

6. Химия, биохимические функции и применение пантотеновой кислоты // Матер.4-го гродненского симпозиума / А. Г. Мойсеёнок (отв. ред.) [и др.]. – Гродно: Наука и техника, 1977. – 212 с.

7. Чумаков, В. Субъект творения. Документально-художественная повесть / Изд. «Содружество ПосредникЪ 2,0», Москва, 2012. – 250 с.

РОЛЬ БИОХИМИИ В СОЗДАНИИ И РАЗРАБОТКЕ СРЕД ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ТКАНЕЙ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

Мотылевич Ж. В.

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Введение. Одной из современных наукоемких технологий, способных обеспечить человека новыми лекарственными средствами, сбалансированными продуктами питания, создать новые искусственные органы и ткани, целенаправленно изменить свойства микроорганизмов, и многое другое, является биотехнология. В основе этой новой прикладной дисциплины лежит метод культивирования клеток и тканей *in vitro*.

Основная часть. История развития этого метода и превращение его в технологию определялась научными достижениями, в том числе, в области биохимии. Длительный период времени с 1890 по 1948 годы был ознаменован попытками создания первых элементарно простых питательных сред для сохранения и выращивания клеток и тканей животных. Идея о том, что клетки тканей высших животных можно выделить из организма и затем создать условия для роста и воспроизводства их *in vitro*, датируется первым десятилетием XX века и принадлежит Клоду Бернару. Он предположил, что изолированная клетка вне организма животного тоже будет стремиться, не только поддерживать гомеостаз, но и расти и делиться. В 1885 году работами У. Ру была показана возможность сохранения клеток тканей куриного эмбриона, помещенных в теплый физиологический раствор, однако клетки ткани удавалось сохранить жизнеспособными только в течение очень короткого промежутка времени. В 1897 г. Лёб предпринял попытку сохранения клеток соединительной ткани, поместив их в пробирки, содержащие кровь. Эксперименты, проведенные Джолли (1903 г.), Бибом, Эвингом (1906 г.), показали наличие возможности деления клеток,

культивированных в висячей капле, содержащей лейкоциты саламандры. Благодаря работам Харрисона, и Барроуз удалось сохранить клетки соединительной ткани цыпленка и клетки его сердечной мышцы в течение 2 месяцев (1912 г.). Однако настоящим первооткрывателем метода можно считать Алекса Карреля, французского хирурга, биолога, лауреата Нобелевской премии по физиологии и медицине. Целью его экспериментов было определить условия, при которых активная жизнь тканей вне организма может быть продлена на неопределенный срок. Он предположил, что скорость старения клеток и гибель культуры зависит от скорости накопления продуктов распада и истощения среды. В то время никто не осмеливался даже и предположить, что продолжительность жизни ткани (клеток) вне организма (*in vitro*) может значительно превышать время ее обычной жизни в организме (*in vivo*). А. Каррель применил плазму крови, обогащенную экстрактом эмбриона. Добавка такого экстракта ускоряла рост тканей. Примененная методика обеспечивала значительно большую вероятность успеха, чем та, которую использовали Левис (1911 г.) и Рид (1908 г.), хотя Рид пыталась подобрать среду определенного химического состава для культуры клеток костного мозга. А. Каррелю удалось расширить возможности культивирования клеток куриного зародыша и сохранять клетки жизнеспособными в искусственных условиях в течение 3-4 месяцев. По мере накопления знаний в области биохимии, совершенствовались и химические составы для культивирования. И только к 1948 году благодаря работам Тирода, Рингера, Хэнкса и Сэнфорд удалось достичь более или менее значительного прогресса в этой области. Какими знаниями обладали ученые в этот период? Первое упоминание о витаминах относится к 1747 году, а основные концепции в этом направлении сформировались в период до 1930 года (Джозеф Голдберг (1920 г.), Фрэнк Стренг, Д.Уэйн Вулли, Конрад Эльвейм (1937 г.)). Основные работы по изучению спиртового брожения Эдуарда Бухнера датированы периодом с 1897- по 1930 годы, к этому же периоду относится установление полного метаболического пути (в дрожжах – работы Отто Варбурга и Ганса Эйлера-Челпина, в мышцах – работы Густава Эмбдена и Отто Мейерхофа). Ганс Кребс работал над циклом трикарбоновых кислот с 1932 по 1937 годы, а окончательное признание работа получила только в 1953 году присвоением Нобелевской премии. Работы по изучению Пути прямого окисления углеводов (пентозофосфатный

цикл) датированы 1935–1937 гг. (О. Варбург, Ф. Липман, Ф. Диккенс (1935 г.), В.А. Энгельгард (1938 г.)). Только в 1953 г. Д. Уотсон и Ф. Крик предложили модель двойной спирали строения ДНК и в 1966 г. П. Митчелл сформулировал хемиосмотическую теорию сопряжения окисления и фосфорилирования. Таким образом, по мере развития фундаментальных знаний, приходило понимание того, какие условия должны быть соблюдены для работы *in vitro* и как подобрать среду. Для успешного поддержания роста и размножения клеток в условиях *in vitro* должны быть сохранены условия, максимально поддерживающие все физиологические процессы, присущие клеткам в целостном организме: наличие питательных веществ, энергетических субстратов, транспортных белков, факторов роста, ферментов, соблюдены рН, осмотическая концентрация раствора среды, температура, соответствующая концентрация газов (углекислый газ, кислород, азот) и др. То есть в изолированной искусственно созданной системе должны проходить все химические реакции, обеспечивающие полноценный обмен веществ в клетке. И только тогда изолированные клетки и ткани могут поддерживаться в жизнеспособном состоянии, расти и производить необходимый продукт (например, антитела). Методика культивирования клеток и тканей постоянно совершенствовалась и уже в 1955 г. Гарри Игл показал, что комплекс экстрактов тканей, сгустков и т. д. ранее использовавшихся для роста клеток может быть заменен на «...произвольную смесь аминокислот, витаминов, кофакторов, углеводов, липидов и микроэлементов, с добавлением небольшого количества сывороточного белка». Это исследование фактически положило начало созданию современных сред для культивирования клеток животных. В дальнейшем удалось не просто культивировать клетки неограниченное время, но и получить генетически измененные клеточные линии, используя методы мутагенеза, гибридизации, перепрограммирования клеток и тканей, клонирования отдельных клеток, а также получить химерные антитела и многие другие биотехнологические продукты (Хейфлик и Мурхед (1961 г.), Лейбовиц, Маркус (1963 г.), Хэм, МакКин, Веймус (1979 и 1981 гг.), Барнс, Сато (1980 г.), и др.). Трудно объективно оценить тот вклад, который внесли энтузиасты и мастера своего дела в развитие данного направления. Их имена мы часто встречаем в названиях сред, культур клеток, методов, им мы обязаны современными достижениями в области биотехнологии. В настоящее время в биотехнологии

используются различные коммерческие среды. Их условно можно разделить на следующие виды: обычная, свободная от сыворотки (бессывороточная), свободная от белков, либо иная химически модифицированная среда. Обычная среда для культивирования используется для различного рода исследований и содержит в качестве основных компонентов сбалансированный солевой раствор, аминокислоты, витамины, неорганические соли, источники энергии (глюкоза, галактоза и др.), некоторые органические добавки, жиры и их предшественники, основные нуклеотиды. В качестве добавок могут быть использованы гормоны, интерфероны, интерлейкины, факторы роста, трансэлементы (минералы) и др., необходимым элементом многих сред является эмбриональная сыворотка (теленка, лошади, человека) или БСА (бычий сывороточный альбумин). Элементарная среда может быть представлена солевым раствором. Свободная от сыворотки среда (Serum-free medium) так же может быть использована в тех случаях, когда использование сыворотки не представляется возможным. Термин «свободная от белков» среда (Protein – Free Media (PFM)) условен и означает, что такая среда не содержит полипептидов, весом более 10 kDa, в своей рецептуре, хотя она и может быть обогащена гидролизатом белков, которые должны быть подвержены ультрафильтрации. Такая среда применяется в фармацевтическом производстве в тех случаях, когда необходимо избежать контакта с любыми продуктами животного происхождения. В этих случаях трипсин заменяется на рекомбинантный трипсин, а факторы роста – на рекомбинантные факторы роста, инсулин и трансферрин – на рекомбинантные. БСА (бычий сывороточный альбумин) тоже должен быть заменен на отдельные дополнительные компоненты, содержащиеся в нем. Химически определенная среда, свободная от сыворотки (Chemically Defined Serum-Free Media (CDM)). CDM предполагает, что химическая структура каждого компонента среды известна.

Заключение. Таким образом, можно сделать вывод о том, что без знаний основных биохимических процессов, происходящих в клетке, невозможно не только направленное манипулирование процессами ее роста и развития, но и само поддержание ее в жизнеспособном состоянии без которого успех и развитие метода как технологии, был бы невозможен.

ЛИТЕРАТУРА

1. Medicines from Animal Cell Culture. Editors: Glyn Stacey, John Davis, UK, 2007, p. 569-587.
2. Animal Cell Technology: From Biopharmaceuticals to Gene Therapy. Edited by Leda R. Castilho, Angela Maria Moraes, Elisabeth F. P. Augusto, Michael Butler, UK&USA, 2008, p. 349-372.
3. Basic principles of cell culture/R. Ian Freshney, 2005, pp. 115-129.

ВЛИЯНИЕ ДОЗИРОВАННОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ НА БЕЛКОВЫЙ ПРОФИЛЬ БЕЛОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ КРЫС

¹Надольник Л. И., ²Янцевич А. В., ¹Шуриберко А. В.,

¹Чумаченко С. С., ³Флоурис А.

¹Институт биохимии биологически активных соединений НАН
Беларуси,

²Институт биоорганической химии НАН Беларуси,

³Центр науки и технологий Тессали, Трикала, Греция

Введение. Проблема избыточной массы тела чрезвычайно актуальна в настоящее время; значительно вырос интерес к вопросам регуляции метаболизма белых адипоцитов, а также механизмам дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток в различные типы адипоцитов (белые, бурые, бежевые), поиску способов и средств влияния на эти процессы [1, 2]. Это важно в связи с достаточно хорошо подтвержденными фактами о роли жировой ткани в патогенезе ожирения, инсулинорезистентности, диабета, сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний. Особый интерес здесь может представлять физическая нагрузка, учитывая её роль в активации различных метаболических процессов, включая эффективное использование энергетических субстратов.

Цель работы: оценить влияние ежедневной дозированной физической нагрузки на белковый профиль белой жировой ткани крыс.

Методы исследования. Исследования выполнены на самцах крыс массой 250-270 г. Влияние физической нагрузки на функцию белой жировой ткани (БеЖТ) изучалось на модели добровольного бега крыс в тредбане; 6 групп: бег 4 недели, контроль 4 недели; бег 8 недель, контроль 8 недель; бег 8 недель + восстановительный период