЙНОВ Р.Г., СИВАК К.В., ПОТАПОВА Е.В.,
ВИНОКУРОВ А.Ю., ПЕРЕПЕЛИЦА В.В., БУНЕНКОВ Н.С., ЛЕЛЯВИНА Т.А.14**

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СВОЙСТВ СОЕДИНЕНИЙ ИЗ ГРУППЫ ФОРМАЗАНОВ

ЖЕРЕБЦОВА Е.А., ЧУМАКОВ А.А., ВИНОКУРОВ А.Ю.15

КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ КОМБИНАЦИЙ МУТАЦИЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК НА ПАРАМЕТРЫ СОСТОЯНИЯ КЛЕТОК

КАЗАКОВ М.С., ФЕДОТОВА Е.И., БЕРЕЖНОВ А.В., ВИНОКУРОВ А.Ю.16

ИЗУЧЕНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ СЕТИ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

КРИЦКАЯ К.А., ФЕДОТОВА Е.И., БЕРЕЖНОВ А.В.17

ОЦЕНКА МОРФОЛОГИИ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ СЕТИ КАК МЕТОД ИЗУЧЕНИЯ ПРОЦЕССОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИНАМИКИ <u>КУЗНЕЦОВА Е.А.</u> , БЕЗСОНОВ Е.Е., ВИНОКУРОВ А.Ю.	18
ПРИМЕНЕНИЕ ФОРМАЗАНОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦИНКА В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ <u>КУЗНЕЦОВА Е.А.</u> , УЧАСОВ Д.С.	19
МЕТОДОЛОГИЯ КОЛОКАЛИЗАЦИОННОГО АНАЛИЗА С ПОМОЩЬЮ КОНФОКАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ НА ПРИМЕРЕ МИТОФАГИИ В РАЗЛИЧНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ <u>ПАЛАЛОВ А.А.</u> , МАХМАТЗАМОНОВА А.В., ЗАТОЛОКИНА М.А., ВИНОКУРОВ А.Ю. .	20
ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОПОВ С.В., ДУНАЕВ А.В., ГУСЕЙНОВ Р.Г., СИВАК К.В., ПОТАПОВА Е.В., ВИНОКУРОВ А.Ю., <u>ПЕРЕПЕЛИЦА В.В.</u> , БУНЕНКОВ Н.С., ЛЕЛЯВИНА Т.А.	21
ОЦЕНКА ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ И МЕХАНИЗМА ИЗМЕНЕНИЯ РЕДОКС-БАЛАНСА В КЛЕТКАХ С ПАТОЛОГИЕЙ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ <u>ПОГОНЯЛОВА М.Ю.</u> , ПОПОВ Д.Ю., КАЗАКОВ М.С., ШИТИКОВА Е.Ю., ВИНОКУРОВ А.Ю.	22
ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ РЕЦЕПТОРА RAGE В ПАТОГЕНЕЗЕ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ <u>СЕРЁГИНА Е.С.</u> , КАМЫНИНА А.В., ВИНОКУРОВ А.Ю., АБРАМОВ А.Ю.	23
СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ И АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНОСТИ ИЗОЛИРОВАННЫХ ОСТРОВКОВ ЛАНГЕРГАНСА <u>СЕРЁГИНА Е.С.</u> , ЛОКТИОНОВА Ю.И., ЖАРКИХ Е.В., ДРЁМИН В.В.	24
<i>IN VITRO</i> ИССЛЕДОВАНИЯ ТОКСИЧНОСТИ ФОРМАЗАНОВ РАЗЛИЧНОГО СТРОЕНИЯ В ОТНОШЕНИИ РАКОВЫХ И ЗДОРОВЫХ КЛЕТОК <u>СПИРИДОНОВА А.А.</u> , БОРОВЛЕВА П.И., ВЕТРОВА Е.А., ВИНОКУРОВ А.Ю.	25
ПОИСК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫХ НАПРАВЛЕНИЙ ОТ β-АМИЛОИДНОЙ НЕЙРОТОКСИЧНОСТИ <u>СТЕЛЬМАЩУК О.А.</u>	26
СКРИНИНГ ПРОТОКОЛОВ ВЫДЕЛЕНИЯ НЕЙТРОФИЛОВ ИЗ КОСТНОГО МОЗГА И СЕЛЕЗЕНКИ МЫШИ <u>СУНБУЛИ Х.</u> , АЛЕКСЕЕВА Л.А., МАРКОВ О.В., МИРОНОВА Н.Л.	27

БОЛЕЗНЬ ВИЛЬСОНА-КОНОВАЛОВА В ДЕТСКОМ ВОЗРАСТЕ: ОСОБЕННОСТИ ПАТОФИЗИОЛОГИИ И КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ
ТЕРЕХОВА Ю.Ю., ВАСИНА Т.Н., ГРЕЧИХИНА К.А.28

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ У ДЕТЕЙ ПРИ ДЕФИЦИТЕ АЛЬФА-1-АНТИТРИПСИНА
ТЕРЕХОВА Ю.Ю., ВАСИНА Т.Н., КРОШИНА Л.Ю.29

ОЦЕНКА КЛЕТОЧНЫХ НАРУШЕНИЙ В МОДЕЛЯХ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА
ФЕДОТОВА Е.И., КРИЦКАЯ К.А., БЕРЕЖНОВ А.В.30

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕТЕРОМЕРНЫХ НИКОТИНОВЫХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ (НАХР) НА МОНОЦИТАРНОЙ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ ЧЕЛОВЕКА И ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ИЗ НЕЕ МАКРОФАГАХ
ХОЛОШЕНКО И.В., ШЕЛУХИНА И.В.31

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ СРАВНЕНИЕ ИЗУЧЕНИЯ ГЕПАТОТОКСИЧНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА МОДЕЛИ *IN VIVO* И *IN VITRO*
ЦЫМБАЛЮК В.В., МИШИНА Е.С., ЗАТОЛОКИНА М.А.32

ИССЛЕДОВАНИЕ НАРУШЕНИЙ КАЛЬЦИЕВОГО ГОМЕОСТАЗА И БИОЭНЕРГЕТИКИ В КЛЕТКАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА С ЭКСПРЕССИЕЙ АБЕРРАНТНОГО БЕЛКА FUS [1-359] МЕТОДАМИ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ
ШИТИКОВА Е.Ю., БАЖЕНОВ П.А., ЖУНУСОВ Н.С., ВИНОКУРОВ А.Ю.33

СЕКЦИЯ 2

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ БИОФОТОНИКИ В МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ГИПЕРСПЕКТРАЛЬНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ТКАНЕЙ КИШЕЧНИКА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ЛОКАЛЬНОЙ ИШЕМИИ
АДАМЕНКОВ Н.А., ШУПЛЕЦОВ В.В., ГОРЮНОВ И.А., ПАЛАЛОВ А.А., КАЛУГА Н.И., РОДИОНОВ В.С., МАМОШИН А.В., ПОТАПОВА Е.В., ДРЁМИН В.В., ДУНАЕВ А.В. ...35

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТЕЙ МЕТОДА ЛАЗЕРНОЙ СПЕКЛ-КОНТРАСТНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ПРИ ДОСТАВКЕ И РЕГИСТРАЦИИ ИЗЛУЧЕНИЯ ЧЕРЕЗ ОПТИЧЕСКИЕ КАНАЛЫ ЛАПАРОСКОПА
ГОЛУБОВА Н.В., АДАМЕНКОВ Н.А., ПРИЗЕМИН В.Н., ДУНАЕВ А.В., ДРЁМИН В.В., ПОТАПОВА Е.В.36

СИСТЕМА ГИПЕРСПЕКТРАЛЬНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНЫХ НАРУШЕНИЙ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ <u>ГОРЮНОВ И.А.</u> , ШУПЛЕЦОВ В.В., АДАМЕНКОВ Н.А., ЖУРИЛО И.П., ПОТАПОВА Е.В., ДРЁМИН В.В.	37
ФОТОПЛЕТИЗМОГРАФИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПАЦИЕНТОВ С ХОЛОДОВОЙ КРАПИВНИЦЕЙ <u>ГУРЫЛЕВА А.В.</u> , МАЧИХИН А.С., ВОЛКОВ М.В., БУКОВА В.И., ФОМИНА Д.С., ДАНИЛЫЧЕВ М.В., ДАНИЛЫЧЕВА И.В.	38
ИЗМЕНЕНИЯ КОЛЕБАТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ЧЕЛОВЕКА ПРИ ПРЯМОЙ ОПТИЧЕСКОЙ ГЕНЕРАЦИИ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА <u>ЕРАТОВА Л.В.</u> , МАКОВИК И.Н.	39
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ТЯЖЕСТИ ПОСТКОВИДНОГО СИНДРОМА НА ИЗМЕНЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ СИСТЕМЫ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ КРОВИ С ПОМОЩЬЮ ПОРТАТИВНЫХ АНАЛИЗАТОРОВ <u>ЖАРКИХ Е.В.</u> , ЛОКТИОНОВА Ю.И., ПАРШАКОВА В.Е., ФЕДОРОВИЧ А.А., ДУНАЕВ А.В.	40
СПЕКТРАЛЬНЫЙ СОСТАВ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ПЕЧЕНИ У ПАЦИЕНТОВ С МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХОЙ <u>КАНДУРОВА К.Ю.</u> , СУМИН Д.С., МАМОШИН А.В., ПОТАПОВА Е.В.	41
ПРИЛОЖЕНИЯ МЕТОДА МОНТЕ-КАРЛО ДЛЯ ЗАДАЧ ОПТИЧЕСКОЙ БИМЕДИЦИНСКОЙ ДИАГНОСТИКИ <u>КИРИЛЛИН М.Ю.</u> , КУРАКИНА Д.А., ГЕТМАНСКАЯ А.А., ХИЛОВ А.В., ПЕРЕКАТОВА В.В., ШИШКОВА В.А., ТУРЧИН И.В., СЕРГЕЕВА Е.А.	42
ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ КРОВИ ТКАНЕЙ ЯИЧНИКОВ В ЖИВОТНОЙ МОДЕЛИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ЯИЧНИКОВ <u>КРУТИКОВА В.Ю.</u> , ЗАКУРАЕВА К.А., ЯРМОЛИНСКАЯ М.И., ПОЛЕНОВ Н.И., ПОТАПОВА Е.В.	43
ГЕНДЕРНЫЕ РАЗЛИЧИЯ РЕАКТИВНОСТИ СИСТЕМЫ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ НА ТЕМПЕРАТУРНЫЕ ПРОБЫ У ВЫСОКОКВАЛИФИЦИРОВАННЫХ ШОРТ- ТРЕКОВИКОВ <u>ЛИТВИН Ф.Б.</u> , БРУК Т.М., КРОТОВА К.А.	44

**ПОРТАТИВНЫЕ МУЛЬТИМОДАЛЬНЫЕ АНАЛИЗАТОРЫ В МОНИТОРИНГЕ
МИКРОЦИРКУЛЯТОРНО-ТКАНЕВЫХ СИСТЕМ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА ВО
ВРЕМЯ СНА**

ЛОКТИОНОВА Ю.И., ЖАРКИХ Е.В., КЛЕЕВА Д.Ф., ПАРШАКОВА В.Е., СИДОРОВ В.В.,
КРУПАТКИН А.И., ДУНАЕВ А.В.45

**МУЛЬТИМОДАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ АГРЕГАЦИИ И
ДЕФОРМИРУЕМОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЯХ**

МАКСИМОВ М.К., ЕРМОЛИНСКИЙ П.Б., ЛУГОВЦОВ А.Е., ГУРФИНКЕЛЬ Ю.И.,
ДЯЧУК Л.И., ПРИЕЗЖЕВ А.В.46

**ВЛИЯНИЕ ГЛИЦЕРИНА КАК ОПТИЧЕСКОГО ПРОСВЕТЛЯЮЩЕГО АГЕНТА НА
ОПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ТКАНЕЙ И МИКРОРЕОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
КРОВИ**

МОЛЬДОН П.А., ЕРМОЛИНСКИЙ П.Б., ДЬЯЧЕНКО П.А., ЛУГОВЦОВ А.Е.,
ПРИЕЗЖЕВ А.В.47

**ОЦЕНКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ ПАРАМЕТРОВ
МИКРОЦИРКУЛЯТОРНО-ТКАНЕВЫХ СИСТЕМ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА С
ПОМОЩЬЮ МУЛЬТИМОДАЛЬНЫХ ПОРТАТИВНЫХ УСТРОЙСТВ**

ПАРШАКОВА В.Е., ЛОКТИОНОВА Ю.И., ЖАРКИХ Е.В., ДУНАЕВ А.В.48

**ОЦЕНКА ВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ ПРИ СИНДРОМЕ
МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХИ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА СПЕКТРОВ
КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ ЖЕЛЧИ**

ПРИЗЕМИН В.Н., СУМИН Д.С., МАМОШИН А.В., ПОТАПОВА Е.В.49

**ОЦЕНКА ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТИ И ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ
ИЗМЕРЕНИЙ КОЖНОЙ ПЕРФУЗИИ МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ ДОПЛЕРОВСКОЙ
ФЛОУМЕТРИИ У ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦЕВ**

РЫЖКОВА Е.Г., МОРГУНОВА Т.Б., РЫЖКОВ И.А., ФАДЕЕВ В.В.50

**ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ У ПАЦИЕНТОВ С
СИНДРОМОМ МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХИ С ПОЗИЦИИ ЧРЕСКОЖНЫХ
МИНИМАЛЬНО ИНВАЗИВНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ**

СУМИН Д.С., МАМОШИН А.В., МОРОЗОВ Ю.М.51

**ПРИМЕНЕНИЕ FLIM МИКРОСКОПИИ С МОЛЕКУЛЯРНЫМ РОТОРОМ WODIRY2
ДЛЯ АНАЛИЗА МИКРОВЯЗКОСТИ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН
ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК**

ШИМОЛИНА Л.Е., ХЛЫНОВА А.Э., МЕТЛИНА В.А., ИГНАТОВА Н.И., ДРУЖКОВА
И.Н., МОЖЕРОВ А.М., КУИМОВА М.К., ШИРМАНОВА М.В.52

IN VIVO ДИАГНОСТИКА РАКА ПЕЧЕНИ НА ОСНОВЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ С ВРЕМЕННЫМ РАЗРЕШЕНИЕМ И МЕТОДОВ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ

ШУПЛЕЦОВ В.В., ПОТАПОВА Е.В., ДРЁМИН В.В., ЖЕРЕБЦОВ Е.А., МАМОШИН А.В., ДУНАЕВ А.В.53

30 ЛЕТ РАЗВИТИЯ ТЕХНОЛОГИИ ВРЕМЯ-КОРРЕЛИРОВАННОГО СЧЕТА ОДИНОЧНЫХ ФОТОНОВ: ОТ ИССЛЕДОВАНИЙ ОДИНОЧНЫХ МОЛЕКУЛ ДО КЛИНИЧЕСКИХ ПРИЛОЖЕНИЙ

ЩЕСЛАВСКИЙ В.И......54

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОЦИТОТОКСИЧНОСТИ КОМПЛЕКСОВ АПКОНВЕРСИОННЫХ НАНОЧАСТИЦ С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОМ

АНИСИМОВ Р.А., ЛОМОВА М.В., КОЧУБЕЙ В.И., ЯНИНА И.Ю.55

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ ПАРАМЕТРОВ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ БИОТКАНИ И МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ КРОВИ С ПОМОЩЬЮ ПОРТАТИВНОГО МУЛЬТИМОДАЛЬНОГО АНАЛИЗАТОРА

ЯНУШИН В.С., ЖАРКИХ Е.В., ДУНАЕВ А.В.56

Секция 1

**Исследования физиологических
процессов в клеточных культурах и
тканях**

IN VITRO ИССЛЕДОВАНИЯ МЕХАНИЗМА ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА «КОНФУМИН» В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК В СОСТОЯНИИ ГИПОКСИИБЕЛЯКОВ Д.Ю.¹, ПОПОВ Д.Ю.¹, ЗАКРЖЕВСКАЯ В.Д.¹, ГУСЕЙНОВ Р.Г.^{2,3,4}, СИВАК К.В.^{2,5}, ПЕРЕПЕЛИЦА В.В.^{2,3}, ВИНОКУРОВ А.Ю.¹, ПОПОВ С.В.^{2,3}¹ Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия, elderly_fighter@vk.com² СПб ГБУЗ Клиническая больница Святителя Луки, г. Санкт-Петербург, Россия
³ ЧОУВО «СПбМСИ», г. Санкт-Петербург, Россия⁴ Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, Россия⁵ ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева», г. Санкт-Петербург, Россия

В современной хирургической практике при проведении операции частичной нефрэктомии на ранних стадиях развития рака почки может быть использована процедура тепловой ишемии, снижающая кровопотери и улучшающая визуализацию операционного поля, но приводящая к развитию кислородной недостаточности в результате ограничения кровоснабжения органа. Для повышения выживаемости клеток во время операции, когда ее продолжительность является ключевым фактором, применяются препараты с антигипоксическими свойствами, например, раствор для инфузий «Конфумин». На сегодняшний день информация о порядке применения препарата до и после операции, его дозировке, возможной длительности тепловой ишемии требует уточнения на основе понимания механизма нефропротекторного действия, что определяет значительную актуальность настоящей работы.

Считается, что препарат, фармакологически активным компонентом которого является фумарат натрия, позволяет клеткам синтезировать АТФ в условиях недостатка кислорода. Однако проведенные нами эксперименты *in vitro* не подтверждают однозначность такого механизма. На культуре клеток MDCK показано, что в условиях гипоксии, смоделированной с применением связывающего растворенный кислород дитионита натрия, комплекс V электронтранспортной цепи (ЭТЦ) митохондрий характеризуется инверсным режимом работы, транспортируя протоны водорода из матрикса митохондрий в межмембранное пространство с расходом АТФ. Хотя добавление фумарата натрия и обеспечивает возможность частичного окисления NADH за счет создания условий для работы комплекса I ЭТЦ, это незначительно влияет на нормализацию механизма поддержания митохондриального мембранного потенциала ($\Delta\Psi_m$), что находит отражение в деполяризации митохондрий после обработки клеток ингибитором АТФ-синтазы олигомицином А. Поиск альтернативных объяснений обусловленной фумаратом натрия защиты клеток почек показал, что она может быть связана с активацией естественных внутриклеточных процессов в результате стабилизации индуцируемого гипоксией фактора HIF1 α . В условиях нормоксии HIF1 α гидроксимируется пролилгидроксилазами (PHD) и подвергается протеосомной деградации. При гипоксии происходит ингибирование PHD, что приводит к стабилизации HIF1 α и последующей активации транскрипции защитных генов. Однако известно, что накопление HIF1 α возможно и в условиях нормоксии, в частности, в результате влияния повышенной продукции активных форм кислорода, накопления сукцината и/или фумарата, L-2-HG, которые могут ингибировать активность PHD и вызывать состояние псевдогипоксии. В подтверждение данной гипотезы нами экспериментально показано, что обработка клеток препаратом «Конфумин» в условиях нормального содержания кислорода приводит к увеличению $\Delta\Psi_m$, изменению скорости продукции АФК и уровня митофагии, а также снижению рН цитозоля, что свидетельствует о возможном ингибировании PHD и стабилизации HIF1 α , приводящем к увеличению роли гликолиза в обеспечении энергетических потребностей клеток.

Работа выполнена при поддержке гранта Правительства РФ № 075-15-2022-1095.

НАРУШЕНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИНАМИКИ ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИБЕРЕЖНОВ А.В.^{1,2}, ФЕДОТОВА Е.И.^{1,2}, КРИЦКАЯ К.А.¹, НАДЕЕВ А.Д.¹

¹Институт биофизики клетки Российской академии наук – обособленное подразделение
Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный
исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований
Российской академии наук», г. Пушкино, Россия, g_56@rambler.ru

²Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия

Митохондрии (МХ) играют ключевую роль в обеспечении клеток энергией и выполняют иные функции, такие как поддержание гомеостаза Ca^{2+} , активация процессов апоптоза и др. В клетках МХ связаны в митохондриальный ретикулум и подвергаются постоянным превращениям в процессах (а) слияния и деления (митохондриальная динамика), (б) внутриклеточного транспорта МХ, а также (в) биогенеза МХ и их селективной аутофагии – митофагии (МФ). Митохондриальный гомеостаз поддерживается системой «контроля качества» МХ. Очевидно, что нарушения в указанных процессах (вследствие мутаций или при действии токсинов и др.) могут приводить к неблагоприятным последствиям, приводящим к клеточной гибели. Одним из основных повреждающих факторов при этом является сверхпродукция активных форм кислорода дисфункциональными МХ. На организменном уровне проявлениями таких нарушений являются различные патологии. Среди них – нейродегенеративные заболевания (НДЗ), такие как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона (БП) и ряд других. Дело в том, что нормальное функционирование МХ критически важно для нейронов – клеток, которые имеют высокую потребность в энергии. Накопление патологических белковых агрегатов, характерных для ряда НДЗ, затрудняет аксональный транспорт МХ. Нарушения процессов деления МХ (fission) может приводить к затруднению их деградации по пути МФ. Известны мутации, приводящие к нарушению процессов МФ, деления/слияния и биогенеза МХ. Наличие таких мутаций сопряжено с развитием ряда НДЗ.

В нашей работе мы детально рассмотрели возможность умеренной активации МФ в токсических и наследственных моделях БП и оценили нейропротекторный потенциал такой активации. Было показано, что закисление цитозоля способно активировать МФ в модельных клетках. Причем кратковременное закисление вызывало усиление МФ не по «каноническому» PINK1/Parkin-зависимому пути, а по альтернативному. Кратковременное закисление лактатом или пируватом натрия обладало защитным эффектом в клеточных токсических моделях БП [1]. На уровне целого организма – в мышечной ротононовой модели БП – защита от нейродегенерации была достигнута при периодическом кратковременном закислении, вызванном вдыханием воздуха с избытком CO_2 (гиперкапния) [2].

Работа выполнена в рамках госзадания 075-01512-22-03 по теме: «Нейропротекторные препараты нового поколения» № 1022080100047-5-1.6.4.

Список литературы

1. Fedotova E.I., Dolgacheva L.P., Abramov A.Y., Berezhnov A.V. Lactate and Pyruvate Activate Autophagy and Mitophagy that Protect Cells in Toxic Model of Parkinson's Disease // *Mol. Neurobiol.* – 2022. – Vol. 59. – No 1. – P. 177-190.
2. Nadeev A.D., Kritskaya K.A., Fedotova E.I., Berezhnov A.V. «One Small Step for Mouse»: High CO_2 Inhalation as a New Therapeutic Strategy for Parkinson's Disease // *Biomedicines.* – 2022. – Vol. 10. – No 11. – P. 2832.

**ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССОВ РОСТА И БИОСИНТЕЗА СТЕВИОЛ-ГЛИКОЗИДОВ
В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК *STEVIA REBAUDIANA* BERTONI**

БОНДАРЕВ Н.И., БОНДАРЕВА Т.А.

Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия,
nikbond@inbox.ru

Стевия (*Stevia rebaudiana* Bertoni, *Asteraceae*), растение-эндемик Парагвая, листья которого содержат ряд дитерпеновых стевииол-гликозидов (СГ) – соединений с высокой подслащающей способностью [3]. Основными по содержанию СГ являются стевииозид и ребаудиозиды А и С [1].

Культуры клеток стевии являются прекрасными модельными системами для выяснения ряда особенностей биосинтеза дитерпеновых гликозидов. Цель исследования – выявление особенностей пролиферации и биосинтеза СГ в культурах клеток *S. rebaudiana*.

Объектами изучения были гетеро- и миксотрофные клетки стевии, выращиваемые в жидкой или на агаризованной среде Мурасиге и Скуга (МС) [2]. Определение состава и содержания СГ проводили методом ВЭЖХ, как сообщено ранее [1], на приборе Agilent 1100.

Было обнаружено, что для пролиферации клеток стевии более эффективным регулятором роста из ауксинов являлся ИМК, а из цитокининов – БАП. На биосинтез СГ более существенное влияние оказывала НУК, по сравнению с ИУК и ИМК, причем наиболее сильно оно проявилось в отношении ребаудиозиды А. Для пролиферации изолированных клеток стевии более значимым фактором была комбинация ауксин/цитокинин, в то время как на уровень накопления СГ более существенное влияние оказывало генотипическое происхождение культуры.

При повышении в два раза концентрации минеральных солей в питательной среде МС происходило существенное увеличение сырой и сухой биомассы, а содержание СГ повышалось на порядок.

Изолированные клетки стевии оказались значительно более чувствительными к световому излучению, чем культуры побегов *in vitro*. Рост каллусных культур на свету (2000 лк) значительно интенсифицировался по сравнению с выращиванием в темноте, при этом происходило увеличение как сырой, так и сухой биомассы клеток в 1,5 раза. Однако при повышении интенсивности светового потока до 6000-8000 лк фиксировали резкое снижение параметров роста культур. При выращивании на свету биосинтез СГ активизировался, что говорит об участии хлоропластов в биосинтезе этих соединений. Содержание СГ в морфогенном каллусе и, особенно, в его побегах было существенно выше, чем в недифференцированных культурах *in vitro*, что свидетельствует о зависимости уровня их накопления от степени дифференциации ткани. Состав и соотношение СГ в культуре клеток, по сравнению с их содержанием, изменяются не столь значительно, причем генотипические особенности полученных штаммов при этом сохраняются.

Таким образом, пролиферация изолированных клеток стевии, а также биосинтез в них СГ, существенно зависят от клеточной дифференциации и условий культивирования, при этом интенсивность указанных процессов может возрастать в некоторых вариантах на порядок.

Список литературы

1. Bondarev, N.I. Peculiarities of diterpenoid steviol glycoside production in *in vitro* cultures of *Stevia rebaudiana* Bertoni / N.I. Bondarev, O.V. Reshetnyak, A.M. Nosov // Plant Science. – 2001. – Vol. 161 (1). – P. 155-163.
2. Murashige, T.A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiologia Plantarum. – 1962. – Vol. 15(13). – P. 473-497.
3. Soejarto, D.D. Ethnobotany of *Stevia* and *Stevia rebaudiana* / In: Kinghorn A.D. (ed) *Stevia: the genus Stevia*. – Taylor & Francis, London & New York, 2002. – P. 40-67.

IN VITRO ИССЛЕДОВАНИЯ УВЕЛИЧЕНИЯ АВТОФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ФАД КАК СИГНАЛА РАЗВИТИЯ ПАТОЛОГИИ, ПРИВОДЯЩЕЙ К ГИБЕЛИ КЛЕТОК

БРЯНСКАЯ Е.О.¹, ВИНОКУРОВ А.Ю.¹, ДУНАЕВ А.В.¹, АНГЕЛОВА П.Р.²,
АБРАМОВ А.Ю.^{1,2}

¹Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия,
bryanskayae@mail.ru

²UCL Queen Square Institute of Neurology, г. Лондон, Великобритания

В настоящее время оптическая визуализация с использованием эндогенной автофлуоресценции является одним из самых безопасных способов изучения метаболического статуса клеток и динамических изменений функций клеток и тканей как *in vitro*, так и *in vivo*.

Наиболее важными обуславливающими автофлуоресценцию хромофорами являются никотинамидадениндинуклеотид (НАДН), флавинадениндинуклеотид (ФАД), ароматические аминокислоты и некоторые белки. Согласно литературным источникам, клетки в разных физиологических состояниях имеют разные уровни интенсивности автофлуоресценции ФАД. При этом высокий уровень сигнала может служить диагностическим критерием для выявления клеток с различным типом патологии.

В качестве объекта исследования выбраны первичная совместная культура нейронов и астроцитов и фибробласты кожи человека. Автофлуоресценцию ФАД контролировали с помощью лазерного сканирующего конфокального микроскопа Zeiss LSM 900. Для возбуждения использовалась линия аргонового лазера с длиной волны 488 нм, а флуоресценцию излучения в интервале 505-550 нм.

Чтобы определить, повреждены или мертвы клетки с высоким уровнем автофлуоресценции ФАД, применялся йодид пропидия. Для выявления клеток с апоптозом использован флуоресцентный субстрат для каспазы-3 – NucView 488. Было установлено, что на начальном этапе появление высокой автофлуоресценции ФАД характерно для интактных клеток без экспериментально обнаруживаемых признаков некроза или апоптоза.

Однако изученные на первом этапе клетки демонстрировали активацию клеточной смерти путем апоптоза или некроза в течение 24 часов после первоначальных измерений. Так, например, обнаружено, что процент некротических клеток в первичной смешанной культуре кортикальных нейронов и астроцитов был равен $59\pm 7\%$ и $56\pm 5\%$ соответственно.

При этом очень высокая автофлуоресценция ФАД является результатом гиперактивации комплекса II митохондриальной электронтранспортной цепи и активности моноаминоксидаз. Так, митохондриальный уровень ФАД был примерно в 2,5 раза выше в нейронах, астроцитах и фибробластах с более высоким общим сигналом ФАД. Повышенный уровень доли окисленной формы кофермента свидетельствовал об увеличении потребления ФАДН₂ и ускорении митохондриального дыхания, связанного с комплексом II. Следует также отметить, что уровень ФАД, связанного с МАО (определенный по снижению автофлуоресценции при применении моноаминов), в клетках с повышенной общей автофлуоресценцией ФАД был выше по сравнению с клетками с более низкой общей автофлуоресценцией ФАД.

Таким образом, высокий уровень ФАД в клетках может быть использован в качестве маркера патологии, которая приводит к гибели клеток. Предложенный подход имеет важные преимущества для ранней диагностики заболеваний (например, патологий тканей ротовой полости), включая неинвазивность, высокую чувствительность и безопасность.

Работа выполнена при поддержке гранта Правительства РФ № 075-15-2022-1095.

**АНАЛИЗ КАЧЕСТВЕННЫХ И КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ
БИОМАРКЕРОВ ОСТРОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК В ОПРЕДЕЛЕНИИ СТЕПЕНИ
ФАРМАКОПРОТЕКЦИИ**

ПОПОВ С.В.^{1,2}, ДУНАЕВ А.В.⁶, ГУСЕЙНОВ Р.Г.^{1,2,3}, СИВАК К.В.^{1,4}, ПОТАПОВА Е.В.⁶,
ВИНОКУРОВ А.Ю.⁶, ПЕРЕПЕЛИЦА В.В.^{1,2}, БУНЕНКОВ Н.С.^{1,5}, ЛЕЛЯВИНА Т.А.¹

¹ СПб ГБУЗ Клиническая больница Святителя Луки, г. Санкт-Петербург, Россия,
rusfa@yandex.ru

² ЧОУВО «СПбМСИ», г. Санкт-Петербург, Россия

³ Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, Россия

⁴ ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева»,
г. Санкт-Петербург, Россия

⁵ ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
имени акад. И.П. Павлова», г. Санкт-Петербург, Россия

⁶ Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия

Существуют разнообразные методы способные оценить функцию почек и их повреждение при различных заболеваниях [1,2,3]. Проводимые в настоящее время исследования помогают определить место маркеров для диагностики острого повреждения почек (ОПП) интраоперационно или же в раннем послеоперационном периоде больным, после хирургической травмы почки. В настоящее время функциональное состояние ренальной ткани определяется на основании количественной биохимической оценки креатинина и мочевины плазмы крови. К сожалению, данные тесты не обладают достаточной специфичностью для определения тяжести ишемических нарушений, а также несостоятельны для оценки острого повреждения почек. Для динамической оценки нюансов течения дисфункции клубочково-канальцевой системы разработаны новые методы оценки более широкого спектра биомаркеров, которые дают больше информации и позволяют динамично оценивать специфику развития клубочково-канальцевой дисфункции. Последние являются высокоспецифичными и чувствительными идентификаторами почечного повреждения. Важным направлением лабораторной диагностики повреждений является качественная и количественная оценка биомаркеров острого повреждения почки. При развитии функциональной несостоятельности гломерулярно-тубулярного аппарата почки об этом свидетельствуют соответствующие изменения концентрации креатинина, цистатина-С, ИЛ-18, КИМ-1, липокалина-2, белков, связывающих жирные кислоты, а также ферментов N-ацетил-глюкозаминидазы, -глутатион-S-трансферазы, -глутамил транспептидазы, лактат-дегидрогеназы. Таким образом, изучение определения качественных и количественных изменений маркеров, расширяет картину патогенеза нарушений, повышает качество прогнозирования, позволяет более точно оценить степень расстройств, что позволяет скорректировать лечебные мероприятия.

Список литературы

1. Иванов Н.Д. Острое повреждение почек // Медицина неотложных состояний. 2012. – № 3 (42). – С. 16-19.
2. Hack C.E., Zeerleder S. The endothelium in sepsis: Source of and a target for inflammation // Crit. Care Med. – 2001. Vol. 29. P. 21–27.
3. Kwon O., Phillips C.L., Molitoris B.A. Ischemia induces alterations in actin filaments in renal vascular smooth muscle cell // Am. J. Physiology. Renal Physiology. – 2002. – Vol. 282. – N 6. – P. 1012-1019

**ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СВОЙСТВ СОЕДИНЕНИЙ ИЗ
ГРУППЫ ФОРМАЗАНОВ**

ЖЕРЕБЦОВА Е.А.¹, ЧУМАКОВ А.А.¹, ВИНОКУРОВ А.Ю.^{1,2}

¹БУ ОО ДО «Дворец пионеров и школьников им. Ю.А. Гагарина», детский технопарк
«Кванториум», г. Орёл, Россия, lisa.zherebtsova@yandex.ru

²Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия

Несмотря на снижение частоты, инфекционные (в частности, бактериальные) заболевания остаются важным фактором, снижающим качество жизни человека. Основные способы лечения бактериальных заболеваний основаны на применении антибиотиков, по отношению к которым микроорганизмы способны формировать трудно преодолеваемую резистентность [1]. В связи с этим актуальной задачей является поиск принципиально новых классов соединений с антибиотической активностью. Анализ литературы показывает, что этими соединениями могут выступать формазаны [2].

Формазаны - многочисленный класс соединений, обладающих широкой, в том числе антимикробной активностью. В зависимости от количества и природы заместителей количество формазанов огромно и теоретически ограничивается только воображением химиков. Поэтому в рамках поиска новых соединений с высокой эффективностью очень важно понимать, как биологическая активность формазанов зависит от их строения. Целью работы является скрининг и анализ механизма антибактериального эффекта формазанов различного химического строения.

Для целей исследования выбраны девять соединений из группы формазанов с различным строением и молекулярной массой. Для максимальной широкой оценки спектра их антибактериальной активности использовали микроорганизмы различной морфологии и физиологии – *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. oneidensis*, *R. leguminosarum*. Исследованные формазаны демонстрируют разный уровень антимикробной активности - от нулевой по отношению ко всем или части тестовым микроорганизмам до универсального действия (формазан V). Как следует из анализа роста бактерий, значения минимальной ингибирующей активности составили 1,5 мкг/мл, 3,0 мкг/мл, 1,5 мкг/мл, 1,5 мкг/мл и 3,0 мкг/мл в отношении соответственно *E. coli*, *R. leguminosarum*, *S. aureus*, *B. subtilis* и *S. oneidensis*. Эти данные сопоставимы с применяемыми сегодня антибиотиками, что говорит о значительной перспективе формазана V, а также соединений, которые можно получить на его основе, в качестве лекарственного препарата

Список литературы

1. Биомолекула. Антибиотикорезистентность: How to make antibiotics great again?: [электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://biomolecula.ru/articles/antibiotikorezistentnost-how-to-make-antibiotics-great-again>.

2. Shakir A., Adnan S. Synthesis and Characterization of some new Formazan Derivatives from 2-Amino-4-Hydroxy-6-Methyl Pyrimidine and Study the Biological Activity (Anti-Bacteria and Anti-Cancer) //Journal of Pharmaceutical Quality Assurance. – 2020. – Vol. 11. – №. 1. – P. 53-59.

КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ КОМБИНАЦИЙ МУТАЦИЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК НА ПАРАМЕТРЫ СОСТОЯНИЯ КЛЕТОК КАЗАКОВ М.С.¹, ФЕДОТОВА Е.И.^{1,2}, БЕРЕЖНОВ А.В.^{1,2}, ВИНОКУРОВ А.Ю.¹

¹Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия,
kms898@mail.ru

²Институт биофизики клетки Российской академии наук – обособленное подразделение
Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный
исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований
Российской академии наук», г. Пущино

Митохондрия – динамичная двумембранная органелла, играющая ключевую роль в поддержании жизнеспособности клетки и обладающая собственным геномом (мтДНК), в которой закодированы некоторые белки электротранспортной цепи (ЭТЦ) и аппарат их биосинтеза. Однако из-за близости к ЭТЦ, которая продуцирует активные формы кислорода (АФК), мтДНК характеризуется высоким уровнем мутаций, которые закрепляются ввиду существования сравнительно примитивной системы репарации повреждений [1]. Вследствие большого числа копий мтДНК клетки характеризуются гетероплазмией – одновременным содержанием мутантных мтДНК и молекул дикого типа. Все это может приводить к развитию митохондриальной дисфункции и связанными с ней заболеваниями. Указанные выше особенности митохондриального генома усложняют выявление связи между мутациями и механизмами развития патологий с применением относительно простых методов статистической обработки, что делает актуальным поиск новых методологически подходов.

Объектами настоящего исследования выступают цибриды, созданные на основе клеточной линии острого моноцитарного лейкоза ТНР-1. Каждая линия содержит от 5 до 10 мутаций в генах рРНК (m.del652G, m.1555A>G), тРНК (m.3256C>T, m.12315G>A), комплекса III ЭТЦ (m.15059G>A, m.14846G>A) и комплекса I ЭТЦ (m.3336T>C, m.5178C>A, m.13513G>A, m.14459G>A). В целях анализа состояния клеток был изучен широкий набор параметров, включающих величину митохондриального потенциала ($\Delta\Psi_m$), содержание и редокс-индекса НАДН, уровень митохондриальной массы, скорость продукции цитозольных АФК (цтАФК) и митохондриальных АФК (мтАФК), базовое дыхание и дыхание в присутствии олигомицина А, а также содержание восстановленного глутатиона (GSH) и уровень митофагии. Анализ с использованием парного коэффициента корреляции Спирмена показал связь рассматриваемых параметров лишь с небольшим количеством мутаций: содержание GSH – m.del652G, m.1555A>G и m.3336T>C; величина $\Delta\Psi_m$ – m.14846G>A и m.5178C>A; скорость продукции мтАФК – m.14846G>A; митохондриальная масса и дыхание при блокировании АТФ-синтазы ЭТЦ – m.12315G>A. Однако наблюдаемые между линиями различия позволяют предположить влияние различных комбинаций повреждений митохондриального генома на клеточный метаболизм. Для проверки этого был выполнен расчет частных коэффициентов корреляций, учитывающих наличие других мутаций с фиксацией их на постоянном уровне. При этом был выбран подход с определением коэффициентов детерминации полных линейных регрессий и без изучаемой мутации. Это привело к увеличению количества выявленных влияющих повреждений мтДНК: для содержания GSH значимыми оказались все мутации кроме m.5178C>A; для $\Delta\Psi_m$ – m.12315G>A и m.5178C>A; для митохондриальной массы – все мутации, кроме m.14846G>A и m.5178C>A; для содержания НАДН – все мутации, а для редокс-индекса НАДН – все мутации, кроме m.5178C>A; для уровня митофагии – m.del652G, m.3256C>T, m.12315G>A, m.3336T>C и m.14459G>A.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-15-00317.

Список литературы

1. Larsson N.-G. Somatic mitochondrial DNA mutations in mammalian aging // Annu. Rev. Biochem. – 2010. – Vol. 79. – № 1. – P. 683-706.

ИЗУЧЕНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ СЕТИ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

КРИЦКАЯ К.А.¹, ФЕДОТОВА Е.И.^{1,2}, БЕРЕЖНОВ А.В.^{1,2}

¹Институт биофизики клетки Российской академии наук – обособленное подразделение
Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный
исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований
Российской академии наук», г. Пушкино, Россия, kritskayak96@yandex.ru

²Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия

Болезнь Паркинсона (БП) – нейродегенеративное заболевание, причины которого связывают с различными генетическими и экологическими факторами. В последнее время появляется все больше данных, свидетельствующих о центральной роли митохондрий в спорадической и наследственной формах БП [1]. Митохондрии в клетках образуют сложные сети, морфология которых изменяется в ответ на патологические условия, к которым относятся: мутации, окислительный стресс, депривация субстрата, кальциевая перегрузка и т.д. [2]. Однако до сих пор неизвестно, как связана различная морфология митохондриальной сети с конкретными мутациями, приводящими к наследственной БП. Таким образом, целью настоящего исследования являлось изучение морфологии митохондриальной сети в фибробластах с мутациями (связанные с белками PINK1, LRRK2, точечная мутация в SNCA, одновременная мутация в белках PINK1 и Parkin) от пациентов с БП и двух контрольных линиях в нормальных условиях и при воздействии стресса.

Исследования проведены на конфокальном микроскопе. Фибробласты были загружены потенциал-чувствительным красителем TMRM в концентрации 25 нМ. Полученные изображения обрабатывали с помощью плагина в программе Fiji. Вкратце: изображения бинаризовались и подсчитывалась площадь митохондриального следа. С помощью плагина «скелетонизация» из бинарного изображения митохондриальной сети получали граф. Если количество связей элемента графа больше 1, то считали, что это «сеть митохондрий», а если количество связей меньше 1 или равно 0 – такие объекты относили к «индивидуальным митохондриям». Дальнейшая обработка полученных данных проводилась в R-Studio с использованием языка R.

Наиболее отличающейся морфологией как в нормальных условиях, так и при воздействии перекиси водорода обладали фибробласты с двойной мутацией PINK1 и Parkin. Их митохондриальная сеть была значимо больше, чем в двух контрольных линиях и у других фибробластах с мутациями, при этом у них также было увеличено количество индивидуальных митохондрий. Кроме того, при воздействии перекиси водорода у всех анализируемых фибробластов снижалась площадь митохондриальной сети, кроме клеток с PINK1 и Parkin и SNCA мутациями. Таким образом, полученные результаты будут полезны для более детального понимания роли морфологии митохондриальной сети при БП.

Работа выполнена в рамках госзадания 075-01512-22-03 по теме: «Нейропротекторные препараты нового поколения» № 1022080100047-5-1.6.4.

Список литературы

1. Angelova P. R., Abramov A. Y. Role of mitochondrial ROS in the brain: from physiology to neurodegeneration // FEBS Lett. 2018. – Vol. 592. – № 5. – P. 692-702.
2. Youle R. J., Blik A. M. van der. Mitochondrial fission, fusion, and stress // Science. – 2012. – Vol. 337. – № 6098. – P. 1062-1065.

**ОЦЕНКА МОРФОЛОГИИ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ СЕТИ КАК МЕТОД
ИЗУЧЕНИЯ ПРОЦЕССОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИНАМИКИ**

КУЗНЕЦОВА Е.А.¹, БЕЗСОНОВ Е.Е.^{1,2}, ВИНОКУРОВ А.Ю.¹

¹Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия,
1408199714@rambler.ru

²Первый МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), г. Москва, Россия

Морфология митохондриальной сети, а также уровень митохондриальной массы клеток является результатом совместного влияния процессов митохондриальной динамики [1, 2]. Для изучения указанных процессов широко используется конфокальная флуоресцентная микроскопия [3] и различные алгоритмы обработки получаемых изображений. При этом могут быть реализованы два методологических подхода: морфологический и морфометрический [4]. Первый позволяет на основе методов машинного обучения классифицировать митохондрии на отдельные категории, характеризуя таким образом всю сеть в целом. При морфометрическом подходе реализуется измерение отдельных параметров митохондрий, таких как объем, длина и другие. Широкий набор доступных инструментов обработки митохондриальных сетей предоставляют программы ImageJ и Fiji, которые была использована нами при измерении митохондриальной массы и оценке морфологии митохондриальной сети при исследовании влияния физиологически активных веществ на моноцитоподобные клетки ТНР-1.

При обработке полученных на конфокальном микроскопе 3D изображений клеток, загруженных кальцийчувствительным зондом Fluo4 AM и митохондриально направленным TMRM, митохондриальную массу рассчитывали как долю общего содержания митохондрий от объема клетки с помощью макроса Measure Stack ImageJ. В целях оценки морфологии митохондриальной сети конфокальные изображения высокого разрешения (полученные в режиме Airyscan) подвергали деконволюции с помощью программного обеспечения ZEN Blue edition и последующей обработке в Fiji с использованием плагина Skeleton.

Полученные результаты свидетельствуют о положительном влиянии добавок сукцината (5мМ), рибофлавина (0,08 мг/мл), коэнзима Q10 (4,3 мг/мл) и его гидрофильной формы идебенона (1,4 мг/мл), а также витамина Е (1,5 мг/мл) на содержание митохондрий в клетках (уровень митохондриальной массы увеличивается соответственно в 1,4, 1,4, 2,0, 1,8, 1,4 раз). В случае пирувата такой эффект не зафиксирован. Внесенные добавки также влияют на морфологию митохондриальной сети. В сравнении с контролем наблюдается некоторое увеличение средняя длины ветвей митохондрий в присутствии всех соединений за исключением витамина Е и В₂. При этом степень разветвления митохондрий имеет тенденцию к увеличению под влиянием митохондриальных субстратов – пирувата и сукцината.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-15-00317.

Список литературы

1. Felix Kraus, Krishnendu Roy, Thomas J. Pucadyil, Michael T. Ryan Function and regulation of the divisome for mitochondrial fission // *Nature*. – 2021. – Vol 590. – P. 57-66
2. Werner J.H. Koopman, Henk-Jan Visch, Jan A.M. Smeitink, Peter H.G.M. Willems Simultaneous quantitative measurement and automated analysis of mitochondrial morphology, mass, potential, and motility in living human skin fibroblasts // *Cytometry*. – 2006. – Vol. 69A. – P. 1-12.
3. Bertolini I., Keeney F., and Altieri D.C. Protocol for assessing real-time changes in mitochondrial morphology, fission and fusion events in live cells using confocal microscopy // *STAR Protocols* 2. – 2021. – 100767.
4. Harwig M., Viana M.P., Egnera J.M., Harwig J. J., Widlanskye M.E., Rafelskief S.M., Blake R. Methods for imaging mammalian mitochondrial morphology: A prospective on MitoGraph // *Analytical Biochemistry*. – 2018. – Vol. 552. – P. 81-99.

**ПРИМЕНЕНИЕ ФОРМАЗАНОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦИНКА
В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ**

КУЗНЕЦОВА Е.А., УЧАСОВ Д.С.

Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия,
elkuznetcova@yandex.ru

Известно, что воздействие солей цинка сверх физиологических потребностей оказывает токсические эффекты во всех органах и тканях организма человека [1]. Поэтому важно контролировать концентрацию и распределение цинка и его солей в биологических материалах. Для определения цинка существует чувствительный спектрофотометрический метод, основанный на реакции комплексообразования между ионом металла и формазаном. Метод применяется для определения цинка в сыворотке, волосах человека и фармацевтических препаратах [2].

Для определения наличия и локализации цинка мы использовали 1-(хиназолил-4')-3-фенил-5-(п-метилфенил)-формазан, имеющий в своем составе радикал $-CH_3$, способный вступать в реакцию комплексообразования с ионом цинка с образованием комплекса фиолетовой окраски. Спектрофотометрическое исследование металлокомплекса показало, что в видимой и УФ области спектров поглощения происходит изменение положения максимума по сравнению со спектром свободного комплексообразователя. У исследуемого металлокомплекса наблюдается появление новых максимумов поглощения λ_{max} при длинах волн 420, 790 нм.

С целью разработки метода диагностики избыточных состояний по цинку в животном организме в эксперименте *in vivo* с крысами самцами линии Wistar модулировали метаболическую активность тканей внутренних органов путем введения в организм животных в течение месяца избыточной концентрации $ZnSO_4$. Регистрация интенсивности флуоресценции в органах крыс показала, что ткани печени, почек, сердца остались без изменения. Однако, в тканях головного мозга обнаружены зоны ингибирования митохондриальных комплексов, что вероятно приводит к подавлению клеточного дыхания в клетках нервной ткани. Применение корня ревеня, как источника антиоксидантов, в рационе животных позволило убрать токсичный эффект серноокислого цинка – гипоксию и снижение двигательных функций.

Методом световой микроскопии установлено, что по характерной окраске комплексов формазана с цинком и наличию в тканях и клетках внутренних органов комплексных отложений, можно определить патологическое состояние у животных организмов. Исследование локализации цинка в животных тканях показало, что отложения металлокомплексов наблюдаются преимущественно в эндоплазматической мембране и мембранах органоидов. Установлено также, что в растительных тканях ионы Zn^{2+} находятся в основном в клеточных стенках и мембранах внутриклеточных органелл. Таким образом, комплексообразование с формазаном может быть использовано в медицине для прогнозирования биологического отклика и селективной способности к накоплению цинка в органах-мишенях. Техническая задача, на решение которой направлен способ определения содержания и локализации ионов путем комплексообразования с формазаном, состоит в повышении информативности и экспрессности метода для оценки характера распределения внутри органов, тканей и клеток биологических объектов различных тяжелых металлов.

Список литературы

1. J. Lemire, R. Mailloux, V.D. Appanna, Zinc toxicity alters mitochondrial metabolism and leads to decreased ATP production in hepatocytes // J. Appl. Toxicol. – 2008. – Vol. 28(2). – P. 175-182.
2. A.S. Amin, Y.M. Issa, Utility of formazans and cetylpyridinium chloride in rapid spectrophotometric determination of zinc in biological materials and pharmaceutical formulations // J Pharm Biomed Anal. – 2003. – Vol. 31(3). – P. 491-497.

**МЕТОДОЛОГИЯ КОЛОКАЛИЗАЦИОННОГО АНАЛИЗА С ПОМОЩЬЮ
КОНФОКАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ НА ПРИМЕРЕ МИТОФАГИИ В РАЗЛИЧНЫХ
КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ**ПАЛАЛОВ А.А.¹, МАХМАТЗАМОНОВА А.В.¹, ЗАТОЛОКИНА М.А.^{1,2},
ВИНОКУРОВ А.Ю.¹¹Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия,
d.alexanderpalalov@yandex.ru²Курский государственный медицинский университет, г. Курск, Россия

Колокализационный анализ – распространенный метод в биомедицинских исследованиях, позволяющий оценить взаиморасположение различных белков, органелл или других внутриклеточных компонентов. Ввиду низкой воспроизводимости качественной оценки колокализации, был предложен ряд коэффициентов для количественного анализа. Наиболее часто используются коэффициент пространственной колокализации (СС), взвешенный коэффициент колокализации Мандерса (МСС), коэффициент корреляции Пирсона (РСС), коэффициент перекрытия Мандерса (МОС). При этом выбор конкретного метода является предметом дискуссии. Также следует отметить, что использование дополнительного программного обеспечения, усиливающего разрешающую способность (например, Airyscan), может затруднить оценку колокализации.

В качестве примера колокализационного анализа методом конфокальной микроскопии оценивался уровень митофагии в клетках первичной нейроглиальной культуры (в контрольной линии и после добавления индуктора митофагии СССР, 100 μ M), фибробластах (в контрольной культуре и в культуре с дефектом PINK1/Parkin, канонических регуляторов митофагии) и MDCK (в контрольной культуре в конфокальном режиме и с помощью системы Airyscan 2). Митофагию оценивали с помощью колокализации зондов MitoTrackerGreen FM и LysoTrackerRed DND-99, окрашивающих митохондрии и лизосомы. Для более объективной оценки Threshold устанавливался по методу Costes. Расчет коэффициентов производили в программе ZEN 3.1 и ImageJ.

При оценке митофагии с использованием СССР в клетках первичной нейроглиальной культуры, статистически значимая разница была получена только с использованием РСС (0,2 \pm 17 vs 0,5 \pm 0,3, $p < 0,05$), тогда как СС, МСС и МОС не выявили различий между экспериментальной и контрольной группами. В фибробластах статистически значимая разница между контрольной культурой и культурой с заведомо дефектной митофагией (PINK/Parkin) была выявлена с помощью РСС (0,09 \pm 0,12 vs 0,18 \pm 0,12, $p < 0,05$) и МОС (0,51 \pm 0,18 vs. 0,55 \pm 0,17, $p < 0,05$), СС и МСС не продемонстрировали различий. В культуре MDCK при оценке колокализации с помощью конфокальной микроскопии и с дополнительным использованием системы Airyscan 2 (снимки осуществлялись в одних и тех же полях зрения) была обнаружена статистически значимая разница для всех перечисленных коэффициентов.

По результатам исследования, наиболее достоверным при изучении митофагии с помощью колокализации флуоресцентных зондов, является РСС, менее надежным – МОС (продемонстрировавший статистически значимую разницу лишь в одном измерении). СС и МСС не выявили различий между выборками с заведомо различным уровнем митофагии. Также использование Airyscan существенно повлияло на все изученные коэффициенты, что ставит под сомнение возможность применения данной системы при расчете параметров колокализации. Полученные данные могут быть использованы при выборе метода колокализационного анализа для некоторых задач клеточной биологии.

Работа выполнена при поддержке гранта Правительства Российской Федерации № 075-15-2022-1095.

**ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ РАКА
ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

ПОПОВ С.В.^{1,2}, ДУНАЕВ А.В.⁶, ГУСЕЙНОВ Р.Г.^{1,2,3}, СИВАК К.В.^{1,4}, ПОТАПОВА Е.В.⁶,
ВИНОКУРОВ А.Ю.⁶, ПЕРЕПЕЛИЦА В.В.^{1,2}, БУНЕНКОВ Н.С.^{1,5}, ЛЕЛЯВИНА Т.А.¹

¹ СПб ГБУЗ Клиническая больница Святителя Луки, г. Санкт-Петербург, Россия,
perpelitsa_vit@mail.ru

² ЧОУВО «СПбМСИ», г. Санкт-Петербург, Россия

³ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

⁴ ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева», г. Санкт-Петербург, Россия

⁵ ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени акад. И.П. Павлова», г. Санкт-Петербург, Россия

⁶ Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия

«Золотым стандартом» верификации диагноза рака предстательной железы является гистологический анализ структурных особенностей простаты [1]. Иммуногистохимический (ИГХ) метод изучения микроморфологической картины заболевания с применением антител клона 34βE12 и моноклональных антител к ядерному белку p63 позволяет, детализируя состояние базального эпителиального слоя железистых структур простаты, подтвердить или опровергнуть наличие аденокарциномы [2]. Изучался биопсийный материал, взятый у 157 больных. Отобранный биопсийный материал был разделен на 2 группы. В группу № 1 относили образцы ткани простаты, пораженные аденокарциномой (n=81), в группу № 2 – образцы здоровой ткани (n=76). В иммуногистохимическом анализе с применением моноклональных антител BioGenex к α-метилацилКоА-рацемазе, ядерному белку p63 и высокомолекулярному цитокератину (антитела клона 34βE12). В процессе ИГХ-анализа брали во внимание экстенсивность и интенсивность окрашивания для АМАСР, 34βE12 и ядерного p63. При аденокарциноме предстательной железы наблюдается АМАСР-положительная реакция малигнизированных клеток и отрицательное реагирование базального эпителия на антитела к p63 и высокомолекулярному цитокератину. Средний возраст пациентов основной группы, у которых при рутинном гистологическом исследовании была верифицирована аденокарцинома предстательной железы, составил 58-85 года (медиана 67,9 лет). антитела клона 34βE12 и моноклональные антитела к p63, в единичных случаях отмечалось слабое или, более редко, умеренное окрашивание. Иммуногистохимические исследования с моноклональными антителами к АМАСР, p63 и высокомолекулярному цитокератину облегчают выявление, как формирование разрастаний малигнизированного эпителия простатических желез и утрата базального слоя здоровых эпителиоцитов. Ограниченность специфичности АМАСР-теста нивелируется одновременным иммунным реагированием ядерного p63 и высокомолекулярного цитокератина с соответствующими антителами и детализацией вследствие этого состояния базального слоя.

Список литературы

1. Gutman A.B., Gutman E.B. An A phosphate occurring in the serum of patients with metastasizing carcinoma of the prostate gland // J. Clin. Invest. – 1938. – Vol. 17. – P. 473-478.
2. Nameed O., Sublett J., Humphrey P.A. Immunohistochemical stains for p63 and alpha-methylacyl-CoA racemase, versus a cocktail comprising both, in the diagnosis of prostatic carcinoma: a comparison of the immunohistochemical staining of 430 foci in radical prostatectomy and needle biopsy tissues // Am J Surg Pathol. – 2005. – Vol. 29. – № 5. – P. 579-587.

ОЦЕНКА ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ И МЕХАНИЗМА ИЗМЕНЕНИЯ РЕДОКС-БАЛАНСА В КЛЕТКАХ С ПАТОЛОГИЕЙ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ

ПОГОНЯЛОВА М.Ю., ПОПОВ Д.Ю., КАЗАКОВ М.С., ШИТИКОВА Е.Ю.,
ВИНОКУРОВ А.Ю.

Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия,
mpogonalova@gmail.com

Активные формы кислорода (АФК) включают свободные радикалы и нерадикальные молекулы, обладающие высокой реакционной способностью. Клетки характеризуются определенным уровнем образования АФК в свободном состоянии, а также возможностью его увеличения в ответ на внутренние и внешние стимулы. Кроме того, изменение уровня продукции АФК показано как часть многих патологических процессов. Основными источниками образования АФК являются клеточные органеллы, а также окислительно-восстановительные ферменты цитозоля и реакции, катализируемые ионами переходных металлов. Кроме того, в митохондриях АФК могут высвобождаться как в матрикс, так и в межмембранное пространство.

Для более полного анализа механизма патологии в клетках зачастую необходимо проводить оценку пространственной локализации продукции АФК. В частности, для этого широко применяются методы флуоресцентной микроскопии с применением зондов dihydroetidium и MitoTracker Red CM-H2XRos, что было использовано нами в исследовании механизма развития эндометриоза. Известно, что при эндометриозе наблюдается повышенная продукция АФК, и для нахождения потенциальных терапевтических мишеней для лечения заболевания необходимо установить локализацию этого процесса. Для оценки скорости продукции АФК в цитозоле и межмембранном пространстве митохондрий использовали ратиометрический зонд dihydroetidium (H₂Et) (5 мкМ) с длинами волн возбуждения для восстановленной формы 360 нм и для окисленной формы – 530 нм. Эксперимент проводили без предварительной инкубации клеток, чтобы избежать токсического эффекта продуктов окисления. Оценка образования АФК в матриксе митохондрий проводили с использованием зонда MitoTracker Red CM-H2XRos (500 нМ), который способен накапливаться в митохондриях и, в результате взаимодействия с АФК, приобретает способность к флуоресценции с максимумом поглощения на длине волны 561 нм. Перед экспериментом клетки инкубировали с зондом в течение 10 минут. Полученные результаты свидетельствуют о том, что несмотря на выявленную нами ранее митохондриальную дисфункцию, возникающую в данных клетках, основной вклад в гиперпродукцию АФК вносят не митохондрии, а цитозольный фермент НАДФН-оксидаза, высокая активность которого доказана в экспериментах с его ингибиторами – АЕБСФ и DPI.

Применение зондов dihydroetidium и MitoTracker Red CM-H2XRos также было использовано для выявления нарушений работы дыхательной цепи митохондрий в линиях цибридов при наличии ряда мутаций мтДНК. Экспериментально установлено, что в случае некоторых линий цибридов происходит увеличение АФК как в цитозоле клеток, так и в матриксе митохондрий; другие линии характеризуются снижением цитозольных АФК и незначительными изменениями в уровне митохондриальных АФК; в третьем случае при повышенном образовании АФК в матриксе митохондрий уровень окисления H₂Et остается сравнимым с контролем.

Работа выполнена при поддержке гранта Правительства Российской Федерации №075-15-2022-1095.

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ РЕЦЕПТОРА RAGE В ПАТОГЕНЕЗЕ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИСЕРЁГИНА Е.С.¹, КАМЫНИНА А.В.², ВИНОКУРОВ А.Ю.¹, АБРАМОВ А.Ю.^{1,3}¹Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия,
e.s.seryogina@gmail.com²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
РАН, г. Москва, Россия,³UCL Queen Square Institute of Neurology, London, UK

RAGE (рецептор конечных продуктов гликирования) – это мембранный рецептор, который относится к семейству иммуноглобулиновых рецепторов и может связываться с различными молекулами, в том числе с продуктами распада сахаров, амилоидными белками, некоторыми цитокинами, ростовыми факторами и др. RAGE является молекулярным компонентом, который присутствует в организмах и привлекает внимание исследователей в связи с его возможной ролью в патологических процессах. Одна из гипотез состоит в том, что активация RAGE может играть отрицательную роль и способствовать развитию воспаления, окислительного стресса и повреждения тканей, что является частью патогенеза таких заболеваний, как сахарный диабет, сосудистые заболевания и нейродегенерации. В то же время есть предположение о защитной функции RAGE. Некоторые исследования указывают на его важную роль в поддержании гомеостаза клеток и тканей, а также в защите организма от стрессовых условий. Весьма удобным инструментом для оценки данных гипотез являются синтетические фрагменты RAGE, для которых показана способность селективной активации рецептора. Особый интерес представляет синтетический фрагмент (60–76) с аминокислотной последовательностью, идентичной последовательности открытых неструктурных петель V-домена RAGE, для которого на мышинной модели болезни Альцгеймера показано сохранение пространственной памяти, а также снижение уровня бета-амилоида (A β).

Цель данной работы состоит в определении роли RAGE в поддержании окислительного-восстановительного баланса и потенциальной защите клеток первичной нейроглиальной культуры коры головного мозга. В качестве возможных активаторов RAGE использовали синтетические фрагменты участка, входящего в структуру V-домена рецептора (П1-П6).

Определение скорости продукции цитозольных АФК с применением флуоресцентного зонда дигидроэтидий (HEt) показало, что только некоторые фрагменты (П1 и П6) могут активировать выработку АФК. Причем в экспериментах с ингибитором НАДФН-оксидазы DPI и антагонистом RAGE FPS-ZM1 было получено, что это происходит за счет активации рецептора, приводящей к прямому увеличению активности НАДФН-оксидазы. Показанное незначительное снижение уровня восстановленного глутатиона и увеличение перекисного окисления липидов после воздействия П1 и отсутствие изменений в случае П6 при сохранении жизнеспособности клеток, выявленной окрашиванием Hoechst 33342 и йодидом пропидия, позволяют говорить об отсутствии окислительного стресса и физиологичности увеличения продукции АФК, которое может быть реализовано для защиты клеток. Это подтверждается в эксперименте по анализу жизнеспособности клеток при инкубации с A β и фрагментами П1 и П6, который показал, что фрагмент П1 приводит к статистически значимому снижению доли некротических клеток по сравнению с экспериментом, в котором присутствовал только A β .

Полученные результаты позволяют предположить, что RAGE может служить важной терапевтической мишенью при развитии нейродегенеративных процессов, в частности болезни Альцгеймера, а также биомаркером развивающейся патологии, а его фрагменты должны быть изучены далее в рамках поиска наиболее эффективного соединения для терапии.

Работа выполнена при поддержке гранта Правительства РФ № 075–15-2022-1095.

**СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ И АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНОСТИ ИЗОЛИРОВАННЫХ
ОСТРОВКОВ ЛАНГЕРГАНСА**

СЕРЁГИНА Е.С., ЛОКТИОНОВА Ю.И., ЖАРКИХ Е.В., ДРЁМИН В.В.

Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия,
e.s.seryogina@gmail.com

Сахарный диабет (СД) представляет собой хроническое заболевание, характеризующееся повышенным содержанием глюкозы в крови. Гипергликемия, или высокий уровень сахара в крови, обусловлена двумя основными факторами: недостаточным выделением инсулина поджелудочной железой и уменьшением чувствительности клеток к инсулину. Это состояние может вызывать осложнения, затрагивающие различные системы организма. В настоящее время активно исследуются возможности применения фотонных технологий в рамках, так называемой, концепции тераностики для диагностики и лечения осложнений СД. Для этого широко используются разнообразные клеточные и животные модели. Получение изолированных островков Лангерганса лабораторных животных, в том числе при моделировании различных патологий, является важным этапом исследований, связанных с оценкой эффективности терапевтических воздействий на β -клетки и ткани поджелудочной железы.

В рамках данного исследования был разработан протокол для создания отдельной культуры островков Лангерганса (ОЛ). Основная цель – получение жизнеспособной культуры для изучения влияния лазерного излучения и различных химических агентов на метаболизм β -клеток модельных животных в контексте разработки методов терапии и компенсации осложнений СД. Экспериментальный протокол получения изолированных ОЛ был одобрен этическим комитетом ОГУ имени И.С. Тургенева (протокол №18 от 21.02.2020) и соответствовал принципам надлежащей лабораторной практики и этическим нормам организации исследований с участием лабораторных животных.

Предварительно анестезированных животных подвергали срединной лапаротомии. В ткани поджелудочной железы через желчный проток вводили раствор 10 мг/мл коллагеназы, затем извлекали поджелудочную железу в отдельную пробирку для измельчения при помощи стерильных ножниц. После измельчения ткани помещали в отдельную пробирку для ферментации при 37 °С. Очистку ОЛ выполняли путем многократной фильтрации и центрифугирования взвеси клеток. После завершения манипуляций ОЛ помещались на заранее подготовленные покровные стекла и вводились в эксперимент.

Для оценки жизнеспособности полученной культуры было произведено измерение уровня автофлуоресценции НАДН при различных концентрациях глюкозы (3,5 мМ, 8,5 мМ, 18,5 мМ и 38,5 мМ). Увеличение уровня автофлуоресценции НАДН в клетках поджелудочной железы мышей дикого типа при добавлении глюкозы указывает на активацию различных метаболических путей (в том числе, гликолиза). Данные процессы связаны с увеличенной продукцией энергии и поддержанием нормальной физиологии ОЛ, что свидетельствует о благоприятном состоянии культуры. В конце эксперимента добавляли протонофор FCCP (10 мкМ) и KCN (5 мМ) для изменения формы кофермента НАДН. Полученные результаты имеют широкое прикладное значение в контексте понимания метаболических процессов и разработки новых стратегий для лечения СД на основе комплексного анализа функционального состояния β -клеток на клеточных и животных моделях.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №22-75-10088.

Список литературы

1. Lacy P.E., Kostianovsky M. Method for the Isolation of Intact Islets of Langerhans from the Rat Pancreas // Diabetes. – 1967. – Vol. 16. – № 1. – P. 35-39.

IN VITRO ИССЛЕДОВАНИЯ ТОКСИЧНОСТИ ФОРМАЗАНОВ РАЗЛИЧНОГО СТРОЕНИЯ В ОТНОШЕНИИ РАКОВЫХ И ЗДОРОВЫХ КЛЕТОК

СПИРИДОНОВА А.А.¹, БОРОВЛЕВА П.И.², ВЕТРОВА Е.А.³, ВИНОКУРОВ А.Ю.^{1,3}

¹БУ ОО ДО «Дворец пионеров и школьников им. Ю.А. Гагарина», детский технопарк «Кванториум», г. Орёл, Россия spirana197@gmail.com

²Гимназия №1 Орловского государственного университета имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия

³Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия

По данным ВОЗ, рак – вторая причина смерти в мире. Существующие стратегии лечения все еще далеки от желаемого уровня эффективности, а также обладают побочными эффектами, что сохраняет актуальным поиск новых подходов [1]. Перспективным способом увеличения эффективности химиотерапии при лечении онкологических заболеваний могут стать формазаны. Ввиду разнообразия их строения весьма важно установление связи между структурой соединений и их токсичности в отношении как раковых, так и здоровых клеток [2].

Целью настоящей работы являлось исследование влияния образцов формазанов на раковые клетки различного вида на примере клеток мышинной меланомы В16 и мышинной гепатокарциномы Н33, а также на здоровые клетки (линия клеток эпителия почки MDCK).

Определение жизнеспособности клеток методом флуоресцентной микроскопии с применением красителей Hoechst 33342 и йодида пропидия, показало, что при дозе 3 мкг/мл в ростовой среде происходила гибель 100% клеток (в случае многих формазанов происходило открепление клеток от покровных стекол). Доза 0,3 мкг/мл также значительно ухудшала состояние культуры раковых клеток, приводя к развитию апоптоза, но не некроза (процент погибших клеток варьировался от 3,15 % до 100 %). Однако цитотоксический эффект зависел от химического строения формазанов. Статистически незначимое отличие от контроля доли погибших в случае MDCK клеток позволяет предположить высокую специфичность действия соединений в отношении именно опухолевых клеток. Анализ литературы показывает, что влияние формазанов на рост клеток может быть связан с хелатированием важных биогенных металлов, в частности железа и меди. Мы предположили, что различия в цитотоксичности наших соединений определяются особенностями их участия в комплексообразовании. Для проверки этой гипотезы нами было использовано свойство формазанов к флуоресценции, которое должно изменяться при их взаимодействии с металлами. При проведении эксперимента готовили растворы, содержащие разные количества железа или меди и одинаковое количество одного из формазанов, с последующим получением спектров флуоресценции растворов. Анализ формы спектров, а также величины интенсивности максимума флуоресценции показал наибольшую способность к хелатированию металлов в случае соединения с максимальной антираковой активностью. В то же время два других формазана с высокой токсичностью в отношении раковых клеток значительной хелатирующей способности не показали. Мы можем предполагать, что связывание ионов металлов может быть лишь составным элементом механизма стимулирования гибели клеток, который, однако, является более сложным.

Список литературы

1. Cancer tomorrow: [electronic resource] // International Agency for Research on Cancer. - <https://gco.iarc.fr/tomorrow/en>

2. Azeez, H.M., Aljamali, N.M., Synthesis and Characterization of New Trimethoprim-Formazan Derivatives with Studying Them against Breast Cancer Cells // International Journal of Biochemistry and Biomolecules. – 2021. – Vol. 7 (1). – P. 10.37628.

ПОИСК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫХ НАПРАВЛЕНИЙ ОТ β -АМИЛОИДНОЙ НЕЙРОТОКСИЧНОСТИ

СТЕЛЬМАЩУК О.А.

Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия,
o.a.stelmashuk@gmail.com

Многие исследования связывают нейродегенеративные заболевания с митохондриальной дисфункцией. Основная особенность болезни Альцгеймера (БА) представляет собой осаждение внеклеточных нейритических бляшек и внутриклеточных нейрофибрилляционных клубков, которые соответствуют агрегированным белкам: β -амилоид, тау.

Хотя молекулярные и клеточные механизмы патогенеза БА в основном остаются неясными, исследователями было предложено несколько потенциальных механизмов нарушения кальциевой сигнализации. Учитывая важность митохондриального Ca^{2+} в механизме нейродегенерации, были протестированы соединения, влияющие на поступление кальция в митохондрии, чтобы изучить, как фармакологическое ограничение транспорта Ca^{2+} в митохондрии защищает нейроны против β -амилоидной гибели в первичных нейрональных культурах. Наряду с индукцией окислительного стресса при нейродегенеративных заболеваниях, АФК играют важную роль в окислительно-восстановительной сигнализации (редокс-сигнале). Одной из форм АФК является синглетный кислород. Применение низких доз синглетного кислорода потенциально может быть использовано для сохранения нейронов в условиях накопления аномально агрегированных белков, поэтому, генерация в клетках синглетного кислорода воздействием лазера с длиной волны 1267 нм потенциально может иметь нейропротекторный эффект.

При проведении исследований были использованы современные методы, включающие конфокальную и флуоресцентную микроскопию с применением флуоресцентных зондов. Объектам исследования служила первичная нейроглиальная культура 12 DIV коры мозга крыс. Для создания токсичной модели болезни Альцгеймера применяли короткий фрагмент нейротоксического пептида β -амилоида 25-35 (Bachem, Switzerland).

Исследования показали, что не полное ограничение поглощения Ca^{2+} митохондриями защищает нейроны от β -амилоидной нейротоксичности в первичных нейрональных культурах. Применение выработки синглетного кислорода при облучении лазером с длиной волны 1267 нм в качестве защитного и восстанавливающего действия на митохондриальный Ca^{2+} в токсической модели БА *in vitro* повысило выживаемость клеток в два раза.

Результаты, описанные в данной работе, позволяют расширить понимание роли митохондриального кальция в развитии нейрональной клеточной гибели, а также предлагать эффективные нейропротекторные воздействия.

Работа выполнена при поддержке гранта Правительства Российской Федерации №075-15-2022-1095.

Список литературы

1. E. F. Shevtsova, et al. Pharmacological sequestration of mitochondrial calcium uptake protects against dementia and β -amyloid neurotoxicity // Sci. Rep. – 2022. – Vol. 12. – № 1. – P. 1-17.
2. Sokolovski, S. G., Rafailov, E. U., Abramov, A. Y., Angelova P. R., Singlet oxygen stimulates mitochondrial bioenergetics in brain cells // Free Radical Biology and Medicine. – 2021. – Vol. 163. – P. 306-313.

СКРИНИНГ ПРОТОКОЛОВ ВЫДЕЛЕНИЯ НЕЙТРОФИЛОВ ИЗ КОСТНОГО МОЗГА И СЕЛЕЗЕНКИ МЫШИСУНБУЛИ Х.^{1,2}, АЛЕКСЕЕВА Л.А.¹, МАРКОВ О.В.¹, МИРОНОВА Н.Л.¹¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины, г. Новосибирск, Россия,²Новосибирский Государственный Университет, г. Новосибирск, Россия,
khetam.sounbuli.edu@gmail.com

Нейтрофилы являются одними из главных участников врожденного иммунитета и представляют собой первую линию защиты от патогенов. В последние несколько лет нейтрофилы привлекают много внимания благодаря открытию у них новых функций. Однако прогресс в области физиологии нейтрофилов происходит относительно медленно из-за ряда трудностей с их выделением и изучением в культуре. Мы сравнили четыре протокола выделения нейтрофилов мыши из костного мозга (КМ) и селезенки с точки зрения выхода, жизнеспособности и чистоты.

Выделение нейтрофилов проводили из КМ и селезенки самцов мышей C57Bl/6 (3 – 4 мес.) с использованием градиентов плотности фиколла 1.077/1.119 и 1.083/1.090/1.110 г/мл или иммуномагнитного метода негативной селекции (ИНС) или положительной селекции (ИПС). В случае КМ жизнеспособность клеток была высокой (90% и более) независимо от протокола выделения. При выделении нейтрофилов методом ИПС были получены образцы с высокой чистотой (96.47 ± 3.0), но с выходом ($(4.3 \pm 1.4) \times 10^6$ клеток). Как и ожидалось, при выделении нейтрофилов методом ИНС были получены образцы с высокой чистотой ($77.0 \pm 5.6\%$), и с высоким выходом ($(13.5 \pm 1.6) \times 10^6$ клеток). В сравнении с выделением иммуномагнитными методами выделение с использованием двуслойного градиента плотности Ficoll.077/1.119 было сопоставимо как по чистоте образцов (65.5 ± 2.6), так и по количеству полученных клеток ($(8.7 \pm 3.7) \times 10^6$ клеток). Протокол с использованием трехслойного градиента плотности Ficoll 1.083/1.090/1.110 показал минимальную эффективность.

Нейтрофилы селезенки вызывают большой интерес, поскольку они могут отражать функциональное состояние нейтрофилов, выполнивших свою роль в организме и поступивших в селезенку для клиренса. Ни методы центрифугирования в градиенте плотности, ни метод ИНС не подошли для выделения нейтрофилов из селезенки (чистота образцов составила 5-40%). Полученные методом ИПС образцы нейтрофилов характеризовались высокой чистотой ($97.9 \pm 0.6\%$), жизнеспособностью (88.5 ± 4.5) и выходом $(0.7 \pm 0.2) \times 10^6$ клеток из одной селезенки.

Была исследована функциональная активность нейтрофилов КМ, выделенных с использованием протокола Ficoll 1.077/1.119 и функциональная активность нейтрофилов селезенки, выделенных с использованием ИПС. Изолированные нейтрофилы из КМ демонстрировали умеренную активность и формировали внеклеточные ловушки в ответ на активацию с помощью PMA, но не LPS. Изолированные нейтрофилы из селезенки показали повешенную спонтанную активацию, и формировали внеклеточные ловушки в ответ на активацию PMA и LPS.

Таким образом, протокол центрифугирования в двухслойном градиенте плотности Ficoll 1.077/1.119 г/мл и метод отрицательной селекции рекомендуется для выделения нейтрофилов из костного мозга. Для получения нейтрофилов селезенки предпочтительно использовать метод иммуномагнитной положительной селекции.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 22-14-00289.

БОЛЕЗНЬ ВИЛЬСОНА-КОНОВАЛОВА В ДЕТСКОМ ВОЗРАСТЕ: ОСОБЕННОСТИ ПАТОФИЗИОЛОГИИ И КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ

ТЕРЕХОВА Ю.Ю., ВАСИНА Т.Н., ГРЕЧИХИНА К.А.

Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия,
doc.terekhova@mail.ru

Актуальность. Болезнь Вильсона-Коновалова (БВК) – редкое тяжелое полисистемное прогрессирующее заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования.

Цели и задачи исследования. Оценить и выделить основные патофизиологические особенности и клинические проявления БВК, разработать методические рекомендации по диспансерному наблюдению за детьми с БВК для врачей практического здравоохранения.

В основе патофизиологии БВК лежат мутации в гене АТР7В, кодирующего белок медь-переносящую АТФ-азу, что приводит к избыточному накоплению ионов меди в органах-мишенях.

Избыток содержания меди в клетке запускает процессы перекисного окисления, что нарушает функции плазматической и митохондриальной ДНК, лизосомальных ферментов, снижает активность антиоксидантной системы. Образующийся при этом малоновый диальдегид стимулирует пролиферативные процессы в органах-мишенях. [1,2].

Клинические проявления БВК полисистемны, манифестация заболевания чаще происходит в подростковом возрасте. Как правило, симптоматика поражения печени первична и проявляется в виде гепатомегалии, хронического или фульминантного гепатита, цирроза печени. К другим симптомам БВК относят неврологические и психиатрические проявления, нефролитиаз, нарушение функции почек, кардиомиопатию, задержку пубертатного развития, формирование колец Кайзера-Флейшера. Без лечения заболевание неуклонно прогрессирует. Золотым стандартом диагностики является определение суточной экскреции меди с мочой (>100 мкг), определение уровня церрулоплазмина (<20 мг/дл) и меди (<1 мг/л) в сыворотке крови. Молекулярно-генетическая диагностика позволяет выявить варианты мутаций гена АТР7В. Лечение заключается в назначении диеты с исключением продуктов богатых медью (шоколад, орехи и т.д.) и пенициллина, который ускоряет выведение излишков меди с мочой [1,2].

Представление клинического случая ребенка 14 лет с диагнозом: болезнь Вильсона-Коновалова, абдоминальная форма. При первичном обращении в возрасте 14 лет была выявлена гепатомегалия, синдром цитолиза. На этапе обследования в педиатрическом отделении «НКМЦ им. З.И. Круглой» подтвержден синдром гепатомегалии, цитолиза. Показатели меди и церрулоплазмина в сыворотке крови, экскреция меди с мочой находились в пределах пограничных значений. В федеральном центре г. Москвы проведено молекулярно-генетическое исследование и диагноз БВК был подтвержден. Ребенок получает специализированную диету и пеницилламин, состояние с положительной динамикой, наблюдение продолжается.

Заключение. Ранняя диагностика метаболических заболеваний и своевременное назначение патогенетического лечения предотвращает необратимые изменения внутренних органов и тканей, что снижает риск инвалидизации детей, повышает качество их жизни, социализацию в обществе.

Список литературы

1. Захарова Е.Ю., Пивницкая О.В., Костенко Е.А., Калинина Е.А., Костинова А.А. Заболевание Вильсона-Коновалова: молекулярно-генетические аспекты, клиника, диагностика и лечение // Вопросы практической педиатрии. – 2018. – Т.13. – №3. – С. 48-55.
2. Нарушение обмена меди (болезнь Вильсона) // Клинические рекомендации. 2023 год.

**ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ У ДЕТЕЙ ПРИ
ДЕФИЦИТЕ АЛЬФА-1-АНТИТРИПСИНА**

ТЕРЕХОВА Ю.Ю., ВАСИНА Т.Н., КРОШИНА Л.Ю.

Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия,
doc.terekhova@mail.ru

Актуальность. Дефицит А1-антитрипсина (А1АТ) – генетически обусловленное заболевание, сопровождающееся снижением А1АТ в сыворотке крови, что приводит к поражению печени, бронхолегочной системы и других органов.

Цели и задачи исследования. Оценить и выделить основные звенья патогенеза поражения печени в детском возрасте при дефиците А1АТ; разработать методические рекомендации по диспансерному наблюдению за детьми с дефицитом А1АТ для врачей практического здравоохранения.

Недостаточность А1-антитрипсина – это наследственная патология с аутосомно-рецессивным типом наследования, обусловленная мутациями в гене SERPINA1 или Pi. К основным дефицитным аллелям относят S и Z, они обуславливают снижение концентрации А1АТ в сыворотке крови. При этом типе мутации синтезируется дефектный PiZ-белок, который не растворяется в эндоплазматическом ретикулуме и не проникает через мембраны гепатоцитов, вследствие чего происходит его накопление в клетках печени и развитие гепатотоксического эффекта. Постепенно формируется фиброз печени, внутриспеченочный холестаз, билиарная атрезия. В ряде случаев манифестация заболевания отмечается в неонатальном периоде симптомами гепатита – иктеричность кожи и склер, гепато- или гепатоспленомегалия, ахоличный стул, гипербилирубинемия. На первом году жизни присоединяется задержка физического и нервно-психического развития. У некоторых больных заболевание быстро прогрессирует с формированием цирроза печени. Для верификации диагноза используют определение уровня А1АТ в сыворотке крови. Всем пациентам, у которых выявлено отклонение уровня фермента от референтных значений, показано проведение фенотипирования и генотипирования для выявления дефицитных аллелей. При поражении гепатобилиарного тракта использование специфической заместительной терапии А1АТ не эффективно. Для поддержания процессов метаболизма в печени показано применение урсодезоксихолиевой кислоты (УДХК). При формировании цирроза – трансплантация печени [1,2].

Представление клинического случая. Под нашим наблюдением находился мальчик 12 лет с диагнозом: дефицит А1-антитрипсина, ассоциированный с PiSZ. При первичном обследовании была выявлена гепатоспленомегалия, умеренная непрямая гипербилирубинемия, дважды выявлено снижение уровня А1АТ ниже референсных значений. Ребенок консультирован генетиком, проведено фенотипирование, которое выявило PiSZ дефицитные аллели. В настоящее время получает курсами УДХК. Состояние стабильное, фиброз печени не прогрессирует.

Заключение. Дефицит А1АТ остается редко диагностируемым заболеванием. Все дети с гепатомегалией, фиброзом печени неясной этиологии должны быть обследованы на дефицит А1АТ, что поможет остановить прогрессирование изменений со стороны печени и вовлечение других органов в патологический процесс.

Список литературы

1. Каганов Б.С., Багаева М.Э., Баканов М.И., Басистова А.А., Глаголев Н.А., Готье С.В., Дворяковская Г.М. Детская гепатология. Москва: Династия, 2009 – С. 345-348, 429-430.
2. Клинические рекомендации. Дефицит альфа-1-антитрипсина у взрослых. – 2017.

ОЦЕНКА КЛЕТОЧНЫХ НАРУШЕНИЙ В МОДЕЛЯХ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА
ФЕДОТОВА Е.И., КРИЦКАЯ К.А., БЕРЕЖНОВ А.В.

Институт биофизики клетки Российской академии наук – обособленное подразделение
Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный
исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований
Российской академии наук», г. Пушкино, Россия, delf-fenka@rambler.ru

Болезнь Паркинсона (БП) – распространенное нейродегенеративное заболевание, возникающее вследствие гибели дофаминергических нейронов в черной субстанции. Отсутствие эффективных способов лечения БП способствует детальному изучению механизмов, лежащих в основе нарушений, вызывающих потерю нейронов. Для проведения исследований *in vitro* существует потребность в использовании различных экспериментальных моделей, воспроизводящих клеточные нарушения при БП. К таким нарушениям относят повреждение митохондрий (МХ), окислительный стресс, изменения контроля качества МХ, накопление агрегатов альфа-синуклеина, стресс эндоплазматического ретикулума и нарушения Ca^{2+} -сигнализации. В качестве клеточных моделей используют первичные нейроглиальные культуры, пересеваемые клеточные линии, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки. Существуют токсические модели, которые создаются путем обработки клеток нейротоксинами (MPP⁺, 6-OHDA, ротенон), и наследственные модели, основанные на изменении экспрессии генов, приводящих к развитию БП (альфа-синуклеин, PINK1, Parkin, LRRK2). Целью данной работы было: оценить изменения внутриклеточных параметров в наследственной и токсической моделях БП.

Эксперименты проводились методами конфокальной, флуоресцентной микроскопии и с применением ПЦР в реальном времени на токсической клеточной модели БП – культуре нейробластомы SH-SY5Y, обработанной нейротоксином MPP⁺, а также на фибробластах человека с мутациями в генах PINK1, LRRK2, ассоциированных с БП.

В работе было показано, что в MPP⁺-индуцированной модели уровень внутриклеточного pH не изменялся, при этом в клетках с мутацией PINK1 уровень pH был ниже, чем в контрольной культуре фибробластов. Уровень митофагии в токсической модели был повышен, а также увеличено количество индивидуальных МХ и уменьшена их относительная длина. В наследственных моделях базальная митофагия не была увеличена, при этом было показано, что в клетках PINK1 изменена длина МХ в митохондриальных сетях и индивидуальных МХ. В культуре нейробластомы, обработанной MPP⁺, наблюдались: сверхпродукция АФК, нарушения биоэнергетического состояния митохондрий (понижены митохондриальный потенциал, окислительно-восстановительный индекс NADH, уровень восстановленного глутатиона), в фибробластах с мутациями была повышена скорость продукции митохондриальных АФК, выявлены нарушения биоэнергетики и понижена кальциевая буферная емкость МХ. Количество нежизнеспособных клеток в токсической модели БП было повышено относительно контроля, а в мутантных культурах это значение не изменялось по сравнению с контрольными фибробластами.

Таким образом, в работе было показано, что в токсической MPP⁺-индуцированной клеточной модели уровень внутриклеточного pH не изменялся, было нарушено состояние митохондрий и процессы контроля качества митохондрий, а также увеличено количество мертвых клеток по сравнению с контрольной культурой нейробластомы. В фибробластах с мутацией PINK1 уровень pH был понижен, нарушены биоэнергетическое состояние митохондрий и морфология митохондриальной сети, при этом жизнеспособность клеток в мутантных культурах не отличалась от таковой в контрольной культуре.

Работа выполнена в рамках госзадания № 075-01512-22-03 по теме:
«Нейропротекторные препараты нового поколения» № 1022080100047-5-1.6.4.

УДК 571.27

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕТЕРОМЕРНЫХ НИКОТИНОВЫХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ (НАХР) НА МОНОЦИТАРНОЙ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ ЧЕЛОВЕКА И ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ИЗ НЕЕ МАКРОФАГАХ

ХОЛОШЕНКО И.В.^{1,2}, ШЕЛУХИНА И.В.²

¹ Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева, г. Москва, Россия, support@muctr.ru

² Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Москва, Россия, office@ibch.ru

Моноциты и дифференцированные из них макрофаги различных фенотипов выполняют важную функцию в организме, продуцируя цитокины. В связи с чем данные клетки участвуют в патогенезе заболеваний воспалительной природы, например, сепсиса. Ранее были получены данные для $\alpha 7$ -подтипа НАХР, активация которого лежит в основе «холинергического противовоспалительного пути», но роль гетеропентамерных НАХР мало изучена.

Актуальность работы связана с тем, что сепсис является высоколетальным и широко распространенным патологическим процессом, который может развиваться как осложнение практически после любого инфекционного заболевания, но на данный момент механизмы воспалительных процессов и разработанные пути лечения недостаточно эффективны.

Целью работы является дифференцировка моноцитов в неполяризованные, классически и альтернативно поляризованные макрофаги, инкубация данных клеток с агонистами, антагонистами и аллостерическими модуляторами для дальнейшего определения экспрессии мРНК субъединиц НАХР.

В работе использовали моноцитарную клеточную линию человека ТНР-1. Проводили дифференцировку в неполяризованные макрофаги при добавлении форбол-12-миристат-13-ацетата, далее клетки поляризовали в макрофаги М1 с помощью липополисахарида *E.coli* и в М2 с помощью интерлейкина-13 и интерлейкина-4. Методом ПЦР в реальном времени на приборе BioRad CFX96 изучался субъединичный состав НАХР.

Для макрофагов М0, М1 и М2 была обнаружена экспрессия мРНК субъединиц НАХР: $\alpha 4$, $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\alpha 9$, $\alpha 10$, $\beta 2$, $\beta 4$. Дифференцировка моноцитов клеточной линии ТНР-1 в неполяризованные макрофаги приводила к снижению экспрессии мРНК $\alpha 7$ НАХР и увеличению $\alpha 9$, $\beta 2$, $\beta 4$ субъединиц НАХР. При классической поляризации макрофагов было обнаружено снижение уровня мРНК $\alpha 9$ и $\beta 2$, $\beta 4$ субъединиц фактически до их уровня представленности в исходных моноцитах ТНР-1. Альтернативная поляризация макрофагов приводила к дальнейшему повышению уровня мРНК $\alpha 5$ и $\alpha 9$ субъединиц НАХР. Также стоит отметить, что комбинация агониста PNU 282987 и аллостерического модулятора PNU 120596, которые действуют на $\alpha 7$ субъединицу НАХР, показали значительное увеличение экспрессии мРНК $\alpha 7$ и $\beta 2$ субъединиц, а добавление α -кобротоксина для различных фенотипов приводила к понижению экспрессии мРНК данных субъединиц, что может свидетельствовать о комбинации $\alpha 7\beta 2$ рецептора и взаимосвязи $\alpha 7$ и $\alpha 9$ субъединиц НАХР.

Полученные данные о изменении экспрессии мРНК субъединиц для моноцитов и различных фенотипов макрофагов могут указывать на потенциально важную роль гетеромерных никотиновых ацетилхолиновых рецепторов в специфических защитных реакциях иммунных клеток. Данные исследования в дальнейшем могут помочь в разработке новых путей медикаментозной терапии при сепсисе и заболеваниях иммуносупрессивной и воспалительной природы.

Работа поддержана грантом РФФИ № 22-24-00769.

УДК: 576.53

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ СРАВНЕНИЕ ИЗУЧЕНИЯ ГЕПАТОТОКСИЧНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА МОДЕЛИ *IN VIVO* И *IN VITRO*

ЦЫМБАЛЮК В.В., МИШИНА Е.С., ЗАТОЛОКИНА М.А.

Курский государственный медицинский университет, г. Курск, Россия, vadimz2552@mail.ru

На сегодняшний день исследование гепатотоксичности лекарственных средств становятся все более актуальными, в связи с развитием медицинской науки в целом, так и клеточной биологии. Все больше механизмов индивидуальной чувствительности к действию лекарственных средств изучается ведущими лабораториями морфологов, генетиков, биохимиков [1]. Таким образом, появляется необходимость адекватной трактовки результатов исследований, проводимых на лабораторных животных, их экстраполяции на человека и оценки результатов исследований, проводимых *in vitro*.

Целью исследования является сравнение моделей клеточных культур гепатоцитов и классических животных моделей при исследовании гепатотоксичности.

Исследование проведено на базе НИИ экспериментальной медицины, лаборатории морфологии и клеточных технологий Курского государственного медицинского университета. Были сформированы две опытные группы и две группы контроля. В первой опытной группе была выделена культура гепатоцитов крыс линии Вистар, которую культивировали в среде с добавлением ацетаминофена в токсической концентрации. Во второй опытной группе использовали лабораторных животных, которым было перорально введен ацетаминофен в токсических дозах. На следующие сутки животные выводились из эксперимента путем передозировки средств для наркоза, и препарировались. Из ткани печени были изготовлены гистологические препараты, окрашенные гематоксилином и эозином. Контрольные группы представляли собой интактную культуру гепатоцитов и гистологические препараты печени интактных лабораторных крыс. Проводилась световая микроскопия препаратов и культуры клеток с морфометрией и статистической обработкой данных в программе Microsoft Excel.

В первой опытной группе в культуре клеток наблюдалось замедление роста культуры, выявлено снижение количества выживших клеток на 56,6%, по сравнению с контролем. Морфологически отмечается гепатоциты с признаками кариорексиса и кариолизиса. Некоторые клетки содержали жировые включения в цитоплазме, что может говорить о метаболических нарушениях. Во второй опытной группе исследованы биопсийные препараты печени крыс. Наблюдали картину диффузного стеатогепатоза с явлениями централобулярных некрозов. Центральные вены полнокровны, архитектоника ткани печени сохранена.

В обеих опытных группах получены схожие изменения, показывающие характер повреждения гепатоцитов, что может говорить о взаимозаменяемости моделей, основанных на клеточном культивировании, и классических животных моделей в исследовании гепатотоксичности. Модель *in vitro* имеет недостатки в виде отсутствия возможности оценки архитектоники ткани, однако, позволяет получать множественный пул клеток от одного животного, тем самым провести серию эксперимента без крупного расхода лабораторных животных, руководствуясь как гуманными, так и материально-экономическими соображениями. Помимо этого, клеточная модель имеет преимущество в виде изучения процесса на клеточном уровне, поскольку межклеточное взаимодействие играет не менее важную роль в распределении токсического вещества. Модель *in vivo* имеет недостаток при изучении токсического действия в виде сложности подбора токсической дозы, ввиду распределения вещества по организму животного и накопления токсической концентрации.

Список литературы

1. Еремина, Е. Ю. Лекарственные поражения печени / Е. Ю. Еремина // Поликлиника. – 2020. – № 6. – С. 34-40.

**ИССЛЕДОВАНИЕ НАРУШЕНИЙ КАЛЬЦИЕВОГО ГОМЕОСТАЗА И
БИОЭНЕРГЕТИКИ В КЛЕТКАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА С ЭКСПРЕССИЕЙ
АБЕРРАНТНОГО БЕЛКА FUS [1-359] МЕТОДАМИ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ
МИКРОСКОПИИ**

ШИТИКОВА Е.Ю.¹, БАЖЕНОВ П.А.¹, ЖУНУСОВ Н.С.², ВИНОКУРОВ А.Ю.¹

¹Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия,
e_shitikova_02@mail.ru

²НИУ «БелГУ», г. Белгород, Россия

Флуоресцентные зонды стали незаменимыми инструментами в клеточной биологии благодаря высокой селективности и чувствительности к рассматриваемым параметрам состояния объектов исследований. Особое значение приобрели ратиометрические зонды, принцип действия которых заключается в смещении длины волны максимума возбуждения или эмиссии в результате изменений, происходящих в клетках. По сравнению с другими флуорофорами они позволяют исключить погрешности измерений, обусловленные неравномерным распределением зонда, изменениями фокусировки в ходе эксперимента, фотобликингом и рядом других процессов [1]. Помимо этого, получаемый флуоресцентный сигнал может быть сравнительно легко преобразован в концентрацию влияющих на его величину соединений. Ратиометрические зонды нашли широкое применение для оценки состояния внутриклеточных Ca^{2+} и Mg^{2+} , позволяющей провести изучение нарушений клеточной биоэнергетики и связанных с ними процессов. Это является крайне актуальным в исследованиях нейродегенеративных заболеваний, для которых изменения в энергозатратном поддержании кальциевого гомеостаза являются весьма распространенными составляющими патологии [2]. Часто используемыми ратиометрическими зондами для определения концентраций Ca^{2+} и Mg^{2+} являются Fura-2 и Mag-Fura-2 соответственно. Оба красителя имеют максимумы возбуждения флуоресценции свободной формы 380 нм и связанной с металлом – 340 нм. Благодаря высокому сродству к Mg^{2+} и низкому – к Ca^{2+} , Mag-Fura-2 позволяет как контролировать изменения внутриклеточного уровня АТФ, так и определить время до полного истощения макроэрга при блокировании его синтеза в клетке [3].

Данные зонды были нами использованы при исследовании клеток коры головного мозга мышей с мутантным белком FUS [1-359], являющихся моделью бокового амиотрофического склероза (БАС). Показано, что период поддержания способности к сохранению градиента Ca^{2+} при блокировании синтеза АТФ выше в астроцитах и нейронах мутантов в сравнении с клетками дикого типа (ДТ). С учетом ранее показанной дисфункции митохондрий и, вероятно, связанным с ним снижением уровня макроэрга [4] это может свидетельствовать о значительных нарушениях в протекании потребляющих энергию внутриклеточных процессах. Данное предположение находит подтверждение в результатах исследования кальциевой сигнализации с использованием Fura-2, которые показывают, что в клетках головного мозга нарушены механизмы регуляции внутриклеточного Ca^{2+} , длительное увеличение концентрации которого в цитоплазме может приводить к развитию патологии.

Работа выполнена при поддержке гранта Правительства РФ №075-15-2022-1095.

1. Kao J. P. Practical aspects of measuring $[Ca^{2+}]$ with fluorescent indicators // *Methods in cell biology*. – 1994. – Vol. 40. – P. 155-181.
2. Erecińska M., Silver I. A. Ions and energy in mammalian brain. *Progress in neurobiology*. – 1994. – Vol. 43. – №. 1. – P. 37-71.
3. Нурс К. Л., Бовник Дж. М., Голдберг М. П. Ionic selectivity of low-affinity ratiometric calcium indicators: mag-Fura-2, Fura-2FF and BTC // *Cell calcium*. – 2000. – Vol. 27. – №. 2. – P. 75-86.
4. Smith E. F., Shaw P. J., De Vos K. J. The role of mitochondria in amyotrophic lateral sclerosis // *Neuroscience letters*. – 2019. – Vol. 710. – P. 132933.

Секция 2

**Применение методов биофотоники в
медико-биологической практике**

**ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ГИПЕРСПЕКТРАЛЬНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ДЛЯ
ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ТКАНЕЙ КИШЕЧНИКА ПРИ
МОДЕЛИРОВАНИИ ЛОКАЛЬНОЙ ИШЕМИИ**

АДАМЕНКОВ Н.А.^{1,2}, ШУПЛЕЦОВ В.В.¹, ГОРЮНОВ И.А.¹, ПАЛАЛОВ А.А.¹,
КАЛУГА Н.И.¹, РОДИОНОВ В.С.¹, МАМОШИН А.В.^{1,2}, ПОТАПОВА Е.В.¹,
ДРЁМИН В.В.¹, ДУНАЕВ А.В.¹

¹Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия,
nikita-ad@mail.ru

²БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница», г. Орёл, Россия

Острая ишемия кишечника — это группа заболеваний, характеризующаяся нарушением кровоснабжения, приводящим к развитию ишемии и вторичным патологическим изменениям. Объективная интраоперационная оценка жизнеспособности кишечной стенки остается важным вопросом в хирургии [1]. Применение гиперспектральной визуализации для определения жизнеспособности кишечника является перспективным направлением в разработке объективного метода для оценки ишемии и некроза кишечника [2,3].

Целью нашего исследования является улучшение результатов диагностики нарушения кровоснабжения тканей кишечной стенки у малых модельных животных на основе применения метода гиперспектральной визуализации.

Материалом для проведения исследования явились 9 клинически здоровых половозрелых лабораторных крыс линии Wistar. В качестве объекта исследования рассматривалась модель ишемии кишечника у малого модельного животного при нарушении мезентериального кровотока с формированием лигатуры, перекрывающей питающий сосуд во время лапаротомии. Релапаротомию производили через 1, 6 и 12 часов, и проводилась интраоперационная оценка жизнеспособности тканей кишечника с применением визуального метода Керте и с применением гиперспектральной камеры.

В результате исследования получены двухмерные цветовые карты тканевой сатурации кишечника на различных этапах моделирования ишемии, коррелирующие с морфологическими изменениями кишечной стенки от обратимой ишемии до некроза. Резекция кишечника с забором фрагментов на морфологическое исследование выполнялось в соответствии с временными интервалами наложения лигатур.

Применение гиперспектральной визуализации обеспечивает неинвазивную и объективную интраоперационную оценку кишечной стенки с ишемическим повреждением. Это может качественно улучшить выполнения оперативных вмешательств при ишемическом характере повреждении кишечника.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда в рамках проекта №21-15-00325.

Список литературы

1. Родин А.В., Плешков В.Г. Интраоперационная оценка жизнеспособности кишки при острой кишечной непроходимости // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2016. – № 15(1). – С. 75-82.
2. Nishidate I, Tanaka N, Kawase T, Maeda T, Yuasa T, Aizu Y, Yuasa T, Niizeki K. Noninvasive imaging of human skin hemodynamics using a digital red-green-blue camera // Journal of biomedical optics. – 2011. – Vol. 16(8). – P. 086012-086012.
3. Zherebtsov E, Dremin V, Popov A, Doronin A, Kurakina D, Kirillin M, Meglinski I, Bykov A. Hyperspectral imaging of human skin aided by artificial neural networks // Biomedical optics express. – 2019. – Vol. 10(7). – P. 3545-3559.

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТЕЙ МЕТОДА ЛАЗЕРНОЙ СПЕКЛ-КОНТРАСТНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ПРИ ДОСТАВКЕ И РЕГИСТРАЦИИ ИЗЛУЧЕНИЯ ЧЕРЕЗ ОПТИЧЕСКИЕ КАНАЛЫ ЛАПАРОСКОПА

ГОЛУБОВА Н.В.¹, АДАМЕНКОВ Н.А.^{1,2}, ПРИЗЕМИН В.Н.¹, ДУНАЕВ А.В.¹,
ДРЁМИН В.В.¹, ПОТАПОВА Е.В.¹

¹ОГУ имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия, nadin.golubova@inbox.ru

²БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница», г. Орёл, Россия

На данный момент ишемическое поражение кровеносных сосудов кишечника является одним из наиболее опасных состояний среди болезней органов пищеварения. При этом важной проблемой остается отсутствие экономически доступных и объективных методов диагностики нарушений мезентериального кровообращения, и, как следствие, промедление с постановкой диагноза, что ведет к возникновению осложнений во время и после операционного вмешательства [1].

Одним из перспективных оптических методов диагностики нарушений микрогемодинамики является лазерная спекл-контрастная визуализация (ЛСКВ), позволяющая определять интенсивность кровотока в сосудах [2], однако открытым остается вопрос технической совместимости метода ЛСКВ с лапароскопическим оборудованием [3]. Таким образом, целью данной работы явилась реализация спекл-контрастных измерений при совмещении источника когерентного излучения со стандартным осветительным портом лапароскопа и проведение тестовых экспериментов на модели ишемии кишечника.

Было осуществлено совмещение лазерного источника с длиной волны 785 нм с осветительным портом лапароскопа посредством специально разработанного оптического волокна со стандартным оптическим разъемом, а также установка на лапароскоп монохромной камеры UI-3360CP-NIRGL для регистрации изображений. Объектами исследования были выбраны 2 лабораторные крысы линии Wistar возрастом 4 месяца. Исследования были одобрены Этическим комитетом Орловского государственного университета (протокол №27 от 17 мая 2023).

Для оценки чувствительности собранной системы к различной интенсивности кровотока в сосудах кишечника анестезированные животные были подвергнуты лапаротомии с ишемией части сосудов, питающих кишечник, а также с последующей реперфузией. Данные регистрировались до создания ишемии, после 3 часов ишемии, сразу после реперфузии и спустя 10 минут после реперфузии. Далее массив данных обрабатывался с использованием специально разработанного алгоритма.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности успешной интеграции источников когерентного излучения в осветительный канал лапароскопа, а также о достаточной чувствительности собранной экспериментальной системы к изменениям в интенсивности кровотока в биологических тканях.

Исследование выполнено при поддержке РФФИ в рамках проекта №22-75-10088.

Список литературы

1. А.В. Родин, В.Г. Плешков, Интраоперационная оценка жизнеспособности кишки при острой кишечной непроходимости // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2016. – №1. – С. 75-82.
2. D.A. Boas, A.K. Dunn, Laser speckle contrast imaging in biomedical optics // J. Biomed. Opt. – 2010. – Vol. 15. – P. 011109.
3. Potapova, E.V., Seryogina, E.S., Dremine, V.V., Stavtsev, D.D., Kozlov, I.O., Zherebtsov, E.A., Mamoshin, A.V., Ivanov, Y.V., Dunaev, A.V. Laser speckle contrast imaging of blood microcirculation in pancreatic tissues during laparoscopic interventions // Quantum Elec. 2020. – Vol. 50(1). – P.33-40.

**СИСТЕМА ГИПЕРСПЕКТРАЛЬНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
МИКРОЦИРКУЛЯТОРНЫХ НАРУШЕНИЙ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ**

ГОРЮНОВ И.А.¹, ШУПЛЕЦОВ В.В.¹, АДАМЕНКОВ Н.А.^{1,2}, ЖУРИЛО И.П.¹,
ПОТАПОВА Е.В.¹, ДРЁМИН В.В.¹

¹Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия,
goryunow.il@yandex.ru

²БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница», г. Орёл, Россия

В настоящее время использование гиперспектральной визуализации (ГВ) стало мировым трендом при решении различных прикладных медицинских задач, обусловленным большим объемом получаемой диагностической информации. Благодаря высокому спектральному разрешению современных систем ГВ становится возможной реализация высокоточных классификационных моделей на основе классических методов сегментации и продвинутого нейросетевых подходов.

Цель данной работы заключалась в разработке метода определения микроциркуляторных нарушений с помощью системы ГВ и математических алгоритмов обработки гиперспектральных массивов.

Для реализации поставленной задачи была разработана система ГВ, включающая в себя широкополосный источник излучения OSL2 (ThorLabs, США) с волоконно-кольцевым осветителем FRI61F50 (ThorLabs, США) и гиперспектральную камеру Specim (Spectral Imaging Ltd., Финляндия) со спектральным диапазоном 400-1000 нм. Исследования микроциркуляторных нарушений с помощью системы ГВ были разделены на 2 этапа. В первом изучены особенности микроциркуляции инфантильных гемангиом различной локализации у 6 детей (возрастом до 1 года). Полученные результаты измерений инфантильных гемангиом были рассчитаны с использованием ранее разработанной нейронной сети, обученной по обобщенной объектно-ориентированной модели Монте-Карло [1]. Для каждого из пациентов были получены двухмерные карты кровенаполнения, тканевой сатурации, индексы содержания окси/дезоксигемоглобина гемангиом. На втором этапе исследований изучены ткани кишечной стенки 9 лабораторных животных (крысы линии Wistar) при наложении лигатур на аркадные сосуды, моделирующих длительность локальной ишемии кишечника 0, 1, 6 и 12 часов, соответственно, с последующим изъятием гистологических образцов из областей интереса. Результаты измерений ишемии кишечной стенки были обработаны с использованием двухволнового подхода анализа коэффициентов отражения на изобестических и неизобестических длинах волн в ближней инфракрасной области [2]. Результатом явились рассчитанные двухмерные цветовые карты тканевой сатурации кишечника.

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что разработанный метод ГВ представляет собой эффективный и перспективный инструмент для оценки микроциркуляторных нарушений сосудистых образований и для диагностики ишемии кишечника. Данный метод может быть использован в медицинских исследованиях для диагностики и мониторинга патологий сосудистой системы. Полученные результаты подтверждают значимость использования метода ГВ в медицине и обеспечивают основу для дальнейших исследований в этой области.

Исследование было поддержано РНФ в рамках проекта № 21-15-00325.

Список литературы

1. Zherebtsov E., Dremin V., Popov A., Doronin A., Kurakina D., Kirillin M., Bykov A., Biomedical optics express, 10, №7, 3545-3559, (2019).
2. Potapova, E.V., Dremin, V.V., Zherebtsov, Hum Physiol 43, 222–228 (2017).

**ФОТОПЛЕТИЗМОГРАФИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПАЦИЕНТОВ С
ХОЛОДОВОЙ КРАПИВНИЦЕЙ**ГУРЫЛЕВА А.В.¹, МАЧИХИН А.С.¹, ВОЛКОВ М.В.¹, БУКОВА В.И.¹, ФОМИНА Д.С.²,
ДАНИЛЫЧЕВ М.В.³, ДАНИЛЫЧЕВА И.В.⁴¹НТЦ УП РАН, г. Москва, Россия²Городская клиническая больница №52, г. Москва, Россия, guryleva.av@ntcup.ru³ИРЭ им. В.А. Котельникова РАН, г. Москва, Россия⁴ГНЦ Институт иммунологии, г. Москва, Россия

Холодовая крапивница (ХК) характеризуется появлением на коже волдырей и/или ангионевротического отека в ответ на воздействие на организм холодových факторов, среди которых холодная погода, контакт с холодными предметами, пищей, питьем и т.д. Своевременное выявление и подбор эффективной терапии ХК необходимы не только для повышения качества жизни пациентов, но и для снижения риска развития потенциально опасной для жизни анафилаксии, возникающей как осложнение ХК у трети пациентов [1].

В рутинной клинической практике для оценки состояния пациентов с ХК используется холодовой провокационный тест (ХПТ), заключающийся в стимуляции кожного покрова кубиком льда и последующей визуальной, качественной оценке реакции кожи. Такой подход отличается субъективным характером, значительной зависимостью результата от опыта врача, а также отсутствием количественных критериев описания степени развития заболевания, что может приводить к ложным результатам ХПТ.

Изучение микроциркуляторного русла, мгновенно реагирующего на внешние воздействия, позволяет анализировать состояние тканей и организма в целом при онкологических, эндокринологических и других заболеваниях. Количественная оценка параметров микроциркуляции может проводиться методами лазерной доплеровской флоуметрии, оптической когерентной томографии, фотоплетизмографии (ФПГ) и пр. Настоящее исследование посвящено разработке метода и аппаратных средств для диагностики ХК с помощью ФПГ, как одного из наиболее простых в технической реализации, производительных, мало зависящих от условий съемки и доступных методов.

Предложенный подход был апробирован в ходе клинического исследования с участием 63 пациентов с ХК и 15 здоровых добровольцев. Для надежной регистрации сигнала ФПГ в режиме отражения использовалась разработанная авторами экспериментальная установка. В ходе исследования были выявлены различия в реакции на ХПТ микроциркуляции добровольцев и пациентов, а также определен количественный критерий их дифференциации на основе анализа ФПГ. Так, отношение амплитуд ФПГ участка кожи до и после ХПТ у пациентов было более чем в 3 раза выше, чем у добровольцев, а пороговое значение указанного отношения, обеспечивающее наилучшие показатели чувствительности и специфичности, составило 3. Разделение пациентов и добровольцев по введенному порогу совпадало с результатами стандартного ХПТ в 94% случаев. Установленные закономерности, предложенный подход и разработанные аппаратные средства для его реализации могут лечь в основу новых, производительных, объективных и автоматизированных методов и приборов для выявления и оценки тяжести ХК и контроля эффективности ее терапии.

Работа поддержана Министерством здравоохранения (Рег.№ НИОКТР 122120600044-2).

Список литературы

1. Krause K. et al. Cold-induced urticaria and angioedema. Classification, diagnosis and therapy // Hautarzt. Hautarzt – 2010. – Vol. 61. – № 9. – P. 743-749.

**ИЗМЕНЕНИЯ КОЛЕБАТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО
РУСЛА ЧЕЛОВЕКА ПРИ ПРЯМОЙ ОПТИЧЕСКОЙ ГЕНЕРАЦИИ СИНГЛЕТНОГО
КИСЛОРОДА**

ЕРАТОВА Л.В., МАКОВИК И.Н.

Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия,
eratovalyuv@gmail.com, irina.makovik@gmail.com

Сегодня изучению влияния активных форм кислорода (АФК) и их роли в организме человека посвящён целый раздел биологии. К АФК относятся ионы, свободные радикалы, перекиси и синглетный кислород (СК). СК в отличие от других АФК, представляет собой возбужденное энергетическое состояние молекулярного кислорода, являясь результатом внутреннего перераспределения электронов [1].

Как считается, СК способен влиять на изменение сосудистого русла и реологические свойства крови [2]. Однако исследования свойств СК ранее проводились в присутствии специальных светочувствительных веществ – фотосенсибилизаторов (ФС), способствующих генерации СК, что не позволяло выявить исключительное влияние СК. Поэтому видится перспективным *оптическая генерация СК*, подразумевающая возбуждение триплетной формы кислорода лазерным излучением длиной волны максимального поглощения (1267 нм) для перехода его в синглетное состояние.

Для изучения механизмов регуляции микроциркуляции (МЦК), включающихся при генерации СК, использовался многофункциональный лазерный исследовательский комплекс «МЛИК» (ООО НПП «ЛАЗМА»), сочетающий в себе методы лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) и флуоресцентной спектроскопии. Конструктивные особенности прибора, а именно, возможность подключения внешнего лазерного источника 1267 нм через единый волоконно-оптический зонд – позволили производить исследования непрерывно в три этапа: до, во время, после генерации СК – тем самым исключая смещение волоконно-оптического зонда. Измерения производились на ладонной поверхности дистальной фаланги среднего пальца кисти правой руки (32 измерения) в течение 30 мин. Для оценки достоверности наблюдаемых различий использовался непараметрический тест Манна-Уитни. Достоверно значимыми различия параметров считались при $p < 0,05$.

Из полученных данных видно, что изменения перфузии между этапами не происходит. Статистически значимых изменений амплитуд пассивных колебаний (дыхательных и сердечных осцилляций) не выявлено, что позволяет говорить о том, что наблюдаемые процессы связаны непосредственно с саморегуляцией МЦК русла при генерации СК. Для нивелирования разброса результатов в течение длительного непрерывного эксперимента в дальнейшем анализировались нормированные характеристики амплитуд активных колебаний. При проведении лазерной индукции СК наблюдаются достоверные различия в эндотелиальном и миогенном диапазонах.

Таким образом, прямая оптическая генерация СК приводит к активации эндотелия и гладкой мускулатуры при разнонаправленной реакции со стороны сосудистого русла.

Список литературы

1. Handa, N., Bhardwaj, R., Kaur, H. Selenium: An Antioxidative Protectant in Plants Under Stress // Plant Metal Interaction: Emerging Remediation Techniques. – 2016. – P. 179-207.
2. Chen, B., Pogue, B. W., Hoopes, P. J., Hasan T. Vascular and cellular targeting for photodynamic therapy // Crit Rev Eukaryot Gene Expr. – 2006. – Vol. 16. – № 4. – P. 279-305.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ТЯЖЕСТИ ПОСТКОВИДНОГО СИНДРОМА
НА ИЗМЕНЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ СИСТЕМЫ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ КРОВИ
С ПОМОЩЬЮ ПОРТАТИВНЫХ АНАЛИЗАТОРОВ**

ЖАРКИХ Е.В.¹, ЛОКТИОНОВА Ю.И.¹, ПАРШАКОВА В.Е.¹,
ФЕДОРОВИЧ А.А.^{1,2}, ДУНАЕВ А.В.¹

¹Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия,
ev.zharkikh@gmail.com

²НМИЦ ТПМ МЗ РФ, г. Москва, Россия

Негативное влияние на организм человека, оказываемое коронавирусной инфекцией COVID-19, не ограничивается острым периодом заболевания и может вызывать отдалённые последствия [1]. Немаловажную роль в развитии постковидного синдрома имеют нарушения в системе микроциркуляции крови (МЦК). Цель исследования: изучить функциональное состояние МЦК у пациентов с различной степенью тяжести постковидного синдрома по данным лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ).

Проведены пилотные исследования у 18 пациентов, перенёвших острую коронавирусную инфекцию COVID-19 различной давности и отмечающих различные симптомы постковидного синдрома. При поступлении пациенты заполняли опросник о наличии и продолжительности симптомов постковидного синдрома, на основании которого формулировался вывод о тяжести его течения. По результатам опроса испытуемые были разделены на 2 группы: в 1 группу вошли 9 пациентов (средний возраст 47 лет) с лёгкой степенью постковидного синдрома, во 2 группу вошли 9 человек (средний возраст 46 лет) со средней и тяжёлой степенью. В ходе проведения исследования у всех пациентов осуществлялось измерение параметров системы МЦК в области подушечек средних пальцев рук, тыльной стороны запястий и кожи головы в области лба. Исследование микроциркуляции проводилось в положении сидя одномоментно шестью портативными анализаторами «ЛАЗМА-ПФ» (ООО НПП «ЛАЗМА», г. Москва). Сигналы ЛДФ подвергались амплитудно-частотному вейвлет-преобразованию, на основании которого рассчитывались амплитуды колебаний в эндотелиальном, нейрогенном, миогенном, дыхательном и сердечном диапазонах.

Анализ данных показал, что пациенты группы 2 относительно пациентов группы 1 имеют в коже лба снижение уровня тканевой перфузии ($14,6 \pm 7,4$ пф и $18,0 \pm 3,8$ пф), снижение амплитуды эндотелиальных ($0,2 \pm 0,1$ и $0,6 \pm 0,5$ пф), нейрогенных ($0,3 \pm 0,1$ и $0,5 \pm 0,4$ пф) и миогенных ($0,4 \pm 0,1$ и $0,7 \pm 0,6$ пф) вазомоций, а также снижение амплитуды пульсовых колебаний микрокровотока ($0,8 \pm 0,3$ и $0,9 \pm 0,5$ пф). Таким образом, в результате проведённых пилотных исследований выявлено, что пациенты с более тяжёлым течением постковидного синдрома характеризуются снижением тканевой перфузии и активности механизмов регуляции микрокровотока. Оценка динамики данных параметров может быть использована для оценки эффективности терапевтических воздействий в процессе реабилитационных мероприятий.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 23-25-00522).

Список литературы:

1. Zharkikh, E. V., Loktionova, Yu. I., Fedorovich, A. A., Gorshkov, A. Y., Dunaev, A. V. Assessment of Blood Microcirculation Changes after COVID-19 Using Wearable Laser Doppler Flowmetry // Diagnostics. – 2023. – Vol. 13(5). – P. 920.

СПЕКТРАЛЬНЫЙ СОСТАВ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ПЕЧЕНИ У ПАЦИЕНТОВ С МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХОЙ

КАНДУРОВА К.Ю.¹, СУМИН Д.С.^{1,2}, МАМОШИН А.В.^{1,2}, ПОТАПОВА Е.В.¹

¹ Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия, k.kandurova@oreluniver.ru

² Орловская областная клиническая больница, г. Орёл, Россия

Актуальным вопросом при диагностике и лечении заболеваний, осложненных синдромом механической желтухи (МЖ), является поиск диагностических параметров, описывающих функциональное состояние печени для выявления печеночной недостаточности и прогнозирования эффективности декомпрессии желчевыводящих протоков. Несмотря на то, что врачи опираются на широкий ряд инструментальных методов и лабораторных показателей, а также специальных прогностических систем, дающих косвенную оценку различных печеночных функций, нерешенной остается проблема разработки и внедрения технологий получения количественных критериев прямого определения функционального состояния печени. Применение метода флуоресцентной спектроскопии (ФС) открывает возможности для выявления изменений функционального состояния тканей *in vivo* с внедрением метода в стандартные хирургические инструменты.

Целью работы явилось изучение функционального состояния печени пациентов с синдромом МЖ с применением метода ФС *in vivo* через волоконно-оптический зонд для выявления новых диагностических критериев печеночной недостаточности.

В исследовании приняли участие 20 пациентов с диагнозом МЖ. Измерения проводились во время первичной антеградной декомпрессии желчевыводящих путей методом ФС на длинах волн 365 и 450 нм, спектры регистрировались в диапазоне 350-800 нм. Для передачи оптического излучения использовался волоконно-оптический зонд диаметром 1 мм. В полученных спектрах при деконволюции путем нелинейного фиттинга выделялись комбинации гауссовых кривых, отражающих вклад отдельных флуорофоров. Результаты сравнивались с данными 11 пациентов без МЖ, полученными во время пункционной биопсии по поводу злокачественных новообразований [1].

Анализ кривых показал статистически значимое увеличение вклада флуоресценции НАД(Ф)Н, билирубина и флавинов в группе пациентов с МЖ. Также наблюдалось снижение редокс-отношения, что может указывать на нарушение утилизации кислорода и усиление роли гликолиза в энергетическом метаболизме гепатоцитов. В качестве потенциальных маркеров нарушения функционального состояния печени были отмечены изменения вкладов витамина А, как косвенный признак снижения выделительной функции [2], а также в отдельных случаях с негативной динамикой – увеличение вкладов порфиринов и липофусцина.

Выявленные различия будут использованы для более подробного изучения в дальнейшем совместно с рядом лабораторных показателей и лягут в основу комплексного исследования по прогностической оценке течения послеоперационного периода после билиарной декомпрессии в рамках мультимодального подхода.

Работа выполнена в рамках проекта Российского научного фонда № 23-25-00487 (<https://rscf.ru/project/23-25-00487/>).

Список литературы

1. Dremin, V. et al. Optical percutaneous needle biopsy of the liver // Scientific Reports. – 2020. – Vol. 10. – 14200.
2. Kandurova, K. et al. Deconvolution of the fluorescence spectra measured through a needle probe to assess the functional state of the liver // Lasers in Surgery and Medicine. – 2023. – Vol. 55(7). – P. 690-701.

**ПРИЛОЖЕНИЯ МЕТОДА МОНТЕ-КАРЛО
ДЛЯ ЗАДАЧ ОПТИЧЕСКОЙ БИМЕДИЦИНСКОЙ ДИАГНОСТИКИ**
КИРИЛЛИН М.Ю.¹, КУРАКИНА Д.А.¹, ГЕТМАНСКАЯ А.А.^{1,2}, ХИЛОВ А.В.¹,
ПЕРЕКАТОВА В.В.¹, ШИШКОВА В.А.¹, ТУРЧИН И.В.¹, СЕРГЕЕВА Е.А.¹

¹ Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики им. А.В. Гапонова-Грехова Российской академии наук, г. Нижний Новгород, Россия, kirillin@ipfran.ru

² Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород, Россия

Разработка и усовершенствование инновационных оптических методов биомедицинской диагностики и лечения требуют использования моделей распространения света в биологических тканях. Разномасштабные оптические неоднородности внутри биологической ткани существенно ограничивают возможности применения аналитических моделей, обычно предполагающих крупномасштабную однородность среды. Для решения таких задач золотым стандартом стал метод статистического моделирования Монте-Карло, позволяющий учесть анатомические и морфологические особенности в модели. Этот метод основан на моделировании большого числа случайных траекторий фотонов (обычно до 10^{12}), что позволяет проанализировать распределение светового поля в среде, а также выделить вклад отдельных фракций фотонов. Основное ограничение метода Монте-Карло, заключающееся в высоких требованиях к вычислительной мощности, может быть преодолено благодаря современным достижениям в вычислительной технике. Тренд на развитие и производство многоядерных процессоров обеспечивает особое преимущество благодаря простоте реализации параллельных вычислений методом Монте-Карло.

В настоящей работе приводится обзор последних достижений в области Монте-Карло моделирования, направленных на исследование формирования сигналов в системах спектральной диагностики [1] и флуоресцентной визуализации [2]. Использование процессоров с параллельной архитектурой обеспечивают эффективное уменьшение время вычислений, в то время как триангуляция границ областей внутри среды позволяет точно описать распространение света в сложных объектах, имитирующих морфологическую структуру биотканей. Возможность анализа индивидуальных траекторий фотонов позволяет выделить фотоны, удовлетворяющие условиям детектирования, и проанализировать типичную глубину зондирования в различных методах визуализации, а также ее спектральную зависимость при анализе спектральных методов диагностики [3]. Массивные вычисления методом Монте-Карло также дают возможность создать большие выборки синтетических данных, которые могут быть использованы в качестве тренировочных выборок при использовании алгоритмов машинного обучения для реконструкции величин физиологических параметров на основании данных оптических измерений.

Работа выполнена в рамках проекта НЦМУ «Центр фотоники» при финансировании Министерства науки и высшего образования РФ (договор № 075-15-2022-316).

Список литературы

1. Perkatova, V. et al. VIS-NIR diffuse reflectance spectroscopy system with self-calibrating fiber-optic probe // *Diagnostics* . 2023. – Vol. 13(3). – P. 457.
2. Kirillin, M. et al. Dual-wavelength fluorescence monitoring of photodynamic therapy: from analytical models to clinical studies // *Cancers*. – 2021. – Vol. 13(22). – P. 5807.
3. Kurakina, D. et al. Probing depth in diffuse reflectance spectroscopy of biotissues: a Monte Carlo study // *Laser Physics Letters* . – 2022. – Vol. 19(3). – 035602.

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ КРОВИ ТКАНЕЙ ЯИЧНИКОВ В ЖИВОТНОЙ МОДЕЛИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ЯИЧНИКОВКРУТИКОВА В.Ю.¹, ЗАКУРАЕВА К.А.², ЯРМОЛИНСКАЯ М.И.²,
ПОЛЕНОВ Н.И.², ПОТАПОВА Е.В.¹¹ Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева,
г. Орёл, Россия, krutikowa@bk.ru² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии
имени Д.О. Отта», г. Санкт-Петербург, Россия

Диагноз преждевременной недостаточности яичников (ПНЯ) является серьезным заболеванием, отражающимся на качестве жизни пациентки. Оно опасно не только с точки зрения влияния на репродуктивный потенциал, а также влиянием на психологический статус женщины. Глобальная распространенность (ПНЯ) среди женщин составляет 3,5%, достигая в некоторых странах -11,3% [1]. Понимание механизмов развития ПНЯ, а именно, особенностей нарушения микроциркуляции позволит в будущем разработать комплексные подходы к ведению данных пациенток.

Целью работы являлось исследование особенностей микроциркуляции крови в яичниках в животной модели ПНЯ методами лазерной доплеровской флоуметрии, флуоресцентной спектроскопии и спектроскопии диффузного отражения.

Исследование проводилось на 12 крысах линии Wistar. Лабораторные животные были разделены на 4 группы. В первую группу включали крыс, имеющих смоделированную ПНЯ на основе циклофосамида (N=4). Во второй группе животные с ПНЯ получали антиоксидантную терапию (ресвератрол) (N=3). Третья группа контрольных животных получала антиоксидантную терапию (N=1). Четвертую группу составляли контрольные животные без ПНЯ и не получающие лекарственную терапию (N=3). Протокол измерения включал регистрацию перфузии крови, спектров флуоресценции на длинах волн 365 и 450 нм и спектров диффузного отражения в яичниках крыс.

Проведенные экспериментальные исследования показывают более высокие значения перфузии в яичниках крыс в группе ПНЯ по сравнению с контрольной группой (28,7±8,2 и 21,9±12,0 пф.ед., соответственно), при этом регистрируется увеличение амплитуды осцилляций в дыхательном диапазоне (1,4±0,7 и 1,0±0,4 пф.ед., соответственно), что может отражать застойные явления в микроциркуляторном русле. Введение антиоксидантов способствует уменьшению средней амплитуды осцилляций в дыхательном диапазоне (0,7±0,1 пф.ед.). Наблюдаемая картина в сигналах флуоресцентной спектроскопии, возбужденных на длинах волн 365 и 450 нм может указывать на гипоксию тканей в месте исследования [2]. В первой группе $I_{365}=0,3\pm0,2$ отн.ед., $I_{450}=0,2\pm0,1$ отн.ед., в третьей – $I_{365}=0,2$ отн.ед и $I_{450}=0,2\pm0,1$ отн.ед. Анализ спектров диффузного отражения показывает тенденцию снижения сатурации в тканях яичников животных с ПНЯ относительно контрольных показателей (82,5±6,1 и 84,9±4,1% соответственно), при этом введение антиоксиданта повышает уровень сатурации (84,7±3,6%).

Результаты работы могут лечь в основу более подробного изучения этиологии и лечения ПНЯ.

Список литературы

1. Lia, M, Zhub, Y, Weid, J, et al. The global prevalence of premature ovarian insufficiency: a systematic review and meta-analysis // *Climacteric*. – 2023. – Vol. 26(2). – P. 95-102
2. Dremin, V.V., Potapova, E.V., Mamoshin, A.V., Dunaev, A.V., Rafailov, E.U. Monitoring oxidative metabolism while modeling pancreatic ischemia in mice using a multimodal spectroscopy technique // *Laser Phys. Lett.* – 2020. – Vol. 17(11). – 115605.

**ГЕНДЕРНЫЕ РАЗЛИЧИЯ РЕАКТИВНОСТИ СИСТЕМЫ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ НА
ТЕМПЕРАТУРНЫЕ ПРОБЫ У ВЫСОКОКВАЛИФИЦИРОВАННЫХ
ШОРТ-ТРЕКОВИКОВ**

ЛИТВИН Ф.Б., БРУК Т.М., КРОТОВА К.А.

Смоленский государственный университет спорта, г. Смоленск, Россия, bf-litvin@yandex.ru

В шорт-треке температура льда колеблется в пределах 0 +5°C, а температура воздуха на трибунах достигает 20-25°C. Разность температур включает адаптационные механизмы в системе микроциркуляции. В работе изучена реактивность системы микроциркуляции у шорт-трековиков на температурные пробы (охлаждение и нагревание). Для интерпретации данных исследований важно учитывать реактивность гладкомышечных клеток микрососудов. В исследовании принимали участие 9 спортсменов (5 юношей и 4 девушки) уровня мастер спорта. Измерения проводили в положении лежа на тыльной поверхности правого предплечья лазерным диагностическим аппаратом «ЛАЗМА-СТ» с встроенным блоком «ЛАЗМА-ТЕСТ». Запись ЛДФ-граммы проводили в течение 1 минуты при локальном охлаждении кожного покрова до 10°C, при локальном нагревании температура повышалась до 35°C. продолжительность записи 4 минуты. Результаты. У юношей при локальном охлаждении относительно исходного уровня показатель микроциркуляции (ПМ, пф. ед.) снижается на 183%, показатель нутритивного кровотока (Мнутр., пф. ед.) - на 141%, амплитуда миогенных колебаний (Ам, пф. ед.) на 367%. При кратковременном локальном охлаждении механизм миогенной регуляции обусловлен активацией чувствительных к растяжению кальциевых каналов в клетках гладкой мускулатуры. Он не зависит от метаболических, гормональных и нейрогенных симпатических влияний [1]. У девушек вазоконстрикторная реакция существенно ниже с понижением ПМ на 18%, Мнутр. на 16% и Ам - на 7%. Не исключено, что меньшая чувствительность кожи девушек к низкой температуре связана с большим слоем жировой ткани, а также особенностями гормонального статуса. Выраженность холодовой адаптации у девушек следует рассматривать как один из факторов компенсации функциональных резервов микроциркуляции тканей. У юношей при проведении тепловой пробы выявлена низкая реактивность в ответ на нагревание с повышением ПМ на 23%, Мнутр. на 36% и Ам колебаний на 5%. На этом фоне у девушек регистрируется высокая реактивность микроциркуляторного русла, сопровождающаяся стремительным нарастанием ПМ на 148%, Мнутр. на 277% и Ам на 52%. В качестве предположения разный уровень реактивности на холодовую и тепловую пробы может быть связан с особенностями расположения тепловых и холодовых рецепторов на коже, а также разной глубиной залегания. Выполненные исследования у шорт-трековиков выявили гендерные различия по уровню реактивности системы микроциркуляции на температурные пробы.

Список литературы

1. Крупаткин, А.И., Сидоров, В.В. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: Колебания, информация, нелинейность. Руководство для врачей. Изд. 2 е. – М.: ЛЕНАНД. 2016. – 496 с.

**ПОРТАТИВНЫЕ МУЛЬТИМОДАЛЬНЫЕ АНАЛИЗАТОРЫ В МОНИТОРИНГЕ
МИКРОЦИРКУЛЯТОРНО-ТКАНЕВЫХ СИСТЕМ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА
ВО ВРЕМЯ СНА**

ЛОКТИОНОВА Ю.И.¹, ЖАРКИХ Е.В.¹, КЛЕЕВА Д.Ф.², ПАРШАКОВА В.Е.¹,
СИДОРОВ В.В.³, КРУПАТКИН А.И.⁴, ДУНАЕВ А.В.¹

¹ Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева,
г. Орёл, Россия, julya-loktionova@mail.ru

² НИУ «Высшая школа экономики», г. Москва, Россия

³ ООО НПП «ЛАЗМА», г. Москва, Россия

⁴ ФГБУ НМИЦ травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова, г. Москва, Россия

Активное развитие общества, увеличение когнитивной нагрузки и повышенный уровень стресса приводят к возникновению различных сомнологических расстройств. Одним из наиболее распространённых нарушений является инсомния, от которой страдают от трети до половины населения планеты. Расстройства сна приводят к повышенной утомляемости, снижению продуктивности, а в долгосрочной перспективе к развитию заболеваний сердечно-сосудистой, иммунной и эндокринной систем организма. Таким образом, нарушения сна является острой медицинской, социальной и экономической проблемой современности, поэтому важно совершенствовать методику мониторинга сна.

В сомнологии активно изучается работа мозга во время сна, однако, мало внимания уделяется периферическому отделу сердечно-сосудистой системы – микроциркуляторно-тканевым системам (МТС) организма человека [1], что и явилось целью данной работы.

В ходе исследования разработан протокол регистрации параметров МТС во время сна с помощью портативных мультимодальных анализаторов «ЛАЗМА ПФ», реализующих каналы лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) и флуоресцентной спектроскопии (ФС) [2,3]. Устройства закреплялись на третьих пальцах рук и тыльной стороне запястий. Измерения проводились на 5 волонтерах (20-46 лет) во время ночного сна в течение 6-7 часов, суммарно данные получены для 14 снов. На основе электроэнцефалографии (ЭЭГ) выделялись 4 фазы сна: NREM1 (засыпание), NREM2 (лёгкий сон), NREM3 (глубокий сон), REM (быстрый сон), а также бодрствование.

Анализ пилотных исследований показал, что смена фаз сна характеризуется изменением среднего уровня тканевой перфузии, который достигает максимальных значений во время NREM3 сна. В то же время в утренние часы отмечается рост нормированной амплитуды флуоресценции NADH, что говорит о снижении активности окислительного метаболизма.

Таким образом, благодаря применению методов оптической неинвазивной диагностики (ЛДФ и ФС) в сочетании с ЭЭГ возможно получать дополнительную информацию о функциональном состоянии МТС организма человека во время сна, что позволит комплексно исследовать сомнологические расстройства и оценивать эффективность их терапии.

Список литературы

1. Дунаев, А.В. Мультимодальная оптическая диагностика микроциркуляторно-тканевых систем организма человека: монография / А. В. Дунаев. — Старый Оскол: ТНТ, 2022. — 440 с.
2. Dunaev, A. Wearable Devices for Multimodal Optical Diagnostics of Microcirculatory-Tissue Systems: Application Experience in the Clinic and Space // Journal of Biomedical Photonics & Engineering, 2023. — Vol.9. — №2. — P.1-10.
3. Sidorov, V.V. A System of Local Analyzers for Noninvasive Diagnostics of the General State of the Tissue Microcirculation System of Human Skin / V.V. Sidorov, Yu.L. Rybakov, V.M. Gukasov, G.S. Evtushenko // Biomedical Engineering, 2022. — Vol.55. — №6. — P.379-382.

МУЛЬТИМОДАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ АГРЕГАЦИИ И ДЕФОРМИРУЕМОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

МАКСИМОВ М.К.¹, ЕРМОЛИНСКИЙ П.Б.¹, ЛУГОВЦОВ А.Е.¹, ГУРФИНКЕЛЬ Ю.И.², ДЯЧУК Л.И.², ПРИЕЗЖЕВ А.В.¹

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, физический факультет, г. Москва, Россия, madoway@yandex.ru

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Медицинский научно-образовательный центр, г. Москва, Россия

Способность эритроцитов к обратимой агрегации и деформации в значительной степени определяет вязкость крови, сосудистое сопротивление кровотоку и другие характеристики микроциркуляции. Изменения данных параметров клеток крови, наблюдающиеся у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, способны приводить к нежелательным патологическим состояниям [1]. Считается, что для большинства заболеваний, оказывающих влияние на кровоток, характерно увеличение агрегации эритроцитов и снижение их деформируемости [2, 3]. Углублённое понимание причин и особенностей данных изменений представляет как фундаментальный, так и клинический интерес.

В данной работе было проведено мультимодальное исследование микрореологических параметров крови и ее микроциркуляции у пациентов кардиологического отделения МНОЦ МГУ как методами *in vitro* (эктацитометрия, лазерная агрегометрия и лазерный пинцет для исследования параметров эритроцитов), так и методами *in vivo* (цифровая капилляроскопия для оценки состояния капиллярного кровотока) и проведен статистический анализ полученных данных.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии наборов изменений параметров, индивидуальных для различных патологических состояний, а также о многофакторности процесса агрегации эритроцитов. Например, для больных с фибрилляцией предсердий характерно снижение скорости капиллярного кровотока и снижение агрегации эритроцитов на уровне одиночных клеток, однако агрегация эритроцитов на уровне большого числа клеток увеличена. Дальнейшее продолжение данной работы, с одной стороны, способно приблизить применение персонализированной медицины, а с другой стороны – расширить текущее понимание процесса агрегации эритроцитов и его взаимовлияния как на другие клетки крови, так и на состояние капилляров.

Выполнено при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 22-15-00120.

Список литературы

1. Масляницына, А.И., Каданова, И.М., Незнанов, А.И., Ермолинский, П.Б., Гурфинкель, Ю.И., Пигуренко, А.А., Приезжев, А.В. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний // 2021. – № 9(2). – С. 53-63.
2. Maslianitsyna, A., Ermolinskiy, P., Lugovtsov, A., Pigurenko, A., Sasonko, M., Gurfinkel, Y., Priezzhev A. // *Diagnostics*. – 2021. – Vol. 11(1). – P. 76.
3. Lugovtsov, A. E., Gurfinkel, Y. I., Ermolinskiy, P. B., Maslyanitsina, A. I., Dyachuk, L. I., Priezzhev, A. V. // *Biomedical Optics Express*. – 2019. – Vol. 10(8). – P. 3974-3986.

ВЛИЯНИЕ ГЛИЦЕРИНА КАК ОПТИЧЕСКОГО ПРОСВЕТЛЯЮЩЕГО АГЕНТА НА ОПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ТКАНЕЙ И МИКРОРЕОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КРОВИМОЛЬДОН П.А.¹, ЕРМОЛИНСКИЙ П.Б.¹, ДЬЯЧЕНКО П.А.²,
ЛУГОВЦОВ А.Е.¹, ПРИЕЗЖЕВ А.В.¹¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия²Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, г. Саратов, Россия

Оптические просветляющие агенты (ОПА) – вещества, используемые для увеличения глубины проникновения света в исследуемые биологические ткани и органы, с целью улучшения их визуализации. ОПА, при нанесении на биологическую ткань, проникают внутрь и уменьшают величину многократного рассеяния света за счет выравнивания относительного показателя преломления между оптическими неоднородностями в ткани [1]. В большом количестве методов измерения *in vivo*, таких как лазерная спекл-контрастная визуализация кровеносных сосудов или цифровая капилляроскопия терминальных капилляров ногтевого ложа и др., ОПА проникают в кровоток. Большинство ОПА осмотически активны и могут изменить параметры агрегации и деформируемости эритроцитов, которые во многом определяют вязкость крови и ее текучесть. Изменение микрореологических параметров может привести к изменению рассеянного кровью оптического сигнала и, как следствие, искажению результатов исследования. Цель данной работы – определить эффективность глицерина как ОПА при измерении *in vivo* и исследовать влияние глицерина на параметры агрегации и деформируемости эритроцитов *in vitro*. Для эксперимента был изучен ОПА глицерин 100%, который наносился на область ногтевого ложа и эффект глицерина оценивался в течение 15 минут после нанесения. Эффективность ОПА определялась методом оптической когерентной томографии (ОКТ) с помощью оптического когерентного томографа OCP930SR 022 OCT (Thorlabs) с центральной длиной волны 930 ± 5 нм. Результаты оценивались на основе изменения коэффициента ослабления света, рассчитанного по данным ОКТ – сканирования. По результатам эксперимента можно заключить, что в концентрации 100% глицерин является эффективным оптическим просветляющим агентом. Для оценки влияния глицерина на микрореологические свойства крови были исследованы образцы крови, инкубированные с глицерином в концентрациях от 1% до 20%. Контрольные образцы включали в себя образцы крови с таким же процентным содержанием дистиллированной воды. Забор крови происходил у здоровых волонтеров натошак в день эксперимента. Оценка влияния глицерина на микрореологические свойства крови осуществлялась методом диффузного рассеяния света и методом лазерной дифрактометрии на приборе RheoScan [2]. Были измерены такие параметры как индекс агрегации, показывающий процентное количество проагрегировавших эритроцитов крови за первые 10 секунд процесса спонтанной агрегации, а также индекс деформируемости эритроцитов, показывающий способность эритроцитов изменять свою форму под действием сдвигового напряжения, предел текучести эритроцита, связанный с жесткостью мембраны клетки, и вязкость его внутриклеточного содержимого. Результаты экспериментов показали, что глицерин уменьшает агрегацию эритроцитов, уменьшает их деформируемость и предел текучести, а также увеличивает вязкость внутриклеточного содержимого. Мы предполагаем, что изменение параметров деформируемости связано с проникновением молекул глицерина внутрь мембраны эритроцита [3], что влечет уменьшение деформируемости эритроцитов и, как следствие, уменьшение их агрегации. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 23-45-00027.

Список литературы

1. Luis M.C., et al., The Optical Clearing Method // Springer Briefs in Physics. – 2019.
2. Lugovtsov AE, et al. Optical assessment of alterations of microrheologic and microcirculation parameters in cardiovascular diseases // Biomed. Opt. Express. – 2019. – Vol. 10(8). – P. 3974-3986.
3. Beth H. Shaz, et al., Transfusion Medicine and Hemostasis: Clinical and Laboratory Aspects, 2009.

**ОЦЕНКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ ПАРАМЕТРОВ
МИКРОЦИРКУЛЯТОРНО-ТКАНЕВЫХ СИСТЕМ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА С
ПОМОЩЬЮ МУЛЬТИМОДАЛЬНЫХ ПОРТАТИВНЫХ УСТРОЙСТВ**

ПАРШАКОВА В.Е., ЛОКТИОНОВА Ю.И., ЖАРКИХ Е.В., ДУНАЕВ А.В.

Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия,
Viktorya.Parshak@yandex.ru

Изменения в системе микроциркуляции крови и окислительного метаболизма биотканей коррелируют со сдвигами в центральной гемодинамике, происходящими при развитии различных патологических процессов, что позволяет использовать параметры периферического кровотока в качестве диагностических и прогностических критериев в оценке общего функционального состояния организма. Параметры микроциркуляторно-тканевых систем (МТС) могут изменяться у одного и того же человека в течение суток, что связано с многообразием влияющих на них факторов. В последнее время для оценки состояния МТС активно используются оптические неинвазивные технологии, такие как методы лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) и флуоресцентной спектроскопии (ФС). Цель данной работы – оценить физиологическую вариабельность параметров, измеренных с помощью мультимодальных портативных анализаторов, реализующих методы ЛДФ и ФС.

В исследовании приняли участие 11 условно здоровых волонтеров (5 мужчин и 6 женщин, средний возраст 23 ± 3 года), каждый из которых был измерен 10 раз. Параметры МТС регистрировались в течение 10 мин: на подушечках 3 пальцев рук, тыльной стороне предплечий, подушечках 1 пальцев ног, и на коже лобной части головы. Измерения осуществлялись симметрично справа и слева с помощью двухканальных носимых анализаторов «ЛАЗМА ПФ» (ООО НПП «ЛАЗМА», Москва). Доброволец во время измерения находился в положении лёжа на спине.

При анализе полученных данных для каждой зоны исследования рассчитаны средние значения показателя микроциркуляции крови (ПМ) и нормированные на обратно отражённое излучение интенсивности флуоресценции кофермента НАДН ($A_{\text{НАДН}}$). Значение ПМ в области подушечек средних пальцев рук составило $22,7 \pm 4,3$ пф.ед., в области кожи лба – $14,1 \pm 5,1$ пф.ед., в области подушечек 1 пальцев ног – $11,9 \pm 3,9$ пф.ед., в области тыльной стороны предплечий – $5,5 \pm 1,4$ пф.ед. Различие уровня тканевой перфузии в разных областях тела связано с анатомическими особенностями кожных покровов (различная плотность артериоло-веноулярных анастомозов и т.д.). Наибольший коэффициент вариации ПМ отмечен в области подушечек 1 пальцев ног, и составил 42 %. Наименьшей вариабельностью (17 %) ПМ характеризуется в области запястий. Вариабельность ПМ в областях подушечек 3 пальцев рук и кожи в области лба составила 24 и 25 %, соответственно. Значение $A_{\text{НАДН}}$ в области подушечек 3 пальцев рук составило $0,4 \pm 0,1$ отн.ед., в области кожи головы – $1,8 \pm 1,0$ отн.ед., в области подушечек 1 пальцев ног – $0,7 \pm 0,3$ отн.ед., и в области тыльной стороны предплечий – $1,3 \pm 0,7$ отн.ед., соответственно. Параметр $A_{\text{НАДН}}$ характеризуется наибольшей вариабельностью в области кожи лба, коэффициент вариабельности в этой области составил 61 %, что может быть связано со сложностью фиксации устройств. В других анализируемых областях измерения коэффициент вариабельности для данного параметра составил 24 %.

Таким образом, по критерию наименьшей вариабельности измеряемых параметров наиболее оптимальными областями для исследования функционального состояния МТС можно считать область подушечек 3 пальцев рук и тыльную сторону предплечий, а при интерпретации получаемых данных в других областях исследования биоткани необходимо учитывать полученную высокую вариабельность параметров.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках проекта № 23-25-00522.

**ОЦЕНКА ВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ ПРИ СИНДРОМЕ
МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХИ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА СПЕКТРОВ
КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ ЖЕЛЧИ**

ПРИЗЕМИН В.Н.¹, СУМИН Д.С.^{1,2}, МАМОШИН А.В.^{1,2}, ПОТАПОВА Е.В.¹

¹Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Орёл, Россия,
vprizemin@gmail.com

²Орловская областная клиническая больница, г. Орёл, Россия

Оценка состояния функционального состояния печени имеет решающее значение для улучшения результатов лечения пациентов с синдромом механической желтухи (МЖ). Специфические функции печени, такие как детоксикационная, синтетическая, выделительная важны для оценки интегративной деятельности организма [1]. Исследование содержания и концентрации компонентов желчи дает дополнительную диагностическую информацию о функциональном состоянии паренхимы печени [2]. Спектроскопия комбинационного рассеяния (КР) желчи, полученной по дренажному катетеру при выполнении антеградной декомпрессии желчевыводящей системы и в динамике послеоперационного периода, может быть использована для определения концентрации билирубина в желчи.

Выполнено исследование желчи у 15 пациентов. Кратность забора образцов желчи составляла раз в 3-е суток с получением до 4-х образцов у каждого пациента. В настоящее время в выборке присутствуют 3 больных с отрицательной динамикой лечения. Также была исследована желчь пациента, не имеющего синдрома МЖ.

После анализа полученных результатов пациенты с положительной динамикой лечения были разделены на три группы. В день выполнения декомпрессии желчевыводящих путей первая группа характеризовалась высокой амплитудой пиков билирубина в спектрах КР исследуемой желчи. Во второй группе пики билирубина не выделялись, либо имели меньшую интенсивность в сравнении с образцами желчи первой группы пациентов. Спектры обеих групп, при последующих измерениях, показали нормализацию пиков КР билирубина к уровню спектров желчи пациента без синдрома МЖ. В третьей группе пациентов, с положительной клинико-лабораторной динамикой на фоне декомпрессии желчевыводящей системы, на протяжении всех измерений уровень интенсивности пиков КР находился на уровне спектров пациента без синдрома МЖ.

Пациенты с отрицательной клинико-лабораторной динамикой на фоне лечения характеризовались отсутствием реакции на декомпрессию желчевыводящей системы, либо кратковременным восстановлением выделительной функции печени с последующим ее угнетением.

Метод спектроскопии КР показал чувствительность к наличию билирубина в желчи. Получение информации о содержании билирубина в желчи в послеоперационном периоде может стать основой прогнозирования динамики восстановления функционального состояния печени у пациентов с синдромом МЖ после проведения декомпрессии желчевыводящей системы.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-25-00487, <https://rscf.ru/project/23-25-00487/>.

Список литературы:

1. Ганиткевич, Я. В., Карбач. Исследование желчи, 1985. – 136 с.
2. Kandurova, K.Y., Golubova, N.V., Prizemin, V.N., Sumin, D.S., Adamenkov, N.A., Shabalin, V.N., Mamoshin, A.V., Potapova, E.V. Proc. SPIE. – 2022. – 12147, 8.

ОЦЕНКА ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТИ И ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ ИЗМЕРЕНИЙ КОЖНОЙ ПЕРФУЗИИ МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ ДОПЛЕРОВСКОЙ ФЛОУМЕТРИИ У ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦЕВРЫЖКОВА Е.Г.^{1,3}, МОРГУНОВА Т.Б.¹, РЫЖКОВ И.А.², ФАДЕЕВ В.В.¹¹ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва, Россия, e.g.ryzhkova@bk.ru²Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии, г. Москва, Россия, iryzhkov@fnkcrr.ru³АО «Ильинская больница», г. Красногорск, Россия

Метод лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) используется для оценки микроциркуляции в норме и при различных заболеваниях, в том числе, с применением различных функциональных проб [Крупаткин А.И., Сидоров В.В., 2013]. Пространственная и временная вариабельность кожной перфузии и, следовательно, показателей ЛДФ могут снижать диагностическую ценность метода. Цель: оценить пространственную вариабельность и воспроизводимость результатов измерения кожной перфузии методом ЛДФ у здоровых добровольцев.

В экспериментальное исследование включен 51 здоровый доброволец (возраст 26 ± 4 года, 35 женщин, 16 мужчин). Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет). Обследование проводилось в первой половине дня (9:00–12:00) в положении сидя. В первый день (Д1) измеряли систолическое и диастолическое артериальное давление (АД), частоту сердечных сокращений (ЧСС). Методом ЛДФ (прибор «ЛАЗМА СТ», НПП «ЛАЗМА», Россия) в течение 4 мин измеряли кожную перфузию тыльной стороны предплечья (Мбазал). Далее в той же области измеряли кожную перфузию при охлаждении до 10С (Мохл), а затем при нагревании до 35С (Мнагр). Измерения повторяли в той же последовательности на вентральной стороне предплечья. Повторные измерения в этих же областях выполняли через 3 – 7 дней (Д2). Измерения проводились в нейтральных температурных условиях (20-26С), через 10-15 минут пребывания испытуемых в состоянии покоя. Статистический анализ данных проведен в SPSS Statistics. Для сравнения измерений на тыльной и вентральной стороне предплечья использован критерий Вилкоксона. Воспроизводимость (между Д1 и Д2) была выражена в коэффициентах вариации между субъектами (CV) и коэффициентах внутриклассовой корреляции (ICC). Значения CV менее 25% считались приемлемыми. Значения ICC менее 0,50, от 0,50 до 0,75 и более 0,75 считались неудовлетворительными, удовлетворительными и хорошими, соответственно. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Систолическое АД 116 ± 11 мм рт.ст., диастолическое АД 69 ± 7 мм рт.ст., среднее АД 84 ± 8 мм рт.ст. Мбазал имело приемлемую воспроизводимость на тыльной и вентральной сторонах предплечья (CV = 13,04% и 17,95%, соответственно), однако надежность была неудовлетворительной (ICC = 0,34 и ICC=0,332). Мохл на тыльной и вентральной сторонах имело приемлемую воспроизводимость (CV = 8,26% и 10,9%, соответственно), но надежность была удовлетворительной только на тыльной стороне (ICC = 0,56). Мнагр на тыльной и вентральной сторонах имело приемлемую воспроизводимость (CV = 19,89% и 5,27%), но только на тыльной стороне удовлетворительную надежность (ICC = 0,56).

Показатели Мбазал, Мохл и Мнагр имеют приемлемую воспроизводимость как на тыльной, так и на вентральной стороне предплечья, однако, надежность измерения удовлетворительная только на тыльной стороне.

ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ У ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХИ С ПОЗИЦИИ ЧРЕСКОЖНЫХ МИНИМАЛЬНО ИНВАЗИВНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ

СУМИН Д.С.^{1,2}, МАМОШИН А.В.^{1,2}, МОРОЗОВ Ю.М.²

¹ БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница», г. Орёл, Россия, buz_ookb@orel-region.ru

² Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия, info@oreluniver.ru

С каждым годом в нашей стране число пациентов с синдромом механической желтухи (МЖ) различной этиологии увеличивается. Данный синдром приводит к возникновению грубых функциональных нарушений в печени, приводящих к развитию печеночной недостаточности, летальность при которой может достигать от 60 до 80 % [1]. Однако общепринятые показатели клинико-лабораторных и инструментальных методов исследования не могут в полной мере предоставить информацию о функциональном состоянии печени, глубине повреждения паренхимы и прогнозе течения заболевания [1]. В связи с чем целью работы явилось улучшение результатов диагностики печеночной недостаточности у пациентов с синдромом МЖ на фоне выполнения антеградной декомпрессии желчевыводящих путей.

В исследование включены 35 пациентов с синдромом МЖ различной этиологической природы. Всем пациентам выполнены чрескожные минимально инвазивные вмешательства, направленные на декомпрессию желчевыводящих путей с элементом наружного желчеотведения. Для оценки функционального состояния печени и эффективности декомпрессии желчевыводящих путей выполнялось исследование желчи, полученной по пункционной игле и в дальнейшем по дренажному катетеру методом клиновидной дегидратации [2].

Наибольшую чувствительность к изменению функционального состояния печени показали такие морфологические признаки, как однородность и упорядоченность зоны кристаллизации, угол наклона жидкокристаллических линий, варианты которых ранжировались по бальной системе с последующей суммацией полученных баллов. При общей сумме баллов от 3 до 5 имеет место восстановление функционального состояния печени, от 6 до 9 – сохраняется нарушение, а от 10 до 12 - прогрессирует печеночная дисфункция.

Результаты применения метода кристаллографического исследования желчи показали его высокую чувствительность в оценке функционального состояния паренхимы печени.

Представленный подход оценки функционального состояния паренхимы печени является методом дополнительной объективной диагностики, что позволяет использовать его в качестве одного из критериев оценки тяжести печеночной недостаточности и прогнозирования её течения у пациентов с синдромом МЖ.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-25-00487, <https://rscf.ru/project/23-25-00487/>.

Список литературы:

1. Винник, Ю. С. И др. Предикторы печеночной недостаточности при механической желтухе // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2018. – № 3. – С. 37-41.
2. Шабалин, В. Н. Морфология биологических жидкостей человека, 2001. – 304 с.

**ПРИМЕНЕНИЕ FLIM МИКРОСКОПИИ С МОЛЕКУЛЯРНЫМ РОТОРОМ BODIPY2
ДЛЯ АНАЛИЗА МИКРОВАЗКОСТИ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН
ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК**

ШИМОЛИНА Л.Е.¹, ХЛЫНОВА А.Э.¹, МЕТЛИНА В.А.², ИГНАТОВА Н.И.¹,
ДРУЖКОВА И.Н.¹, МОЖЕРОВ А.М.¹, КУИМОВА М.К.³, ШИРМАНОВА М.В.¹

¹ Приволжский исследовательский медицинский университет, г. Нижний Новгород, Россия,
shimolina.l@mail.ru

² Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И.
Лобачевского, г. Нижний Новгород, Россия

³ Имперский колледж Лондона, Южный Кенсингтон, г. Лондон, Великобритания

Микроскопическая вязкость играет важную роль в клеточной биофизике, контролируя скорость диффузии и бимолекулярных реакций внутри клетки. Изменение данного параметра в нормальных клетках может быть связано с опухолевой трансформацией, а может сигнализировать о развитии химиорезистентности. Кроме того, микрорезистентность мембран играет ключевую роль в делении, трансформации, миграции опухолевой клетки. Изучение влияния химиотерапевтических препаратов на вязкость живых клеток важно для лучшего понимания механизмов действия препаратов и оценки эффективности терапии. Целью работы являлось изучение микрорезистентности плазматической мембраны раковых клеток с использованием флуоресцентного молекулярного ротора BODIPY 2 и флуоресцентной прижизненной визуализации FLIM-микроскопии при терапевтическом воздействии.

В исследовании использовались клеточные линии колоректального рака человека: CaCo-2, HT29, HCT116, SW837, SW480, сублинии HCT116 и HT29 химиорезистентные по отношению к 5-фторурацилу и оксалиплатину HCT116_5FUR, HCT116_OXAR, HT29_5FUR, HT29_OXAR. Культивация клеточных линий осуществлялась в полной ростовой среде DMEM в CO₂-инкубаторе (37°C, 5% CO₂, 80% влажности). Для химиотерапии были использованы препараты оксалиплатин и 5-фторурацил. Для визуализации микрорезистентности использовался флуоресцентный молекулярный ротор BODIPY2 в дозе 4.5 мкМ. FLIM изображения получены на лазерном сканирующем микроскопе LSM 880 (Carl Zeiss, Германия), оснащенного модулем FLIM SPC 150 TCSPC (Becker & Hickl GmbH, Германия).

По результатам исследования было показано, что наибольшее значение микрорезистентности наблюдается у клеточной линии SW480. Клеточные мембраны линий HCT116 и SW 480 оказались более жидкими мембранами обладает клеточная линия HT29. При терапевтическом воздействии препаратами платины наблюдается значительное увеличение микрорезистентности после 24 ч инкубации с препаратом, в то время как инкубация с 5-фторурацилом приводила к увеличению микрорезистентности в первые часы, а после 24 ч значения были сравнимы с контролем. Было установлено, что значения микрорезистентности мембран для резистентных к 5-фторурацилу клеточных сублиний сопоставимы с чувствительным аналогом. Интересно, что у клеточных линий, резистентных к оксалиплатину, зарегистрированы более низкие значения микрорезистентности в сравнении с чувствительными аналогами.

Представленное исследование важно для глубокого понимания механизмов действия препаратов и оценки эффективности химиотерапии. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 23-74-00045).

IN VIVO ДИАГНОСТИКА РАКА ПЕЧЕНИ НА ОСНОВЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ С ВРЕМЕННЫМ РАЗРЕШЕНИЕМ И МЕТОДОВ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ

ШУПЛЕЦОВ В.В.¹, ПОТАПОВА Е.В.¹, ДРЁМИН В.В.¹,
ЖЕРЕБЦОВ Е.А.¹, МАМОШИН А.В.^{1,2}, ДУНАЕВ А.В.¹

¹Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия,

valery.shupletsov@bmecenter.ru

²БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница», г. Орёл, Россия

Одним из широко используемых методов оптической биопсии для мониторинга клеточного и тканевого метаболизма является флуоресцентная спектроскопия (ФС) с временным разрешением. Этот метод позволяет изучать изменения энергетического метаболизма и антиоксидантной защиты биологических тканей. В свою очередь в медицинской практике активно развивается применение алгоритмов машинного обучения для анализа изображений и сигналов, в том числе полученных оптическими методами диагностики.

Целью исследования было объединение ФС с временным разрешением и методов машинного обучения для автоматизации разделения паренхимы печени и различных типов опухолей (первичных злокачественных, метастазов и доброкачественных) на классы.

В ходе исследования была разработана установка с тонкоигольным оптическим зондом для проведения оптической биопсии печени под ультразвуковым контролем в клинических условиях [1]. Во время проведения чрескожной пункционной биопсии печени были зарегистрированы кривые спада флуоресценции в условно здоровой печеночной паренхиме и в опухолях. В исследовании приняли участие 35 пациентов. На основе полученных результатов о временных характеристиках затухания флуоресценции и гистопатологической классификации был создан набор размеченных данных. Были реализованы несколько алгоритмов машинного обучения с использованием различных стратегий разделения обучающего и тестового наборов данных, а также проведено сравнение их точности.

Результаты исследования показали, что каждый тип опухоли имеет характерные метаболические сдвиги. Предложенный подход, основанный на машинном обучении, демонстрирует надежное разделение паренхимы печени и различных типов опухолей на опухолевые и условно здоровый классы с высокой чувствительностью и специфичностью. Метод случайного леса достигает чувствительности и специфичности более 0,91 и 0,79 соответственно. Кроме того, было показано, что разработанный метод способен предварительно диагностировать тип опухоли печени (первичный злокачественный рак, метастазы и доброкачественные опухоли) с чувствительностью и специфичностью не менее 0,80 и 0,95 соответственно.

Полученные результаты подчеркивают потенциал предложенного подхода в качестве ключевого инструмента для разработки диагностических и терапевтических стратегий при новообразованиях печени. Использование ФС с временным разрешением и методов машинного обучения может значительно повысить эффективность диагностики и лечения данных заболеваний.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда в рамках проекта № 21-15-00325.

Список литературы:

1. Zherebtsov, E.A., Potapova, E.V., Mamoshin, A.V., Shupletsov, V.V., Kandurova, K.Y., Dremin, V.V., Abramov, A.Y., Dunaev, A.V. Fluorescence lifetime needle optical biopsy discriminates hepatocellular carcinoma // Biomed. Opt. Express. – 2022. – Vol. 13. – P. 633-646.

**30 ЛЕТ РАЗВИТИЯ ТЕХНОЛОГИИ ВРЕМЯ-КОРРЕЛИРОВАННОГО СЧЕТА
ОДИНОЧНЫХ ФОТОНОВ: ОТ ИССЛЕДОВАНИЙ ОДИНОЧНЫХ МОЛЕКУЛ ДО
КЛИНИЧЕСКИХ ПРИЛОЖЕНИЙ**ЩЕСЛАВСКИЙ В.И.^{1,2}¹ Приволжский Исследовательский Медицинский Университет, г. Нижний Новгород, Россия,
vis@becker-hickl.de² Becker&Hickl GmbH, г. Берлин, Германия

Время-коррелированный счет фотонов (TCSPC) как технология возникла в 1961 году когда Боллингер и Томас опубликовали статью «Измерение временной зависимости интенсивности сцинтилляции методом задержанных совпадений» [1].

Возможно ли так, чтобы какая-либо технология смогла «прожить» столь длительный срок? Ответ на этот вопрос – да. Но только если она постоянно совершенствуется и развивается. В технологии TCSPC возникло много новшеств за последние 60 лет: появились лазеры ультракоротких импульсов, сверхчувствительные и сверхбыстрые детекторы в широком спектральном диапазоне, и конечно, сверхбыстрая электроника. Большой шаг в развитии технологии был сделан в 1991 году, когда стало возможным наблюдение кинетики затухания флуоресценции не только в точке, но и в многомерном пространстве - в зависимости от пространственных координат, длины волны, поляризации и других параметров [2]. Это дало начало использованию технологии TCSPC в микроскопии, и в последние десять лет - внедрению ее в клинические исследования [3,4]. Измерения времени жизни флуоресценции стали возможны не только в растворах, но и в одиночных молекулах, клетках, биологических тканях, и даже целых органах. Если ранее время жизни флуоресценции использовалось только для характеристики молекулы, ее времени пребывания в возбужденном состоянии, то теперь этот параметр стал также индикатором микроокружения молекулы, поскольку он зависит от температуры, вязкости, показателя преломления, кислотности и других физико-химических параметров микроокружения [5-7].

В этом докладе будет рассказано без формул, но с картинками как считать одиночные фотоны, что такое флуоресцентный и фосфоресцентный имиджинг с временным разрешением, как он может помочь в решении задач биологии и медицины и какие у него есть все-таки, несмотря на многие достоинства, ограничения.

Список литературы

1. Bollinger, L.M., Thomas, G.E. Measurement of the time dependence of Scintillation Intensity by a Delayed-Coincidence Method // *Rev. Sci. Instr.* – 1961. – Vol. 32. – P. 1044-1050.
- 2 Becker, W., Stiel, H., Klose, E. Flexible Instrument for time-correlated single photon counting // *Rev. Sci. Instr.* – 1991. – Vol. 62. – P. 2991-2996.
3. Becker, W. Fluorescence lifetime imaging-techniques and applications // *J. Micr.* – 2012. – Vol. 247. – P. 119-136.
4. Datta, R., Heaster, T., Sharick, J. et al. Fluorescence lifetime imaging microscopy: fundamentals and advances in instrumentation, analysis, and applications // *J. Biomed. Opt.* – 2020. – Vol. 25. – 071203.
5. Okabe, K., Inada, N., Gota, et al. Intracellular temperature mapping with a fluorescent polymeric thermometer and fluorescence lifetime imaging microscopy // *Nat. Commun.* – 2012/ - Vol. 3. – P. 705.
6. Suhling, K., Siegel, J., Philips, et al. Imaging the environment of green fluorescent protein // *Biophys. J.* – 2002. – Vol. 83. – P. 3589–3595.
7. Haidekker, M. A., Theodorakis, E. A. Molecular rotors–fluorescence biosensors for viscosity and flow // *Org. Biomol. Chem.* – 2007. – Vol. 5. – P. 1669–1678.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОЦИТОТОКСИЧНОСТИ КОМПЛЕКСОВ
АПКОНВЕРСИОННЫХ НАНОЧАСТИЦ С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОМ**

АНИСИМОВ Р.А.,¹ ЛОМОВА М.В.,¹ КОЧУБЕЙ В.И.,^{1,2} ЯНИНА И.Ю.^{1,2}

¹Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, г. Саратов, Россия, anisimovrnm@sgu.ru

²Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия,

Апконверсионные наночастицы (АКНЧ) многообещающи благодаря своим люминесцентным свойствам для визуализации посредством повышения контрастности изображений из-за отсутствия аутофлуоресценции ткани и фотостабильности [1]. Вследствие этого АКНЧ представляют интерес для биофотоники в медико-биологической практике [2].

В литературе имеются противоречивые сведения о цитотоксичности АКНЧ. Поэтому частицы как правило помещают в различные носители, такие как частицы ватерита или полиэлектролитные капсулы [3]. Авторами было показано, что образование полых микрокапсул или микрокапсул ядро-оболочка помогает дистанционно контролировать проницаемость оболочек [4]. В этой связи имеет ценность разработка комплекса с АКНЧ и фотосенсибилизатором (ФС).

В экспериментах использовали 4Т1 клеточную линию рака молочной железы *in vitro*. Клетки высевали в планшеты для культивирования с 1% смеси пенициллина-стрептомицина, 2 mM L-глутамина и 10% фетальной бычьей сыворотки. Выращивание клеток проводили в специальном инкубаторе с 5% CO₂ при 37 °С. Среду меняли каждые 2 дня. Культуры клеток с образованием 75-85% монослоя снимали с использованием 0,25% трипсина и подсчитывали с помощью гемоцитометра количество клеток.

В работе использовались АКНЧ собственного производства NaYF₄: Yb³⁺, Er³⁺, синтезированные гидротермальным методом. Концентрация АКНЧ составляла 5 мг/мл. В качестве ФС использовали Cu₃ и Cu₅.

Выживаемость клеток изучали путем добавления суспензии комплексов и дальнейшего лазерного ИК облучения. Для комплексов наблюдались характерные цитотоксические и цитостатические свойства. Результаты данного исследования могут быть использованы при разработке комплексных препаратов для фотодинамической терапии.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-72-10057, <https://rscf.ru/project/21-72-10057/>

Список литературы

1. Li, Y., Chen, G. Upconversion Nanoparticles for Cancer Therapy // Adv. NanoBiomed Res. – 2022. – Vol.2. – No.12. – P. 2200092.
2. Lakshmanan, A., et al. Nanocurcumin-Loaded UCNPs for Cancer Theranostics: Physicochemical Properties, In Vitro Toxicity, and In Vivo Imaging Studies // Nanomaterials (Basel). – 2021. – Vol .11. – No.9. – P. 2234.
3. Du, K., et al. Nanocomposites based on lanthanide-doped upconversion nanoparticles: diverse designs and applications / K. Du // Light Sci Appl. – 2022. – Vol .11. - P.222.
4. Giriya, A.R., Balasubramanian, S. Theragnostic potentials of core/shell mesoporous silica nanostructures / A.R. Giriya // Nanotheranostics. – 2019. – Vol . 3. – No.1. – P. 1-40.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ ПАРАМЕТРОВ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ
БИОТКАНИ И МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ КРОВИ С ПОМОЩЬЮ ПОРТАТИВНОГО
МУЛЬТИМОДАЛЬНОГО АНАЛИЗАТОРА**

ЯНУШИН В.С., ЖАРКИХ Е.В., ДУНАЕВ А.В.

Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия,
slava.yanushin@bk.ru

Одними из основных факторов, влияющих на высокий показатель смертности, являются нарушения в работе сердечно-сосудистой системы. Система микроциркуляции крови является первым звеном, которое вовлекается в патологический процесс в различных критических ситуациях. Своевременное выявление нарушений в функционировании микроциркуляторно-тканевых систем (МТС) организма человека может помочь предотвратить развитие серьезных осложнений [1]. Целью данной работы является анализ взаимосвязи параметров интенсивности автофлуоресценции кожи и характеристик микроциркуляторного кровотока, измеренных портативными мультимодальными анализаторами «ЛАЗМА ПФ» (ООО НПП «ЛАЗМА», Москва), реализующими методы лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) и флуоресцентной спектроскопии (ФС).

Проведены пилотные экспериментальные исследования, в которых приняли участие 21 условно здоровый волонтер в возрасте 18-23 лет. Как известно, для выявления ранних нарушений МТС широко применяют различные функциональные (нагрузочные) пробы, например окклюзионную пробу (ОП). Анализаторы закреплялись на тыльной стороне запястий, а также на 3-м пальце ладонной поверхности правой руки. В соответствии с протоколом исследования производилась регистрация базального кровотока (в покое) в течение 7 мин, далее проводилась 3-х минутная артериальная окклюзия и регистрировалось восстановление тканевой перфузии в течении 8 мин. В работе анализировались – показатель микроциркуляции крови (ПМ) и нормированная на обратно-отраженное излучение амплитуда интенсивности флуоресценции кофермента НАДН ($A_{\text{НАДН}}$). В интервале регистрации базального кровотока выявлена значимая корреляция значений ПМ и $A_{\text{НАДН}}$ в области пальцев рук ($r = -0,36$) и запястий ($r = -0,44$). Анализ данных ОП показал, что снижение интенсивности кровотока приводит к увеличению амплитуды НАДН в обеих областях исследования, что может свидетельствовать о накоплении НАДН в результате создания условий искусственной ишемии.

Таким образом, в результате предварительных исследований установлена зависимость изменений параметров автофлуоресценции кожи от тканевой перфузии. Полученные результаты могут быть использованы для разработки новых подходов к интерпретации результатов флуоресцентной диагностики, что в конечном итоге приведет к усовершенствованию методологической и инструментальной базы для совместного применения в клинической практике методов ЛДФ и ФС в носимом варианте.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 23-25-00522).

Список литературы:

1. Крупаткин, А.И. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: Колебания, информация, нелинейность. Руководство для врачей. Изд. 2-е. / А.И. Крупаткин, В.В. Сидоров – М.: ЛЕНАНД, 2016. – 496 с.

Научное издание

**СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ
В КЛЕТОЧНОЙ БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ**

Сборник трудов
Всероссийской конференции
г. Орёл, 16-17 ноября 2023 года

Печатается в авторской редакции
Технический редактор Н.В. Голубова

Подписано к печати 23.11. 2023 г. Формат 60×90 /16.
Усл. печ. л.3,56. Тираж 500 экз.
Заказ №

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева»
302026, г. Орёл, ул. Комсомольская, д. 95
<http://oreluniver.ru>.

Отпечатано с готового оригинал-макета
на полиграфической базе ОГУ имени И.С. Тургенева
302030, г. Орёл, ул. Комсомольская, 95.
<http://oreluniver.ru>.