

Министерство здравоохранения Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Северо-Западный государственный
медицинский университет имени И. И. Мечникова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

**СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ
ВСЕРОССИЙСКОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ
КОНФЕРЕНЦИИ
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ**

**«СОВРЕМЕННЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ
ХИМИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ
НАУК В ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ
И КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ»**

Санкт-Петербург
3 декабря 2020 года

Под редакцией А. В. Силина, Л. Б. Гайковой

Часть 2

Санкт-Петербург
2020

УДК 54+57+61

ББК 24.28.5

С56

Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине: сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. 3 декабря 2020 года / Под ред. А.В. Силина, Л.Б. Гайковой. Ч. 2. – СПб.: Изд-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2020. – 312 с.

ISBN 978-5-89588-119-4

Ч. 2. 978-5-89588-121-7

Редакционная коллегия: д.м.н., доц., зав. кафедрой биологической и общей химии им. В.В. Соколовского *Гайковая Л.Б.*, д.х.н., проф. *Дадали В.А.*, к.п.н., доц. *Иванова И.С.*, к.х.н., доц. *Попов А.С.*, к.х.н., доц. *Чухно А.С.*, к.б.н. *Власова Ю.А.*

Сборник научных трудов предназначен для сотрудников образовательных организаций высшего и дополнительного профессионального медицинского образования, врачей клинической лабораторной диагностики и других специальностей, сотрудников научно-исследовательских институтов и лабораторий, обучающихся медицинских вузов по программам специалитета, магистратуры, ординатуры, аспирантуры, сотрудников органов и учреждений, подведомственных Минздраву России и Роспотребнадзору, должностных лиц органов исполнительной власти, курирующих вопросы укрепления общественного здоровья и оказания медицинской помощи населению и других заинтересованных лиц.

Материалы публикуются в авторской редакции.

ISBN 978-5-89588-119-4

Ч. 2. 978-5-89588-121-7

Проблемное поле конференции:

- актуальные вопросы физической, коллоидной, аналитической, органической и неорганической химии природных и биологически активных соединений, а также применение химии в медицинской практике;
- актуальные вопросы биологической и медицинской химии;
- современные достижения в клинической лабораторной диагностике;
- проблемы теории и практики химико-биологического образования в медицинском вузе.

© Издательство СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2020

СОДЕРЖАНИЕ

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ И МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ	8
<i>Абаленихина Ю.В., Шулькин А.В., Ерохина П.Д.</i> Оценка окислительного стресса при экзогенном воздействии пероксида водорода <i>in vitro</i>	8
<i>Андреева Е.А., Довбыш О.В., Дубровский Я.А., Филатенкова Т.А., Комлев А.С., Кудрявцев И.В., Янкевич И.А., Шамова О.В.</i> Исследование интернализации флуоресцентно-меченных антимикробных пептидов в опухолевые клетки K-562 <i>in vitro</i>	14
<i>Астратенкова И.В., Голованова Н.Э., Селина Е.Н.</i> Актуальность исследования полиморфизма генов ферментов антиоксидантной системы для оценки предрасположенности человека к мультифакторным заболеваниям	18
<i>Бердичевский Г.М., Васина Л.В., Галкин М.А.</i> Изучение влияния детонационных наноалмазов на мембрану митохондрий	23
<i>Бландов А.Н., Шлейкин А.Г., Кружляк Петер (Kruzliak Peter), Муста Оглы Н.М.</i> Источники канцерогенов и механизмы возникновения рака	28
<i>Великанова Л.И., Шафигулина З.Р., Ворохобина Н.В., Малеваная Е.В.</i> Основные варианты стероидных профилей мочи при адренокортикальном раке на основе метода газовой хромато-масс-спектрометрии	34
<i>Власова Ю.А.</i> Защитный и антиоксидантный эффект ганглиозидов	41
<i>Вольхина И.В., Наумова Н.Г.</i> Изменения показателей обмена биополимеров соединительной ткани при иммобилизации в тонкой кишке крыс	48
<i>Воронина П.А., Шмурак В.И., Баталова А.А., Белинская Д.А., Гончаров Н.В.</i> Влияние внутримолекулярных дисульфидных связей на ферментативную активность бычьего сывороточного альбумина в эксперименте <i>in vitro</i>	53
<i>Дубинина Е.Е., Щедрин Л.В.</i> Роль активных форм кислорода в регуляции клеточных сигнальных путей в норме и при патологии	60
<i>Жукова О.Ю., Богданчикова П.В., Цвяк М.А., Конышева А.А.</i> Влияние состава среды выделения при получении гомогенатов тканей животных на активность супероксиддисмутазы и каталазы	67

<i>Заерко А.В., Федина Е.М., Зиматкин С.М., Валько Н.А.</i> Иммунореактивность NeuN, нейроглобина и АТФ-синтазы в развивающихся гистаминергических нейронах гипоталамуса крысы	73
<i>Захаров А.С., Матвеева И.В., Короткова Н.В.</i> Роль катепсинов в клеточной смерти и канцерогенезе.....	79
<i>Киндон В.К., Беспалов А.В., Доценко В.В.</i> Синтез и свойства соединений на основе 2-хлор-N-(3,4-диарилтиазол-2(3H)-илиден) ацетамидов	86
<i>Кириллова Н.В., Спасенкова О.М., Ли А.О.</i> Влияние малобелка на содержание общих липидов и гликогена в печени и мышцах при экспериментальном стеатозе печени	91
<i>Кличханов Н.К., Джафарова А.М., Аль-Раби М.А.М., Газимагомедова М.М.</i> Липидный состав плазмы крови крыс при умеренной гипотермии	94
<i>Крысько М.В., Стрелова О.Ю., Головина А.Е., Шаландаева М.С.</i> Трудности интерпретации результатов химико-токсикологического анализа при обнаружении лекарственных веществ с особенностями метаболизма (фенибут, селегилин, мебеверин)	99
<i>Лукашевич В.С., Новаковская С.А., Пыж А.Э., Рудниченко Ю.А., Хрусталёва Т.А.</i> Структурно-функциональный анализ состояния организма экспериментальных животных под влиянием длительного приема алкоголя	106
<i>Магомедова М.А., Абдуллатипов А.И., Газимагомедова М.М.</i> Изменение уровня некоторых метаболитов углеводно-липидного метаболизма у подростков Дагестана в зависимости от природно-климатических условий.....	113
<i>Манасян А.Л., Апрятин С.А., Муртазина Р.З., Клименко В.М.</i> Поведенческие особенности самок крыс нокаутной линии TAAR9-KO	118
<i>Миронова К.А., Бакурова Е.М.</i> Нарушение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в клетках крови у пациентов с онкопатологией	126
<i>Мирошникова Е.Б., Дадали Ю.В., Дадали В.А., Галевская Л.В.</i> К вопросу о влиянии некоторых соединений фенольной природы на стабильность биомембран в модели фотоиндуцированного гемолиза эритроцитов: I. Сравнение эффектов коэнзима Q ₁₀ и мексидола.....	131
<i>Мухамеджанов Э.К., Лю М.Б.</i> Биохимические основы развития метаболического синдрома	140

7. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии [Электронный ресурс] / ред. К. Уилсон и Дж. Уолкер; пер. с англ. — 2-е изд. (эл.). — Электрон. текстовые дан. (1 файл pdf : 855 с.). — М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. — (Методы в биологии). — Систем. требования: Adobe Reader XI; экран 10».

8. Черданцев Д.В., Винник Ю.С., Каспаров Э.В. Диагностика и лечение окислительного стресса при остром панкреатите. Новосибирск, 2002. 147с.

9. Эмирбеков Э.З., Магомедова Н.Г., Мирская Р.О., Мейланов И.С. Исследование активности каталазы в тканях лягушки озерной *Rana ridibunda* при гипотермии и самосогревании// Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. Приложение. 2004. №6. С. 55-60.

УДК 612.015.1:611.814.1-018.82]-092.9

**Заерко А.В.¹, Федина Е.М.², Зиматкин С.М.³,
Валько Н.А.⁴**

Гродненский государственный медицинский университет

Гродно, Беларусь

*wersall_91@mail.ru¹, phedina.katerina@mail.ru², smzimatkin@mail.ru³,
sumeresto@gmail.com⁴*

Иммунореактивность NeuN, нейроглобина и АТФ-синтазы в развивающихся гистаминергических нейронах гипоталамуса крысы

Цель исследования — оценка содержания NeuN, Ngb и АТФ-синтазы в гистаминергических нейронах мозга крыс в динамике постнатального онтогенеза. Исследование выполнено на 5-, 10-, 20-, 45- и 90-суточных беспородных белых крысах. Установлено, что в ходе постнатального развития гистаминергических нейронов происходит синхронное возрастание иммунореактивности NeuN, Ngb и АТФ-синтазы.

Ключевые слова: *гистаминергические нейроны, NeuN, Ngb, АТФ-синтаза, постнатальное развитие.*

Zaerko A.V., Phedina K.M., Zimatkin S.M., Valko N.A.
*Grodno State Medical University
Grodno, Belarus*

Immunoreactivity of NeuN, neuroglobin and ATP synthase in developing histaminergic neurons of the rat hypothalamus

The aim of the research work is content assessment of NeuN, Ngb, and ATP synthase in histaminergic neurons of rat brain in the postnatal ontogenesis

dynamics. The study was performed on 5-, 10-, 20-, 45- and 90-day old outbred white rats. During the postnatal development of histaminergic neurons a simultaneous increase in the immunoreactivity of NeuN, Ngb and ATP synthase occurs.

Key words: *histaminergic neurons, NeuN, Ngb, ATP synthase, postnatal development.*

Введение. В последние десятилетия для изучения развития нейронов в постнатальном онтогенезе активно используются молекулярные маркеры, которые позволяют не только определять морфологические особенности созревания клеток, но и получать сведения об их дифференцировке и функциональном состоянии.

Так, белок NeuN (neuronal nuclei) — маркер зрелых нейроцитов — активно используется в иммуногистохимических исследованиях как универсальный нейроспецифический маркер при изучении дифференцировки нейронов [1]. Нейроглобин (Ngb) — железосодержащий белок, который служит для депонирования и транспорта кислорода к митохондриям нейронов, тем самым способствуя поддержанию кислородного гомеостаза мозга [3], а также влияет на некоторые метаболические пути, включая поддержание ионного гомеостаза, энергетического метаболизма и передачу клеточных сигналов [9]. АТФ-синтаза — интегральный белок внутренней мембраны митохондрий. Он расположен в непосредственной близости к дыхательной цепи и обозначается как V комплекс, осуществляющий реакцию синтеза АТФ из АДФ [2].

Одной из наиболее важных нейротрансмиттерных систем головного мозга является гистаминергическая. Тела гистаминергических нейронов в головном мозге взрослых позвоночных ограничены туберомамиллярной областью заднего гипоталамуса, Гистаминергическая система устроена по «древовидному» принципу: небольшое количество крупноклеточных нейронов (в мозге крысы — лишь 3–4 тысячи, в мозге человека — 64 тысячи) иннервируют миллиарды клеток коры и подкорковых структур и таким образом участвуют в регуляции многих функций ЦНС [4].

Представляет значительный интерес изучение иммунореактивности перечисленных выше молекулярных маркёров в развивающихся гистаминергических нейронах, поскольку в мировой литературе данные о подобных исследованиях отсутствуют.

Цель исследования: оценка содержания NeuN, нейроглобина и АТФ-синтазы в гистаминергических нейронах мозга крыс в динамике постнатального онтогенеза.

Материал и методы исследования. Исследование выполнено на потомстве беспородных белых крыс (всего 15 крысят). Декапитацию крысят осуществляли на 5-е, 10-е, 20-е, 45-е и 90-е сутки после рождения, быстро извлекали головной мозг, вырезали гипоталамус. Образцы гипоталамуса фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде [6] при +4°C (на ночь), затем заключали в парафин и изготавливали парафиновые срезы толщиной 5 мкм. Препараты обрабатывали согласно протоколу иммуноцитохимической реакции для световой микроскопии, исключающей процедуру теплового демаскирования антигенов [7].

С целью оценки созревания гистаминергических нейронов, в гипоталамусе определяли нейрональный ядерный белок NeuN (маркер зрелых нейронов) [1]. Для иммуногистохимического выявления NeuN применяли первичные поликлональные кроличьи антитела фирмы Abcam (Великобритания) – ab.128886 (в разведении 1:400, при +4°C, 20 ч., во влажной камере). Для выявления связавшихся первичных антител использовали набор EXPOSE Rabbit specific HRP/DAB detection IHC kit ab.80437 Abcam (Великобритания).

Для иммуногистохимического выявления нейроглобина – белка, вовлеченного в поддержание газового гомеостаза клетки [3], применяли первичные моноклональные мышинные антитела Anti-Ngb antibody фирмы Abcam (Великобритания, ab. 14748) в разведении 1:600 при +4°C, экспозиция 20 ч, во влажной камере. Для выявления связавшихся первичных антител использовали набор EXPOSE Mouse and Rabbit specific HRP/DAB detection IHC kit Abcam (Великобритания, ab. 80436).

Для определения иммунореактивности молекулярного маркера митохондрий АТФ-синтазы (комплекса V, образующего АТФ из АДФ) [2], применяли первичные моноклональные мышинные антитела Anti-ATP5A antibody фирмы Abcam (Великобритания, ab. 14748) в разведении 1:2400 при +4°C, экспозиция 20 ч, во влажной камере. Для выявления связавшихся первичных антител использовали набор EXPOSE Mouse and Rabbit specific HRP/DAB detection IHC kit Abcam (Великобритания, ab. 80436).

Гистологические препараты изучали, фотографировали и анализировали с помощью микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), встроенной цифровой видеокамеры Leica (DFC 320, Германия), а также программы компьютерного анализа изображения Image Warp (Bit Flow, США). Цитофотометрическое исследование иммуногистохимических препаратов проводили, определяя оптическую плотность полученного осадка хромогена в цитоплазме гистаминергиче-

ских нейронов, на максимуме поглощения окрашенных продуктов реакций.

Полученные данные обрабатывали методами непараметрической статистики с помощью программы Statistica 10.0 (StatSoft, Inc., США). Сравнение групп по одному признаку проводили с помощью критерия Манна–Уитни для независимых выборок (Mann-Whitney U-test).

Результаты и их обсуждение. С 5-х по 90-е сутки постнатального развития крыс содержание всех изученных молекулярных маркёров в гистаминергических нейронах значительно возрастает. Они располагаются в виде мелкой зернистости преимущественно в цитоплазме перикарионов, не выявляясь в ядрах нейронов и их мало в нейропиле, между телами нейроцитов. Отчётливо прослеживается увеличение размеров гистаминергических нейронов и увеличение содержания изученных молекулярных маркёров в их цитоплазме в постнатальном онтогенезе.

Иммунореактивность ядерного белка NeuN (маркер зрелых нейроцитов) в гистаминергических нейронах гипоталамуса с 5-х по 90-е сутки постнатального развития возрастает в 1,4 раза ($p < 0,001$). Так, в интервалах с 5-х по 10-е сутки, с 10-х по 20-е и с 20-х по 45-е сутки иммунореактивность данного маркера увеличивается в 1,1 раза, а с 45-х по 90-е сутки не претерпевает значительных изменений.

Экспрессия Ngb (белок, вовлеченный в поддержание кислородного гомеостаза клетки) с 5-х по 90-е сутки постнатального развития в гистаминергических нейронах мозга крыс возрастает в 1,6 раза ($p < 0,001$). При этом с 5-х по 10-е сутки иммунореактивность данного маркера увеличивается в 1,2 раза, с 10-х по 20-е сутки – в 1,1 раза, с 20-х по 45-е сутки – в 1,2 раза, а с 45-х по 90-е сутки существенно не меняется.

Иммунореактивность маркера митохондрий АТФ-синтазы в гистаминергических нейронах ядра E2 гипоталамуса крыс с 5-х по 90-е сутки постнатального развития возрастает в 1,5 раза. При этом с 5-х по 10-е сутки, с 20-х по 45-е и с 45-х по 90-е сутки иммунореактивность данного маркера увеличивается в 1,1 раза, а с 10-х по 20-е сутки не претерпевает существенных изменений.

Постепенно нарастающая иммунореактивность белка NeuN (маркера дифференцирующихся нервных клеток) в цитоплазме гистаминергических нейронов вплоть до 45-х суток постнатального онтогенеза, свидетельствует о том, что после рождения животных дифференцировка гистаминергических нейронов активно продолжается. Высокий уровень экспрессии NeuN сохраняется в исследованных нейроцитах и на 90-е сутки. Согласно литературным данным, экс-

прессия NeuN выявляется в течение всей жизни нейрона. Следует отметить, что присутствие данного белка исключительно в нейронах, его преимущественно внутриядерная локализация и способность связываться с РНК позволили ученым высказать предположение об участии NeuN в процессах нейронспецифического сплайсинга пре-мРНК. Косвенным подтверждением его функционирования как регулятора сплайсинга является концентрирование данного белка в составе ядерных спеклов (ядерных телец, состоящих из интерхроматинных гранул), которые являются местами хранения и модификации факторов сплайсинга. Предполагается участие NeuN в процессинге первичной микроРНК. Присутствие NeuN в течение всей жизни нейрона, в свою очередь, указывает на роль этого белка как постоянного регулятора общих проявлений нейронального фенотипа, т. е. специфических признаков нейронов [1].

В растущей и развивающейся клетке происходит усиленный синтез пластических веществ, сопровождающийся активацией окислительных процессов и, соответственно, увеличением потребности клеток в кислороде. Поскольку нейроглобин служит для депонирования и переноса кислорода к митохондриям нейронов с целью обеспечения функционирования системы окислительного фосфорилирования [3], вполне закономерным является его возрастающая иммунореактивность в гистаминергических нейронах с 5-х по 90-е сутки постнатального развития крыс. Предполагается, что белок нейроглобин должен концентрироваться в цитоплазматических компартментах, где непосредственно происходят окислительные процессы [5]. Следовательно, наиболее вероятна его локализация в митохондриях или вблизи этих органелл. Проведённые Lechavue и соавторами биохимические исследования указывают на присутствие нейроглобина в составе именно митохондриальной фракции [8]. Однако данные о совместном расположении этого белка и митохондриальных маркеров пока не получены, поэтому можно предположить, что нейроглобин локализуется только в части митондрий нервных клеток.

Активно дифференцирующиеся гистаминергические нейроны нуждаются в значительном количестве энергии, запасаемой в макроэргических связях АТФ, синтез которой является одной из основных функций митондрий. Митондриальная мембранная АТФ-синтаза продуцирует АТФ из АДФ с помощью трансмембранного градиента протонов, который генерируется электрон-транспортными комплексами дыхательной цепи. Энергия трансмембранного градиента используется для синтеза АТФ и для активного транс-

порта необходимых субстратов через внутреннюю митохондриальную мембрану. Сочетание этих реакций обеспечивает эффективный обмен АТФ-АДФ между митохондрией и цитозолем, что позволяет поддерживать в клетке высокий уровень энергообеспечения. Во время дифференцировки клеток АТФ-синтаза также способствует формированию крист митохондрий [2]. Поэтому возрастание иммунореактивности АТФ-синтазы с 5-х по 90-е сутки постнатального развития гистаминергических нейронов гипоталамуса крыс отражает закономерности становления энергетического аппарата этих клеток.

Заключение. В период постнатального развития гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса, с 5-х по 90-е сутки после рождения, параллельно структурному и метаболическому становлению этих нейронов, в их цитоплазме происходит синхронное возрастание иммунореактивности маркера дифференцирующихся нервных клеток – NeuN, белка, вовлеченного в поддержание газового гомеостаза клетки, – нейроглобина и молекулярного маркера митохондрий – АТФ-синтазы.

Список литературы

1. Перспективы использования ядерного белка NeuN в качестве показателя функционального состояния нервных клеток у позвоночных / О.С. Алексеева, В.В. Гусельникова, Г.В. Безнин [и др.] // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2015. – Т. 51, № 5. – С. 313–323.
2. Бонь Е.И., Максимович Н.Е. Роль митохондрий в энергетике клетки и характеризующие ее молекулярные маркеры // Оренбургский медицинский вестник. – 2019. – Т. 7, № 1 (25). – С. 47–52.
3. Трехмерная организация цитоплазматических нейроглобин-иммунопозитивных структур нейронов продолговатого мозга крысы / О.В. Кирик, И.П. Григорьев, О.С. Алексеева [и др.] // Биологические мембраны. – 2016. – Т. 33, № 3. – С. 207–212.
4. Ковальзон В.М. Нейрофизиология и нейрохимия сна. // Сомнология и медицина сна. Национальное руководство памяти А.М. Вейна и Я.И. Левина / под ред. М.Г.Полуэктова. – М.: «Медфорум», 2016. – С. 11–55.
5. Распределение нейроглобина в клетках Пуркинье мозжечка крысы / Д.Э. Коржевский, И.П. Григорьев, О.В. Кирик [и др.] // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2015. – № 6. – С.459–461.

6. Коржевский Д. Э., Григорьев И. П., Отеллин В. А. Применение обезживающих фиксаторов, содержащих соли цинка, в нейрогистологических исследованиях // Морфология. — 2006. — Т. 129, № 1. — С. 85–86.

7. Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии: руководство / Д.Э. Коржевский, О.В. Кирик, М.Н. Карпенко [и др.] / под ред. Д.Э. Коржевского. — 2-е изд., испр. и доп. — СПб.: СпецЛит, 2014. — 119 с.

8. Neuroglobin involvement in respiratory chain function and retinal ganglion cell integrity // C. Lechaue, S. Augustin, H. Cwerman-Thibault [et al.] // Biochim. Biophys. Acta. — 2012. — Vol. 1823, № 12. — P. 2261–2273.

9. Yang S., Xie L. Brain globins in physiology and pathology // Medical Gas Research. — 2016. — Vol. 6, № 3. — P. 154–163.

УДК 577.156:616-092.18

Захаров А.С.¹, Матвеева И.В.², Короткова Н.В.³

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, Рязань, Россия

AlexanderZakharov2019@yandex.ru¹, i.matveeva@rzgmu.ru²,

fnv8@yandex.ru³

Роль катепсинов в клеточной смерти и канцерогенезе

В статье рассмотрены вопросы строения и синтеза катепсинов, их локализации в нормальных и малигнизированных клетках, механизмы внутриклеточной регуляции активности катепсинов, механизмы индукции катепсинами клеточной смерти и роль катепсинов в развитии злокачественных опухолей.

Ключевые слова: катепсины, лизосомы, клеточная смерть, экзоцитоз, рак.

Zakharov A.S., Matveeva I.V., Korotkova N.V.

RyazSMU, Ryazan,

Russia

Role of cathepsins in cell death and cancerogenesis

This article is about the structure and synthesis of cathepsins, their localization in normal and malignant cells, mechanisms of regulation of cathepsin activity in cells, mechanisms of induction of cell death by cathepsins and the role of cathepsins in the development of malignant tumors.

Key words: cathepsins, lysosomes, cell death, exocytosis, cancer.