



ТРУДЫ

**ХІХ МЕЖДУНАРОДНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
И ДИСКУССИОННОГО НАУЧНОГО КЛУБА**

**Новые информационные технологии в медицине,
биологии, фармакологии и экологии**

IT + M&Ec`2011

Украина, Крым, Ялта-Гурзуф, с 31 мая по 10 июня 2011 года

**New Information Technology in Medicine,
Pharmacology, Biology and Ecology**

ОРГАНИЗАТОРЫ КОНФЕРЕНЦИИ



**Минздравсоцразвития,
Российский государственный медицинский университет
Институт биоорганической химии РАН им. М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова
Всероссийский научный центр по безопасности биологически
активных веществ
Институт нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко РАМН
Кубанский государственный медицинский университет
Институт неврологии РАМН
Московский государственный университет приборостроения
и информатики
Координационный совет МГУ «Науки о жизни»
Академия новых информационных технологий
НИИ Биофизики и медицинской кибернетики (г.Сургут)
Журнал «Открытое образование».**

рыхло лежащими клетками светлых центров, увеличением как процента узелков с эпителиоидноклеточными скоплениями ($14,5 \pm 2,94\%$), так и количеством скоплений в одном узелке. Лимфатические узелки с апоптотически измененными клетками составляли $8,21 \pm 2,25\%$. Доля лимфатических узелков с митотически делящимися клетками светлых центров не отличалась от значений контрольной группы. В красной пульпе отмечалось увеличение количества мегакариоцитов, выявлялись митотически делящиеся клетки.

Таким образом, изменения в селезенке свидетельствовали об усилении миграции лимфоцитов в ПАЛМ зону, гибели клеток в реактивных центрах лимфоидных узелков, увеличении количества макрофагов в них и реактивном увеличении процессов пролиферации клеток лимфоидного ряда, что свидетельствует об иммунотоксическом эффекте ДДТ.

Через 10 нед после потребления ДДТ в селезенке крыс отмечалось опустошение ПАЛМ, приведшее к статистически значимому снижению доли белой пульпы ($38,59 \pm 1,36\%$) по сравнению с предыдущим сроком исследования и увеличению доли красной пульпы. Доля лимфатических узелков в паренхиме селезенки не изменялась, но имелись выраженные морфофункциональные изменения самих лимфатических узелков. Отмечалось уменьшение количества лимфатических узелков с рыхлыми светлыми центрами ($1,55 \pm 0,81$) и увеличение доли лимфатических узелков без светлых центров ($17,69 \pm 2,14\%$). В красной пульпе наблюдалось уменьшение количества мегакариоцитов.

Таким образом, отмечалось снижение пролиферативной активности клеток лимфоидного происхождения в селезенке, снижение миграции лимфоцитов в лимфоидные образования селезенки, увеличение количества лимфатических узелков без центров размножения лимфобластов.

Определение концентрации основных Th1, Th2 и Th3 цитокинов в сыворотке крови крыс через 6 нед показало увеличение показателя интенсивности реакций клеточного иммунитета неоптерина без повышения продукции ИЛ-2, что свидетельствует о его синтезе клетками не Th1 клонов. Через 10 нед отмечался рост продукции не только неоптерина, но и ИЛ-2, ИЛ-10 и ТФР- β . Таким образом, введение ДДТ приводило к стимуляции Th1 клонов лимфоцитов с целью индукции толерантности за счет усиления дифференцировки Т-регуляторных лимфоцитов.

УДК 577.112.85:543.635.24

J.7. СВОБОДНЫЕ ОЛИГОСАХАРИДЫ – АНАЛОГИ ГЛИКАНОВ ГЛИКОКОНЬЮГАТОВ (ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭЛЕКТРОННЫХ БАЗ ДАННЫХ GLYCOBASE И EUROCARBDB ДЛЯ АНАЛИЗА УГЛЕВОДНЫХ СТРУКТУР)

Письменецкая И.Ю.¹, Островцова С.А.², Кулинич А.А.¹, Черноусова Н.М.¹

Днепропетровская государственная медицинская академия, Украина¹
УО «Гродненский государственный медицинский университет», Беларусь²

J.7. FREE OLIGOSACCHARIDES ARE COUNTERPARTS OF GLYCANS FROM GLYCOCONJUGATES (GLYCOBASE AND EUROCARBDB APPLICATION TO GLYCAN STRUCTURE ANALYSIS)

Pismenetskaya I.U.¹, Dr.Astrautsova S.A.², Dr.Kulinich A.A.¹, Dr.Chernousova N.M.¹

Dnepropetrovsk State Medical Academy, Ukraine¹
Grodno State Medical University, Belarus²

Free oligosaccharides (FOS) are glycans unbound to glycoconjugates and their cleavage products generated during glycosylation process, the quality control of glycoprotein folding in the endoplasmic reticulum and normal turnover of mature glycoproteins, glycolipids and proteoglycans. FOS were found both in cells and biological liquids (milk, seminal fluid, plasma, urine). Intracellular FOS are reliable markers of endoplasmic-reticulum glucosidase inhibition. So it is interesting to elucidate whether plasma and urine FOS reflect glycosylation changes of an organism and can be used for searching of disease and therapy biomarkers. This purpose needs precise glycan structure analysis.

This work is devoted to evaluate database usage for this analysis.

Plasma and urine FOS of healthy people and different groups of patients were analysed using high-performance liquid chromatography (HPLC). The profiles obtained were compared with glycan structures and their descriptions in two databases - GlycoBase and EUROCarbDB.

GlycoBase and EUROCarbDB application allowed predicting a range of glycan structures for each of the main peaks of HPLC profiles of plasma and urine free oligosaccharides and, thus, can be used, in combination with experimental approaches, to FOS structure analysis.

Свободные олигосахариды (free oligosaccharides, FOS) – это не связанные с гликоконъюгатами (гликопротеинами, гликолипидами, протеогликанами) гликаны, продукты их частичного синтеза и поэтапной деградации. В клетке FOS появляются в ходе многоступенчатого процесса гликозилирования белков и липидов, в результате ассоциированной с эндоплазматическим ретикулом деградации (ERAD) гликоконъюгатов, не прошедших клеточный контроль фолдинга, и при деградации гликопротеинов и гликолипидов на различных стадиях их обновления. FOS были обнаружены и в биологических жидкостях – молоке, семенной жидкости, моче, плазме. Пути выхода внутриклеточных FOS из клетки не выяснены. Являются ли внутриклеточные FOS единственным источником свободных олигосахаридов в биологических жидкостях или свой вклад вносят еще и продукты деградации гликоконъюгатов межклеточного матрикса, также неизвестно.

Внутриклеточные FOS оказались надежными маркерами ингибирования гликозидаз эндоплазматического ретикула, поэтому интересно выяснить, отражают ли свободные олигосахариды плазмы и мочи изменения гликозилирования и можно ли их использовать для поиска биомаркеров заболеваний. Для этого предварительно должны быть разработаны методы их детального анализа, т.к. определение структуры гликанов – достаточно сложная задача. Связано это с тем, что в природе найдено огромное разнообразие олигосахаридов: физические и химические свойства моносахаров, в них входящих, очень близки, а микрогетерогенность за счет ветвления и различных типов связей, практически, бесконечна.

FOS плазмы и мочи здоровых доноров и различных групп больных были выделены, очищены и разделены методом нормально-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. Для определения структуры углеводов полученные спектры подвергались дальнейшему анализу сочетанием трех подходов: 1) дальнейшим разделением олигосахаридов на фракции (например, заряженные и нейтральные), 2) сравнением с внешними стандартами, структура которых хорошо изучена (например, с углеводами трансферрина), 3) поиском аналогов в международных электронных базах данных. Остановимся более детально на последнем.

В качестве источника информации были выбраны электронные базы данных GlycoBase, созданная и поддерживаемая Dublin-Oxford Glycobiology Lab., и EUROCarbDB – продукт работы международного коллектива, поддерживаемого 6-й Рамочной программой Евросоюза. Обе базы содержат данные о ВЭЖХ-профилях гликанов в гликопротеинах. GlycoBase включает более 350 структур N-гликанов и продуктов их деградации экзогликозидазами. Из них 117 структур, обнаруженных в плазме человека. EUROCarbDB среди 50000 гликанов содержит более 2000 структур углеводов, найденных в гликопротеинах человека, и позволяет определить гликоизомеры и химические связи между мономерами гликанов в каждом конкретном случае. Кроме того, EUROCarbDB имеет многочисленные ссылки на дополнительную информацию о каждой структуре, в том числе и о том, при каком заболевании эта структура была обнаружена.

Использование предоставленной в электронных базах данных GlycoBase и EUROCarbDB информации позволило определить совокупность наиболее вероятных структур углеводов почти для каждого из основных пиков экспериментальных ВЭЖХ-спектров свободных олигосахаридов и разработать стратегию их дальнейшего анализа. Следовательно, несмотря на то, что сведения в выбранных базах данных касаются гликанов гликопротеинов и продуктов их деградации экзогликозидазами *in vitro*, их можно успешно использовать для анализа свободных олигосахаридов плазмы и мочи.

Работа проводилась в Институте гликобиологии Оксфордского университета (Оксфорд, Великобритания) при поддержке международных грантов EMBO (ASTF209-2007, ASTF201.00-2010) и International Union against Cancer (ICR/09/044).

ЛИТЕРАТУРА

1. Alonzi, D.S., Neville, D.C., Lachman, R.H., Dwek, R.A., Butters, T.D. (2008) Glucosylated free oligosaccharides are biomarkers of endoplasmic- reticulum alpha-glucosidase inhibition. *Biochem J.* 409(2), pp.571-580.
2. Kanta Yanagida, Shunji Natsuka, and Sumihiro Hase. (2006) Structural diversity of cytosolic free oligosaccharides in the human hepatoma cell line, HepG2. *Glycobiology*, 16 (4), pp. 294–304.
3. Neville D.C., Coquard V., Priestman D.A., te Vrugte D.J.M., Sillence D.J., Dwek R.A., Platt F.M., Butters T.D. (2004) Analysis of fluorescently labelled glycosphingolipid-derived oligosaccharides following ceramide glycanase digestion and anthranilic acid labelling. *Anal Biochem.* 331, pp.275-282.
4. Campbell MP, Royle L, Radcliffe CM, Dwek RA, Rudd PM. (2008) GlycoBase and autoGU: tools for HPLC-based glycan analysis. *Bioinformatics* 1;24(9): pp.1214-1216.
5. Claus-Wilhelm von der Lieth, Ana Arda Freire, Dennis Blank et al. (2011) EUROCarbDB: An open-access platform for glycoinformatics. *Glycobiology* 21 (4), pp. 493–502.
6. Harvey, D. J., Merry, A. H., Royle, L., P. Campbell, M., Dwek, R. A. and Rudd, P. M. (2009), Proposal for a standard system for drawing structural diagrams of N- and O-linked carbohydrates and related compounds. *PROTEOMICS*, 9: p.p.3796–3801.