

УДК 581.4.591.4.576.31.581.1

ББК 28.06.28.073

Редакционная коллегия:

канд. биол. наук, доцент **И.И. Садртдинова** (отв. ред.)

канд. биол. наук, доцент **А.М. Федорова**

канд. биол. наук, доцент **В.О. Цветков**

Биология будущего [электронный ресурс]: материалы конференции (г. Уфа, 7 июня 2022 г.)

/ отв. ред. И.И. Садртдинова. – Уфа: РИЦ БашГУ, 2022. – 108 с.

Сборник содержит результаты исследований молодых ученых по актуальным вопросам биологии. Статьи приводятся в авторской редакции. Предназначено для широкого круга читателей, интересующихся проблемами биологии.

УДК 581.4.591.4.576.31.581.1

ББК 28.06.28.073

ISBN 978-5-7477-4251-2

© БашГУ, 2022

Содержание

Абдуллина Л.Д., Бурханова Г.Ф., Черепанова Е.А., Яруллина Л.Г. Транскрипционная активность генов PR-белков в растениях картофеля при обработке бактериями <i>Bacillus subtilis</i> и сигнальными молекулами в условиях заражения <i>Phytophthora infestans</i>	7
Аксберг Д.С., Екомасова Н.В., Джаубермезов М.А., Сахабутдинова Д.Р., Кучина Я.А., Хуснутдинова Э.К. Анализ распространения полиморфных вариантов rs11385942 гена LZTFL1 и rs657152 гена ABO, ассоциированных с тяжелым течением COVID-19, в популяциях казахов и узбеков	11
Алибегов С.М. Анализ эффективности применения биопрепаратов Азолен, Бациспектин, Елена и Фитоспорин для повышения продуктивности и устойчивости сельскохозяйственных растений	12
Ахмадеев А.Р., Байгильдин С.С., Хуснутдинова Н.Ю., Смолянкин Д.А., Кудояров Э.Р. Коррекция тетрахлорметанового повреждения печени	13
Ахмадиев П.А., Сперидонова А.Д., Хузин Д.В., Хисматуллина З.Р., Исхаков Э.Р. Влияние фактора переноса на адаптацию крыс к новым условиям окружающей среды	15
Байгильдин С.С., Мусин И.Ф., Смолянкин Д.А., Ахмадеев А.Р. Исследование ленточных синапсов в сетчатке крыс линии WAG/Rij и Wistar	17
Балахонцев Г.В., Баймухаметова Э.А. Агробактериальная трансформация родиолы ирмельской <i>Rhodiola imemelica</i> Boriss. с целью получения волосовидных корней	18
Бегова А.Б., Фаткуллина С.С. Анализ иммунных клеток кожи и слизистой оболочки полости рта при папилломатозе	19
Бережнева З.А., Габитова А.И. Выделение ДНК злаковых кормовых культур башкирской селекции	21
Бережнева З.А., Гиниятуллина Г.Р. Получение трансгенных растений табака, экспрессирующих rol гены <i>Agrobacterium rhizogenes</i> штаммов A4, 15834 и K599	22
Богданович М.Д. Анализ эколого-просветительской деятельности на примере проекта АНО «Чистая Уфа» «Крышечки спешат на помощь»	24
Бородкина М.С. Способы переработки шламов хроматного производства	26
Бородкина М.С. Характеристика влияния промышленного предприятия на состояние здоровья населения	28
Бородкина М.С. Характеристика продукции и отходов хроматного производства	30
Брандукова Е.В. Воздействие мутагенных факторов на генетический аппарат клетки	31
Булатова А.Ф. Борьба с нозематозом у медоносных пчел	35
Буянова А.А., Шамсутдинова Дилара А., Шамсутдинова Динара А., Садрутдинова И.И. Влияние галоперидола на родительское поведение самок крыс с абсансной эпилепсией	37

Габбасова Г.Х., Давлетбаева А.Р., Федорова А.М. Изучение плотности астроцитов коры головного мозга белых крыс на фоне введения наночастиц магния	38
Габбасова Г.Х., Федорова А.М. Морфологические показатели слоев первичной соматосенсорной коры на фоне перорального введения наночастиц магния	40
Гареева Э.И. Роль гена MLH1 в развитии рака желудка	42
Грабовенко М.А., Рахматуллина С.Р. Использование биопрепарата Фитоспорин при возделывании яровой пшеницы	44
Екомасова Н.В., Халикова А.А., Джаубермезов М.А., Суфьянова З.Р., Хуснутдинова Э.К. Анализ распространения полиморфного варианта rs11385942 гена LZTFL1 в популяциях аварцев, багаулинцев, лезгин и чамалинцев	46
Зайцева Е.А., Мусин И.Ф. Изучение количественного соотношения клеток инфильтрирующих соединительнотканную пластинку десны пациентов при гингивите и пародонтите	48
Ибрагимова З.А., Галимова А.А. Клонирование гена TaNAC69 пшеницы мягкой и генетическая трансформация табака	50
Кабирова Э.Р., Фаткуллина С.С. Морфологические изменения слизистой ротовой полости пациентов при лейкоплакии	52
Константинова О.В. Биотестирование токсического действия кристаллических форм наночастиц диоксида титана с помощью зеленой водоросли <i>Chlorella vulgaris</i> Beyer.	54
Кулбахтина И.Г. Правовые основы и способы обеспечения экологической безопасности предприятия	56
Магадиева Т.М., Гарипова М.И. Распределение йодтиронинов в ядрах тканей высших растений	58
Магадиева Т.М., Хазиев А.Ф. Механизмы действия ботулинического токсина	59
Маркелов В.А., Нургалиева А.Х. Роль полиморфных вариантов гена нейропилина 1 (NRP1) в патогенезе новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2	61
Маркелов В.А., Данилко К.В. Связь полиморфного варианта rs2065364 гена NRP1 с клиническими и биохимическими параметрами больных COVID-19	64
Масалимова М.Д., Нургалиева А.Х. Анализ роли генетического варианта с.1320+1G>A гена CDH1 в развитии рака желудка	67
Мукасева Е.Ю., Шарипова М.Ю. Сравнение действия наночастиц диоксида титана в разных формах на рост корней кресс-салата	69
Мустакимова Д.И. Особенности распределения тяжелых металлов в донных отложениях реки Урал и ее правого притока реки Худолаз (Челябинская область)	71
Мухутдинова З.Б. Воздействие систем теплообеспечения на состояние атмосферного воздуха на примере города Янаул Республики Башкортостан	73

Назарова Ю.А. Влияние нефтеперерабатывающей отрасли на окружающую среду	75
Назарова Ю.А. Опасные химические вещества, содержащиеся в составе сточных вод	76
Назмутдинов Б.Р., Мусин И.Ф. Изменения показателей крови экспериментальных крыс после введения полного адьюванта Фрейнда	77
Нигматуллина Н.В., Нургалиева А.Х. Биоинформатика в онкологии	79
Сабурова О.В., Шарипова М.Ю. Сравнение действия наночастиц серы и фунгицида «Тиовит джет» на рост корней томата	80
Саетова Э.Ф., Надыршина Д.Д., Хуснутдинова Э.К. Генетические основы несовершенного остеогенеза	82
Сахабутдинова Д.Р., Екомасова Н.В., Джаубермезов М.А., Аксберг Д.С., Кучина Я.А., Хуснутдинова Э.К. Анализ распространения полиморфных вариантов rs11385942 гена LZTFL1 и rs657152 гена ABO, ассоциированных с тяжелым течением COVID-19, в популяциях мегрелов и черкесов	85
Солнцев В.А. Исследование плазмидного профиля бактерий семейства Rhizobiaceae	86
Солнцев В.А. Создание генно-инженерных конструкций для флуоресцентного мечения бактерий	87
Суфьянова З.Р., Екомасова Н.В., Джаубермезов М.А., Халикова А.А., Бодрошева Н.В., Хуснутдинова Э.К. Анализ распространения гаплогрупп R1a-Page07 и N-M231 Y-хромосомы в популяции алтайцев	89
Тазетдинов Р.А., Мусин Х.Г. Трансген AtARL способствует увеличению размеров клеток волосовидных корней табака при действии абиотических стресс-факторов	90
Терегулов И.И., Федорова А.М. Морфофункциональные особенности печени при индуцировании штамма саркомы M1	91
Туляшева Ф.Ю., Нургалиева А.Х., Хуснутдинова Э.К. Исследование ассоциации полиморфного варианта rs1800795 гена интерлейкина-174 с риском развития рака желудка	93
Федеряев К.А., Сайфуллина Е.В., Хидиятова И.М. Идентификация мутации с.254C>G (p.S85C) в гене MATR3 у пациентов с наследственной моторно-сенсорной нейропатией из Республики Башкортостан	95
Халикова А.А., Екомасова Н.В., Джаубермезов М.А., Суфьянова З.Р., Хуснутдинова Э.К. Анализ распространения полиморфного варианта rs657152 гена ABO в популяциях аварцев, багаулинцев, лезгин и чамалинцев	96
Хафизова Г.А. Участие углеводородокисляющих микроорганизмов в деградации нефти	97
Шаехова Н.Р. Скрининг мутаций 185delAG/3875del4 в гене BRCA1 у больных с раком желудка	99

Швец Д.Ю., Баймухаметова Э.А., Кулуев Б.Р. Сравнительный анализ содержания инулина в культурах волосовидных корней цикория <i>Cichorium intybus</i> L.	101
Шамсутдинова Дилара А., Шамсутдинова Динара А., Буянова А.А., Садртдинова И.И. Влияние фолликулостимулирующего гормона на поведение крыс линии Wistar в тесте «Открытое поле»	103
Шамсутдинова Динара А., Шамсутдинова Дилара А., Буянова А.А., Садртдинова И.И. Влияние холодового фактора на поведенческие параметры крыс линии Wistar	104

Транскрипционная активность генов PR-белков в растениях картофеля при обработке бактериями *Bacillus subtilis* и сигнальными молекулами в условиях заражения *Phytophthora infestans*

Абдуллина Л.Д.¹, Бурханова Г.Ф.², Черепанова Е.А.², Яруллина Л.Г.²

¹ Башкирский государственный университет

² ИБГ УФИЦ РАН

В современных условиях высокой антропогенной нагрузки на агроэкосистемы остро встает вопрос экологически безопасного растениеводства, требующего новых подходов к защите растений от патогенов.

В настоящее время большое значение в сигнальной регуляции устойчивости растений к патогенам отводят непатогенным ризобактериям, регулирующим рост растений (plant growth promoting rhizobacteria, PGPR). Большинство из них запускают каскад защитных реакций в растительных тканях за счёт выработки различных метаболитов, в том числе веществ пептидной природы, обладающих противовирусным, бактерицидным, фунгицидным и инсектицидным действием (Яруллина, 2020).

Особый интерес среди метаболитов бактерий рода *Bacillus* sp. представляют циклические низкомолекулярные липопептиды – сурфактин, итурин и фенгицин. В частности, сурфактины запускают в растениях активную генерацию H₂O₂ и накопление ингибиторов протеиназ (Сауоу, 2014).

Поскольку PGPR положительно влияют на устойчивость растений к возбудителям заболеваний и способствуют повышению их продуктивности, они находят достаточно широкое применение в сельскохозяйственной практике (Verma, 2017). В то же время, механизмы формирования защитного ответа под действием бактерий и сигнальных молекул недостаточно изучены.

Эксперименты проводили на растениях картофеля восприимчивого сорта Ранняя Роза, выращенных из микроклубней. Клубни были высажены в землю (TerraVita, верховой торф различной степени разложения, очищенный речной песок, перлит, комплексное минеральное удобрение, биогумус; pH 6.0-6.5) на глубину 3–4 см. Растения выращивали на светоплощадке в течение 15 суток, затем инокулировали суспензионной культурой с конечным титром 10⁸ кл/мл. Штаммы бактерий *B. subtilis* 26Д – основа коммерческого биопрепарата Фитоспорин-М («Башинком», Россия), из коллекции Института биохимии и генетики УФИЦ РАН. Бактерии культивировались на жидкой среде Луриа – Бергани 72 ч.

Часть растений инфицировали суспензией зооспор (10⁶ спор/мл) возбудителя фитофтороза *Phytophthora infestans* Mont. de Bary, изолята Башкирский из коллекции ИБГ УФИЦ РАН на 6 день после обработки бактериями. Через 6, 24 и 48 ч после инфицирования контрольные и зараженные растения фиксировали для определения содержания перекиси водорода.

Листья гомогенизировали в 0.025 М фосфатном буфере (ФБ), pH 6.2, в соотношении 1:3, центрифугировали 20 мин при 15000 g на центрифуге («Eppendorf», Германия). Супернатант использовали для определения содержания перекиси водорода с использованием ксиленолового оранжевого. Реагент содержал 0.074% соли Мора в 5.81% серной кислоты и 0.009% ксиленолового оранжевого в 1.82% сорбита (в соотношении 1:100). Оптическую плотность продуктов реакции измеряли на спектрофотометре Biospek-Mini («Shimadzu», Япония) при 560 нм.

Для определения транскрипционной активности генов защитных белков РНК из растений выделяли с помощью тризола (Molecular Research Center, Inc., США). Проводили реакцию обратной транскрипции с использованием M-MuLV обратной транскриптазы согласно протоколу фирмы-поставщика («Синтол, Россия»). Анализ накопления транскриптов генов защитных белков проводили методом количественной ПЦР в режиме реального времени на приборе «CFX Connect Real-Time PCR Detection System» («Bio-Rad», США) с использованием интеркалирующего красителя SYBR Green I («Синтол», Россия).

Изменения в транскрипционной активности генов определяли на основании вычисления уровня нормализованной экспрессии относительно референсного гена актина (X55749) с помощью программного обеспечения «CFX Connect Real-Time Detection System software» («Bio-Rad», США).

Развитие симптомов заболевания оценивали через 5 суток после инфицирования по % площади поражения листовой пластинки. Листья фотографировали, изображения анализировали в программе ImageJ (НИН, США).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием компьютерной программы Statistica 6.0. Эксперименты включали не менее 3-х биологических повторов. На рисунках и в таблицах приведены средние результаты повторов и их стандартные ошибки.

Эндобитные микроорганизмы, индуцируя иммунные реакции растений, способны влиять на развитие болезней. Индукция устойчивости растений с помощью PGPR широко освещена в современной научной литературе (Verma, 2017). Однако механизмы их защитного действия, например, в отношении фитофтороза, остаются практически неизученными.

При инфицировании растений картофеля восприимчивого сорта Ранняя Роза степень поражения листьев составляла $65 \pm 15\%$. Предобработка растений бактериями и сигнальными молекулами значительно снижала пораженность листьев: под влиянием штаммов *B. subtilis* 26Д – до $20 \pm 9\%$, при сочетании *B. subtilis* + СК – до $30 \pm 11\%$, *B. subtilis* + ЖК – до $41 \pm 13\%$, *B. subtilis* + СК + ЖК – до $36 \pm 15\%$ соответственно. Полученные результаты показали, что *B. subtilis* и все исследуемые композиции повышали устойчивость растительных тканей к инфицированию возбудителем фитофтороза, но в различной степени. Наиболее эффективное защитное действие на растения картофеля к инфицированию *P. infestans* оказывали бактерии *B. subtilis* 26Д, что согласуется с данными, полученными на клубнях *S. tuberosum* и в культуре *in vitro* (Яруллина, 2016, Яруллина, 2019).

Повышение устойчивости картофеля к инфицированию *P. infestans* под влиянием бактерий рода *Bacillus* могло быть связано с изменением концентрации перекиси водорода в растительных тканях (Pfannschmidt, 2009). Нами было показано, что в обработанных бактериями *B. subtilis* неинфицированных растениях повышение уровня перекиси водорода происходило постепенно.

Известно, что под действием эндобитных бактерий рода *Bacillus* индуцируется активность антиоксидантных ферментов (Berg, 2009). В то же время, в предобработанных бактериями растениях при инфицировании *P. infestans* уровень H_2O_2 в листьях заметно повышался на раннем этапе инфекционного процесса, особенно под воздействием бактерий – *B. subtilis* 26 Д и *B. subtilis*+СК+ЖК. Однако через 48 ч после инфицирования концентрация H_2O_2 в растениях, обработанных бактериями *B. subtilis* и сигнальными молекулами, не значительно отличалась от контрольных инфицированных растений.

Как известно, индукция устойчивости растений к инфицированию во многом определяется развитием реакции сверхчувствительности (СВЧ). Это предполагает изменения концентрации перекиси водорода в растительных тканях в ответ на внедрение патогена. Перекись водорода является важнейшей молекулой, вовлеченной в передачу внутриклеточных сигналов, регулирующих экспрессию генов и активацию защитных систем растения. Вероятно, бактерии *B. subtilis* способствуют ранней генерации АФК, индуцируют передачу сигналов, запускающих работу других защитных механизмов. Таким образом, PGPR повышают чувствительность растительных тканей к проникновению патогенов и подготавливают защитную систему растений к последующим ранним ответным реакциям (Ongena, 2007).

Обработка всеми исследованными комбинациями бактерий *B. subtilis* с СК и ЖК стимулировала накопление транскриптов генов PR-белков. Все PR-белки обладают антигрибным спектром действия. Так, PR-1 является маркером развития СПУ по салицилатному пути, PR-5 (тауматин-подобный белок) разрушает мембраны клеток патогенов. PR-6 белки являются ингибиторами протеаз, но в то же время являются маркерами

развития СИУ, а белки семейства PR-9, участвует в упрочении клеточных стенок за счет окислительных реакций между белками и фенолами, катализируют процессы отложения лигнина на клеточных стенках, что также повышает их устойчивость к действию гидролаз патогенов.

Известно, что биопрепараты на основе PGPR работают как триггеры, запускающие каскад защитных реакций за счёт выработки различных метаболитов, индуцирующих системную устойчивость (Сауоу, 2014). Полученные данные позволяют говорить о том, что активация синтеза защитных белков в тканях растений картофеля под воздействием исследуемых комбинаций может служить одним из факторов формирования их устойчивости к *P. infestans*, в том числе в присутствии H₂O₂.

Весьма перспективным в отношении растений картофеля является создание и использование экологически безопасных препаратов, защитное действие которых против *P. infestans* основано на стимуляции продукции H₂O₂ и активации экспрессии генов PR-белков в инфицированных тканях. Дальнейшие исследования в этом направлении позволят получить данные о взаимодействии различных сигнальных путей в формировании устойчивости растений. Возможность гибкого регулирования взаимосвязи и взаимозависимости различных сигнальных путей обуславливает существенный потенциал проявления и реализации фитоиммунитета и открывает перспективы повышения устойчивости растений экологически безопасными методами.

Работа выполнялась при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта № 20-516-00005, на оборудовании Центра коллективного пользования “Биомика” (Отделение биохимических исследований и нанобиотехнологии Регионального центра коллективного пользования “Агидель”) и Уникальной научной установки “Кодинк”.

Анализ распространения полиморфных вариантов rs11385942 гена LZTFL1 и rs657152 гена АВ0, ассоциированных с тяжелым течением COVID-19, в популяциях казахов и узбеков

Аксберг Д.С.¹, Екомасова Н.В.^{1,2}, Джаубермезов М.А.^{1,2}, Сахабутдинова Д.Р.¹, Кучина Я.А.¹, Хуснутдинова Э.К.^{1,2}

¹ Башкирский государственный университет

² ИБГ УФИЦ РАН

COVID-19 - тяжелое острое респираторное заболевание, которое поражает нижние дыхательные пути человека, с симптомами, проявляющимися в виде сухого кашля, лихорадки, сильной головной боли, усталости, одышкой, ознобом и пневмонией. (Tsang HF, Chan LWC, Cho WCS, Yu ACS, Yim AKY, Chan AKC, Ng LPW, Wong YKE, Pei XM, Li MJW, Wong SC. An update on COVID-19 pandemic: the epidemiology, pathogenesis, prevention and treatment strategies. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2021 Jul;19(7):877-888. doi: 10.1080/14787210.2021.1863146. Epub 2020 Dec 29. PMID: 33306423). Ученые обнаружили, что частота аллеля риска ведущего варианта на 3p21.31 (rs11385942) гена LZTFL1 была выше среди пациентов, получавших ИВЛ. Этот ген кодирует повсеместно экспрессируемый белок, локализованный в цитоплазме. Другой регион, связанный с тяжелым течением заболевания, rs657152 на 9-й хромосоме связан с группой крови по системе АВ0. (SevereCovid-19 GWASGroup, EllinghausD, DegenhardtF, BujandaL, ButiM, AlbillosA, InvernizziP, et al. Genomewide Association Study of Severe Covid-19 with Respiratory Failure. *N Engl J Med.* 2020 Oct 15;383(16):1522-1534. doi: 10.1056/NEJMoa2020283. Epub 2020 Jun 17. PMID: 32558485; PMCID: PMC7315890).

В результате проделанного нами исследования было изучено распространение полиморфных вариантов rs11385942 гена LZTFL1 и rs657152 гена АВ0 в популяциях Азии: казахов и узбеков. Были подсчитаны частоты аллелей и генотипов, а также проведен сравнительный анализ распространения изучаемых полиморфных вариантов между популяциями казахов и узбеков и популяциями мира.

Выявлено, что генотип GA/GA полиморфного варианта rs11385942 гена LZTFL1 в популяции казахов не встречается, генотип G/G был выявлен с частотой 86,67%, а генотип G/GA с частотой 13,33%. В популяции узбеков генотип GA/GA встречается с частотой 1,19%, генотип G/G с частотой 83,33%, а генотип G/GA с частотой 15,48%.

Показано наличие статистически значимых различий по данным распределения частот аллелей полиморфного варианта rs11385942 гена LZTFL1 между популяциями казахов и дайцев, колумбийцев; узбеков и дайцев, колумбийцев.

Обнаружено, что генотип A/A полиморфного варианта rs657152 в гене АВ0 в популяции казахов встречается с частотой 23,33%, генотип A/C с частотой 51,67%, генотип C/C с частотой 25,0%. В популяции узбеков генотип A/A встречается с частотой 41,67%, генотип A/C с частотой 45,23%, генотип C/C с частотой 13,10%.

Анализ эффективности применения биопрепаратов Азолен, Бациспектин, Елена и Фитоспорин для повышения продуктивности и устойчивости сельскохозяйственных растений

Алибегов С.М.

Башкирский государственный университет

В последние десятилетия наблюдается неуклонный рост спроса, производства и применения пестицидов и удобрений – совокупные продажи увеличиваются примерно на 4,1% в год (Ковалева, 2016). Это влечет за собой напряженное состояние окружающей среды: вредные химические вещества аккумулируются в почве, тканях растений, переносятся по поверхностным и подземным водам. Одним из вариантов решения проблемы является развитие микробиологических исследований в аграрном секторе, предлагающих увеличить валовые урожаи культур «зеленым» путём. Применение биологических средств защиты растений, биорегуляторов роста и биоудобрений являются сложившейся практикой агробιοтехнологии. Разработкой биопрепаратов и изучением их эффективности для повышения продуктивности и устойчивости сельскохозяйственных растений занимаются многие научные лаборатории, в том числе в Уфимском Федеральном исследовательском центре РАН. Так, в Институте биологии были созданы препараты Бациспектин, Елена, Азолен, в Башкирском НИИ сельского хозяйства – препарат Фитоспорин. Целью данной работы являлось обобщение информации о некоторых результатах применения препаратов Бациспектин, Елена, Азолен и Фитоспорин на определенных видах и сортах сельскохозяйственных растений.

Препарат «Азолен» является микробиологическим удобрением на основе свободнoживущих азотфиксирующих почвенных бактерий *Azotobacter vinelandii* ИБ 4. Препарат обладают фунгицидными и ростостимулирующими свойствами, высоким уровнем нитрогеназной активности, а также способностью синтезировать гормоны роста растений, что позволяет значительно снизить количество вносимых азотных удобрений и получить экологически безопасную продукцию (Грунская, 2017). При испытании на яровой пшенице (*Triticum aestivum* L.) сорта Приокская в Рязанской области, Азолен дал следующий результат по сравнению с контролем без инокуляции: увеличение количества колосьев на 1 м² с 400 до 424 шт., общей продуктивной кустистости на 7,1%, прибавка урожая на 14,4% (Коршунова, 2008).

Биофунгицид «Елена» разработан на основе бактерий *Pseudomonas aureofaciens* ИБ-51, способных производить антибиотик, обладающий фунгицидным действием. Биофунгицид «Елена» безопасен для человека, сельскохозяйственных животных, птиц, рыб и пчел, получил Государственную регистрацию и рекомендован для протравливания семян озимой и яровой пшениц (Коршунова, 2007). На яровом ячмене (*Hordeum vulgare*) сорта Голозерный в Омской области при общей зараженности семян в 40% в контрольном варианте, эффективность препарата составила 72-90%. Так же отмечено повышение всхожести семян на 5,1-12,3% и общей урожайности на 6,3% (Кузина, 2012).

Препарат Бациспектин БМ создан на основе бактерий *Paenibacillus ehimensis* ИВ 739 (Мелентьев, 1994; Мелентьев, 2003), штамм депонирован во Всероссийской коллекции микроорганизмов под номером ВКМ В-2680D. Было показано, что препарат оказывает стимулирующее действие на рост и развитие растений за счет синтеза фитогормональных веществ – цитокининов; проявляет антагонистическую и литическую активность в отношении некоторых видов фитопатогенных грибов за счет продукции им комплекса внеклеточных ферментов – β -1,3- глюканызы, хитиназы, хитозанызы – воздействующих на клеточную стенку микромицетов. В результате токсикологической оценки было установлено, что штамм *P. ehimensis* ИВ 739 не вирулентен, не токсичен, не обладает токсигенностью, способностью к диссеминации, не оказывает существенного дисбиотического действия на микрофлору организма, по параметрам острой токсичности и опасности является малоопасным и относится к продуктам 4-го класса опасности (Рафикова,

2018). Испытан на гречихе посевной (*Fagopyrum esculentum* L.) сорта Уфимская и Диалог в Ульяновской области и республике Башкортостан. Препарат, по сравнению с контролем, повысил всхожесть, ускорение развития, увеличение крупности зерна на 2,1–4,5%, натурной массы на 3,5-8,1 г/л. Прибавка урожая составила 16,7–20,6% (Кузина, 2018).

Основной препарат Фитоспорин является штамм *Bacillus subtilis* 26D. При применении на картофеле (*Solanum tuberosum*) сорта Розара в республике Саха (Якутия) увеличилось количество здоровых клубней на 35% (в среднем за 2016-2018 года), урожайность на 22-40% (Осипова, 2020).

Наблюдая данную положительную статистику, можно сделать вывод об эффективности инокуляции растений бактериологическими препаратами. Так же добавляет перспективности и относительная дешевизна производства этих средств, что позволяет использовать препараты массово.

Литература

1. Грунская В.П., Коломейчиков В.В. Эффективность микробиологических удобрений на яровой пшенице в Тульской области // Вестник ОрелГАУ. 2017. 3(66). С. 3-9.
2. Ковалева Е.А., Ковалев М.О., Родионов Д.А. Проблема голода в условиях глобализации. Век глобализации. 2016. №1-2. С. 87-95.
3. Коршунова Т.Ю., Силищев Н.Н., Галимзянова Н.Ф., Логинов О.Н. Биофунгицид Елена для протравливания семян ячменя ярового и его влияние на урожайность и устойчивость к болезням. Башкирский химический журнал. 2007. Т. 14. №4. С. 92-94.
4. Коршунова Т.Ю., Силищев Н.Н., Галимзянова Н.Ф., Бойко Т.Ф., Логинов О.Н. Влияние биоудобрения Азолена Ж на урожайность и устойчивость картофеля к фитопатогенам. Агрехимия. 2008. №9. С. 50-54.
5. Кузина Е.В., Давлетшин Т.К., Силищев Н.Н., Логинов О.Н. Эффективность биопрепарата Елена при выращивании ярового ячменя. Сельскохозяйственная биология. 2012. № 4. С. 100-105.
6. Кузина Е.В., Рафикова Г.Ф., Мелентьев А.И., Логинов О.Н. Оценка эффективности применения нового регулятора роста растений на культуре гречихи обыкновенной. Известия УНЦ РАН. 2018. №4. С. 71-76.
7. Мелентьев А.И., Актуганов Г.Э., Усанов Н.Г., Кузьмина Л.Ю. Продуцент комплекса хитиноподобных ферментов и ламинариназы Патент РФ № 2213773. Заявл. 27.11.2001. Оpubл. 10.10.2003. Бюл. № 28.
8. Мелентьев А.И., Усанов Н.Г., Логинов О.Н. Штамм бактерий *Bacillus* sp. для получения препарата против грибных возбудителей болезней злаковых культур. Патент РФ № 1743019. Заявл. 03.10.1989. Оpubл. 30.05.1994.
9. Осипова В.В. Влияние обработки картофеля биопрепаратом Фитоспорин-М на скороспелость, урожай и качество клубней в условиях криолитозоны. "Вестник ИрГСХА. 2020. №97. С. 50-55.
10. Рафикова Г.Ф., Кузина Е.В., Логинов О.Н. Токсикологическая оценка микроорганизма *Raenibacillus ehimensis* IB 739 и препарата Бациспектин БМ. Экобиотех. 2018. Т. 1. № 2. С. 63-70.

Коррекция тетрахлорметанового повреждения печени

Ахмадеев А.Р.¹, Байгильдин С.С.^{1,2}, Хуснутдинова Н.Ю.¹, Смолянкин Д.А.¹, Кудояров Э.Р.¹

¹ ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека»

² Башкирский государственный университет, кафедра физиологии и общей биологии

Четыреххлористый углерод (CCl₄), вызывающий острое повреждение печени, широко используется на животных моделях. Это вещество позволяет оценить защитные эффекты лекарств на токсическое повреждение, поскольку вызванное четыреххлористым углеродом повреждение печени считается аналогом поражения, вызванного различными гепатотоксинами (Lee, 2014). Оксиметилурацил (5-гидрокси-6-метилурацил) стимулирует регенераторные процессы, активирует биоэнергетические процессы, некоторые ферменты антиоксидантной защиты, подавляет альтерацию и экссудацию, регулирует процессы перекисного окисления липидов, стабилизирует мембраны клеток и органелл, защищает структуры от активных форм кислорода и токсичных перекисных соединений (Репина 2019). Целью настоящей работы являлось морфометрическое сравнение изменений в ткани печени крыс через 72 часа после введения тетрахлорметана на фоне лечения различными препаратами.

Опыты проводили на 25 аутбредных белых крысах-самцах массой 180-220 г в соответствии с Директивой ЕС 2010/63/EU. Крысы содержались в виварии при освещении 12/12 ч. на стандартном рационе. Опытным группам однократно подкожно вводили масляный раствор тетрахлорметана в дозе 2 г/кг, контрольной группе вводили растительное масло. Коррекцию токсического поражения печени, вызванного тетрахлорметаном, проводили в 3 группах животных препаратами в терапевтической дозе по следующей методике. Одна группа животных через час после введения тетрахлорметана получала внутривенно гептор в дозе 72 мг/кг массы тела, вторая группа животных – мексидол подкожно в дозе 50 мг/кг массы тела, третья – перорально оксиметилурацил на 2% растворе крахмальной слизи в дозе 50 мг/кг массы тела. Введение гепатопротекторов повторяли через 24, 48 и 72 часа. Через час после последнего введения гепатопротектора животных выводили из эксперимента, забирали ткань печени.

Гистологические препараты готовили по стандартной методике и окрашивали гематоксилином и эозином. Изучение и микрофотографирование гистологических препаратов проводили с помощью микроскопа Zeiss AXIO Imager D2. На микроскопе Zeiss AXIO Imager D2 с одного блока производили 5 фотоснимков при увеличении 400х. Измерение площади с гепатоцеллюлярным некрозом или дегенерацией (с вакуольной дистрофией от умеренной до тяжелой) проводили с использованием морфометрического подхода (Miyakawa, 2015). На зашифрованных снимках с использованием программы ImageJ (National institutes of Health, USA) измеряли площади поврежденной и неповрежденной паренхимы.

Доли площадей некротических и дистрофических областей от общей площади паренхимы печени выражали в процентах (%). Обработка результатов проводилась с использованием программы IBM SPSS Statistics 21. Для сравнения средних долей площадей некротических и дистрофических областей от общей площади паренхимы использовался однофакторный дисперсионный анализ. В случае обнаружения различий дисперсионным анализом, проводилось post-hoc тестирование (Даннет Т3). Вероятность $p < 0,05$ была установлена в качестве критерия статистической значимости.

В группе с подкожным введением CCl₄ обнаруживались значительные повреждения. В паренхиме печени выявлялись центрлобулярные некрозы, которые иногда протягивались в центр-центральные мостовидные некрозы. Мелкокапельная вакуолизация встречалась в перипортальных и интермедиарных гепатоцитах, но радиальность расположения балок гепатоцитов около портальных трактов сохранялась. Около центральных вен обнаруживался значительный клеточный инфильтрат.

У всех опытных групп обнаруживали схожие морфологические признаки повреждений печени – централобулярные некрозы, застой крови в центральной вене, мелко- и крупнокапельная гидропическая вакуолизация гепатоцитов централобулярных и промежуточных зон, инфильтрация воспалительными клетками центральных вен и портальных трактов от слабой до умеренной степени. При этом обнаруживались перипортальные гепатоциты с сохраненной структурой.

Морфометрические исследования долей площади некротических и дистрофических областей от общей площади паренхимы печени экспериментальных животных групп отрицательного и положительного контроля показали следующие результаты: группа с подкожным введением масла - $0,3 \pm 0,19\%$; группа с подкожным введением раствора тетрахлорметана $50,97 \pm 9,15\%$. В группах крыс с подкожным введением раствора тетрахлорметана и последующим введением препаратов обнаружили следующие результаты: группа крыс, получившая Мексидол - $39,92 \pm 9,6\%$; группа крыс, получившая Гептор - $47,66 \pm 14,08\%$; группа крыс, получившая оксиметилурацил - $46,18 \pm 11,33\%$. Однофакторный дисперсионный анализ показал существование статистически значимых различий между средними данными групп. Post hoc тест Даннета Т3 выявил, что различия есть между группой отрицательного контроля и всеми остальными группами, а также между группой, получившей Мексидол и группой положительного контроля. Однако экспериментальные группы не различались между собой при $p < 0,05$.

Таким образом, в данном исследовании только при коррекции Мексидолом выявлены различия в относительных площадях некротических и дистрофических изменений в паренхиме печени от группы положительного контроля.

Литература

1. Lee I.C. The involvement of Nrf2 in the protective effects of diallyl disulfide on carbon tetrachloride-induced hepatic oxidative damage and inflammatory response in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 2014. V.63. P. 174-185.
2. Репина Э.Ф. Морфологические особенности гепатопротекторного действия антигипоксантов при остром поражении печени тетрахлорметаном в эксперименте. *Токсикологический вестник*. 2019. №1(154). С.43-48.
3. Miyakawa K. Platelets and protease-activated receptor-4 contribute to acetaminophen-induced liver injury in mice. *Blood*. 2015. V.126. №.15. P. 1835-1843.

Влияние фактора переноса на адаптацию крыс к новым условиям окружающей среды

Ахмадиев П.А., Сперидонова А.Д., Хузин Д.В., Хисматуллина З.Р., Исхаков Э.Р.
Башкирский государственный университет

Трансфер фактор (ТФ), или фактор переноса - это молекула, способная к передаче иммунологической информации от донора реципиенту (Chizhov A. Y., 2016). Изначально источником данного вещества являлся диализат лейкоцитов, позднее были обнаружены и другие источники. Так, в настоящее время компанией «4Life Research Co» производится биологически активная добавка (БАД) «Трансфер фактор» с использованием коровьего молозива (Chizhov A. Y., 2016). Основным назначением ТФ является повышение эффективности иммунного ответа, при этом точные данные о механизмах его воздействия на организм и его природе почти отсутствуют (Кузьмин И.А., 2009).

Согласно данным, полученным в ходе ряда исследований, существует многостороннее взаимодействие нервной и иммунной систем. Фактор некроза опухоли (ФНО) связан с пластичностью синапсов (Dantzer R., 2018). К примеру, IL-2 способен увеличивать секрецию адренкортикотропного гормона, задействованного в стресс-реакциях (Karanth S., 1991). Поскольку ТФ способен увеличивать уровень IL-2, а уровень ФНО – понижать (Macias A. E., 2020), большой интерес вызывает исследование влияния ТФ на поведение животных.

Целью работы явилось исследование привыкания крыс к условиям тестов «Открытое поле» и «Темно-светлая камера» на фоне перорального введения ТФ.

Эксперимент выполнялся на половозрелых самцах крыс линии “Wistar” (210-250 г). Животные были подразделены на две группы – контрольную (n=9) и опытную (n=10). Для исследования применен БАД «Трансфер фактор Классик», который вводился перорально в дозе 200 мг/кг на протяжении 21 дня. Использованы тесты «Открытое поле» и «Темно-светлая камера».

В тесте в «Открытом поле» регистрировались следующие параметры: горизонтальная двигательная активность (пересечение квадратов на периферии, пересечение квадратов на 2/3, выход в центр), количество вертикальных стоек, длительный груминг, количество актов дефекации и исследования отверстий.

В тесте «Темно-светлая камера» регистрировались выглядывания из темного отсека, вертикальные стойки, латентный период входа в темный отсек, время, проведенное в темном отсеке, переходы между отсеками.

При неоднократном помещении животных в тестовые установки, в норме существует тенденция к снижению исследовательской активности. На 22 день после введения ТФ данная тенденция была менее выражена (Me=15, Q1=11, Q3=24) по сравнению с контрольной группой (Me=4, Q1=1, Q3=9) в случае с горизонтальной двигательной активностью. При этом количество вертикальных стоек значительно снижалось (Me=0, Q1=0, Q3=0) по сравнению с контрольной группой (Me=4 Q1=2 Q3=6).

В тестах «Темно-светлой камере», как и в «Открытом поле», на 22 день после введения ТФ значительно снижалось количество вертикальных стоек (Me=0, Q1=0, Q3=0).

В отношении способности крыс адаптироваться к новым условиям окружающей среды упомянутые изменения являются, скорее, структурными. Их сложно охарактеризовать как положительные или отрицательные. Поэтому научный интерес могут вызвать дальнейшие исследования биологически активной добавки к пище «Трансфер фактор Классик» компании «4Life Research», в основу которых будет положено его влияние на центральную нервную систему через иммунную систему в контексте двигательной, в том числе и ориентировочно-исследовательской активности.

Литература

1. Кузьмин И. А., Бобкова Е. В., Алсынбаев М. М. Фактор переноса: свойства и механизм действия. Медицинский вестник Башкортостана. 2009. № 3 (4). С. 69-74.

2. Chizhov A. Y., Kirkutis A., Andruškienė J. Perspectives in the Application of Immunocorrector–transfer factor™ in Immunoprophylaxis Programmes and Immunorehabilitation. *Reabilitacijos mokslai: slauga, kineziterapija, ergoterapija*. 2016. № 15 (2). – P. 5-17.
3. Dantzer R. Neuroimmune interactions: from the brain to the immune system and vice versa *Physiological reviews*. 2018. № 1 (98). P. 477-504.
4. Karanth S., McCann S. M. Anterior pituitary hormone control by interleukin 2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1991. № 7 (88). P. 2961-2965.
5. Macias A. E., Guaní-Guerra E. Transfer Factor: Myths and Facts // *Archives of Medical Research*. 2020. №7 (51). P. 613-622.

Исследование ленточных синапсов в сетчатке крыс линии WAG/Rij и Wistar

Байгильдин С.С.^{1,2}, Мусин И.Ф.¹, Смолянкин Д.А.², Ахмадеев А.Р.²

¹ Башкирский государственный университет, кафедра физиологии и общей биологии

² ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека»

Необратимую слепоту вызывают, в основном, заболевания склеральной части сетчатки, в том числе пигментный ретинит и возрастная макулярная дегенерация, при которых в первую очередь повреждаются фоторецепторы и пигментный эпителий сетчатки. Потребность в животных моделях дегенерации сетчатки, одними из которых являются крысы линии WAG/Rij, обусловлена развитием таких методов экспериментальной терапии как генная и клеточная терапия, протезирование, регенеративная офтальмохирургия. У крыс исследуемой линии обнаруживается двусторонняя прогрессирующая дегенерация клеток сетчатки и пигментного эпителия. Однако данные, касающиеся синаптоархитектоники плексиформных слоев сетчатки крыс, не многочисленны. Цель исследования – измерение количества синаптических лент в плексиформном слое у крыс линии WAG/Rij и линии Wistar.

В работе с животными были соблюдены международные принципы Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным (2000г.). Крысы содержались в стандартных условиях вивария с интенсивностью освещения 32–65 люкс на уровне клеток. После передозировки эфирным наркозом глазные яблоки 3 крыс Wistar (в качестве контрольной группы) и 3 крыс WAG/Rij (в качестве опытной группы) (возраст 1 год) были энуклеированы. Кусочки тканей фиксировали в 2,5% глутаральдегиде на какодилатном буфере (рН 7,2–7,4) в течение 2-часов с дофиксацией в 1% растворе тетраоксида осмия (OsO₄) на том же буфере. Материал обезвоживали в батарее спиртов возрастающей концентрации и абсолютном ацетоне, заливали в смолу Эпон-812 и полимеризовали. Срезы готовили на ультрамикротоме LKB-III 8800. Контрастированные срезы фотографировали в просвечивающем электронном микроскопе Jem-1011. Для оценки изменений синаптоархитектоники фотографировали по 50 случайно выбранных полей зрения наружного плексиформного слоя с одной сетчатки при увеличении x10000 (Итого 150 полей зрения с каждой группы крыс). Статистическую обработку данных проводили с использованием статистического пакета программ SPSS версии 21 (IBM). Значимость различий величин между возрастными группами оценивали с помощью критерия Хи-квадрат. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

У крыс линии WAG/Rij было выявлено уменьшение количества синаптических лент в наружном плексиформном слое при $p < 0,05$. При этом в большинстве случаев у крыс линии Wistar выявлялось от 4 до 8 синаптических лент на одном поле зрения, а у крыс линии WAG/Rij они, в основном, не выявлялись. Стоит также отметить, что плоские синапсы все же сохранялись у крыс WAG/Rij. Синаптические ленты, способствующие быстрому выбросу медиаторов, могут уменьшаться в количестве при нейродегенеративных заболеваниях. Таким образом, у крыс линии WAG/Rij, по сравнению с крысами Wistar, наблюдается снижение количества ленточных синапсов в наружном плексиформном слое, что является одним из непосредственных доказательств нарушения функций зрительного анализатора у крыс данной линии.

Агробактериальная трансформация родиолы ирмельской *Rhodiola iremelica* Boriss. с целью получения волосовидных корней

Балахонцев Г.В.¹, Баймухаметова Э.А.²

¹ Башкирский государственный университет

² Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН

Родиола – род многолетних травянистых растений, входящих в семейство Толстянковые Crassulaceae. Растения данного рода представляют большой интерес для фармакологии и медицины в связи с их адаптогенными, нейростимулирующими, антидепрессантными и антиканцерогенными свойствами. Интересным представителем рода является родиола ирмельская – высокогорный эндемик южного Урала, включенный в Красную Книгу Республики Башкортостан в связи с бесконтрольным сбором растительного материала, приведшим к сокращению природных популяций. Поэтому является перспективным исследование возможности использования методов биотехнологии как для возрождения популяций родиолы, так и для получения содержащихся в них ценных БАВ – салидрозида и розавина. Интересным инструментом биотехнологии являются бактерии вида *Agrobacterium rhizogenes*, вызывающие образование у растений волосовидных (бородатых, косматых) корней, способных накапливать те же БАВ, что и нативные корни растений.

Целью данного исследования являлось создание культур волосовидных корней родиолы ирмельской *Rhodiola iremelica* Boriss. методом трансформации бактериями вида *A. rhizogenes* штамма А4 с генетической конструкцией pCambia 1301. Начальным этапом являлось получение *in vitro* культуры родиолы. Для этого проводили стерилизацию семян путем выдерживания их в течение 1 минуты в 70% этиловом спирте с последующим замачиванием в 10% белизне в течение 8 минут, после чего семена проращивали на среде МС стандартного состава в климатических камерах при 25°C. Эксплантами для трансформации служили листья и кусочки стеблей *in vitro* растений. Трансформацию проводили по стандартной методике путем сокультивации агробактерий с эксплантами родиолы. В результате через 21 день после инокуляции агробактериями на листовых эксплантах начали появляться медленно растущие волосовидные корни, которые затем отсоединяли и пересаживали на среду с селективным антибиотиком гигромицином. 5 корней из 11 пересаженных продолжали свой рост на данной среде, поэтому из них выделяли ДНК ЦТАБ-методом и ставили ПЦР-анализ, показавший наличие в них генов НРТ и GUS, что подтверждает их трансгенную природу. Таким образом, в результате исследования было получено 5 линий волосовидных корней родиолы, содержащих в своем геноме Т-ДНК бинарного вектора pCambia 1301.

Анализ иммунных клеток кожи и слизистой оболочки полости рта при папилломатозе

Бегова А.Б., Фаткуллина С.С.

Башкирский государственный университет

Папилломатоз – это доброкачественно протекающая болезнь, характеризующаяся возникновением на коже и слизистых оболочках многих органов эндофитных выростов - папиллом (доброкачественных опухолей вирусного происхождения, образующих множественные разрастания). Но в последнее время папилломавирусная инфекция привлекает к себе особое внимание в связи с ролью этой группы вирусов в развитии злокачественных новообразований (Крутикова, 2003; Jenson et al., 2001). Именно клетки иммунной системы несут главную часть нагрузки в защите организма от опухолевой трансформации. Противоопухолевой активностью обладают различные типы клеток. Но ведущая роль в механизмах иммунной деструкции опухолевых клеток отводится макрофагам, антигенпрезентирующим клеткам, и цитолитическим Т-лимфоцитам либо Т-киллерам, способным лизировать опухолевые клетки. Целью исследования явился анализ соотношения иммунных клеток (макрофагов и лимфоцитов) в области папилломатозного разрастания в слизистой полости рта и в коже.

Исследования проводили на кусочках биопсийных тканей, взятых у пациентов с папилломатозами кожи (10 биопсий) и слизистой оболочки рта (10 биопсий) (с их добровольного согласия). Материал фиксировали в 10% забуференном формалине по Лилли и заливали в парафин по общепринятым стандартным методикам. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином и по методу Ван-Гизон. Микроскопические исследования проводились с использованием светового микроскопа LEICA DM 2500 (Германия). Подсчет иммунных клеток лимфоцитов и макрофагов проводили на гистологических срезах, окрашенных гематоксилином и эозином при увеличении микроскопа X400. Считали клетки, отмечая их на счетчике СЛФ – ЭЦ-11-01, до общей суммы – 100 клеток. Определяли процентное соотношение. Всего обсчитали по 3000 клеток. Полученные количественные данные обработали в программе Статистика 8.

Полученные нами результаты свидетельствуют о довольно значительных морфологических изменениях при папилломатозе как в слизистой оболочке полости рта, так и в коже. Показатели среднего количества лимфоцитов в строме слизистой оболочки полости рта в области папилломатозного разрастания были почти в 5 раз выше, чем в строме слизистой в норме ($68,10 \pm 1,61\%$ и $14,83 \pm 0,64\%$, соответственно при $p < 0,001$). Макрофаги значимо не различались. Показатели среднего количества лимфоцитов в строме кожи в области папилломатозного разрастания оказались также выше, чем в строме кожи в норме ($68,10 \pm 1,61$ и $4,60 \pm 0,43\%$ соответственно при $p < 0,001$). Это является свидетельством местного проявления активации иммунной системы организма при папилломатозной инфекции. Показатели среднего количества макрофагов в строме слизистой оболочки полости рта в области папилломатозного разрастания не различались ($19,10 \pm 1,31\%$ и $19,50 \pm 0,93$ соответственно). Показатели среднего количества макрофагов в строме слизистой оболочки полости рта в области папилломатозного разрастания были немного больше ($18,37 \pm 0,91$ и $10,60 \pm 0,56$ соответственно при $p < 0,001$).

Известно, что наличие лимфо-макрофагальных комплексов в тканях свидетельствует об иммунном характере воспалительной реакции, которая обычно протекает по типу гиперчувствительности замедленного типа и хронизации процесса (Ройт, 2000; Кубанов, 2005). Инфильтрация лимфоцитами и макрофагами является местным проявлением системной иммунной реакции. Результаты проведенных многочисленных работ по исследованию общего иммунного статуса довольно противоречивы. Нужны дополнительные исследования по разработке данной проблемы.

Литература

1. Крутикова Е.И. Клеточные факторы местного иммунитета шейки матки при фоновых и предраковых заболеваниях, ассоциированных с папилломавирусной инфекцией / Е.И. Крутикова // Педиатрия, акушерство и гинекол. 2003. № 4. С.100-105.
2. Кубанов А.А. Характеристика интерферонового и иммунного статуса у больных с папилломавирусной инфекцией» / А.А.Кубанов //«Вестник дерматологии и венерологии. 2005. №2. С. 9-14.
3. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. М.: Мир, 2000. С. 464-489.
4. Jenson, A. B. Human papillomavirus and skin cancer/ A. B. Jenson, S. Geyer, J. P. Sundberg, S. Ghim // J. Invest. Dermatol.: Symposium Proceedings. 2001. Vol. 6, № 3. P. 203-206.

Выделение ДНК злаковых кормовых культур башкирской селекции

Бережнева З.А.¹, Габитова А.И.²

¹ Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Уфимского федерального исследовательского центра РАН

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный университет»

Значение злаковых культур в жизни человека весьма разнообразно. На первое место можно поставить хлебные и крупяные культуры, которые используются человеком в пищу. На втором месте – использование злаков в качестве кормовых растений для домашних животных. Лучшие по своим кормовым качествам, дикорастущие виды злаковых растений введены в культуру. На территории России широко культивируются такие виды, как тимофеевка луговая, ежа сборная, кострец безостый, лисохвост луговой, полевица гигантская, мятлик луговой, житняк ширококолосый и некоторые другие. Кормовые злаковые травы обеспечивают зеленый корм, сено, сенаж, силос и используются для выпаса сельскохозяйственных животных. Многие из кормовых злаков используются в качестве газонной травы в садоводстве. Также злаки являются основными компонентами естественных сенокосов и пастбищ. Кормовые злаковые культуры многолетних трав используются для восстановления утраченных запасов гумуса в сельскохозяйственных почвах, что сопровождается улучшением их структуры.

Кормовые злаковые культуры отличаются требованиями к плодородию почвенного грунта, влаге, периодом созревания и питательной ценностью для животных. Эти культуры являются многолетниками, дающими высокие урожаи несколько сезонов.

В Республике Башкортостан селекция кормовых культур ведется в Башкирском научно-исследовательском институте сельского хозяйства (БНИИСХ УФИЦ РАН), для повышения эффективности этой работы предлагается внедрение маркер-ориентированной селекции. Основным направлением селекции кормовых культур является повышение продуктивности, улучшение энергетической и белковой полноценности кормов на их основе. В связи с этим, целью нашей работы являлось создание коллекции ДНК кормовых злаковых культур, полученных из БНИИСХ УФИЦ РАН. В задачи исследования входило выделение ДНК злаковых культур СТАВ-методом и проверка качества, полученного ДНК с помощью агарозного гель-электрофореза. Объектом исследования послужили сортообразцы ежи сборной Бирская 1, линия тимофеевки луговой и две линии житняка ширококолосого.

Для выделения ДНК использовались 15 см проростки изучаемых злаковых культур, выращенные на универсальном грунте Geolia. Растительный материал растирали в 1,5 мл эппендорфе с добавлением 2хСТАВ буфера. Далее содержимое инкубировали в течение 60 минут в термостате Термит при 60°C, при этом каждые 15 минут эппендорфы встряхивали на Вортексе. Потом эппендорфы охлаждали в холодильнике в течение 5 минут. После этого добавляли 600 мкл смеси хлороформ: изоамиловый спирт (24:1) и встряхивали на Вортексе. Далее 20 мин перемешивали общую смесь на приборе Ротомикс. Затем центрифугировали в течение 2 мин при 12 тыс.об./мин. После отбирали водную фазу, добавляли равный объем холодного изопропилового спирта и аккуратно перемешивали. Дальнейшая инкубация происходила при -20°C в течение 20 мин. Потом центрифугировали в холодной центрифуге при максимальных оборотах в течение 15 мин. Затем осадок споласкивали 80% этиловым спиртом, сушили и растворяли в 40 мкл воды mQ. Качество выделенной ДНК проверяли с помощью горизонтального гель-электрофореза.

Полученная коллекция ДНК злаковых кормовых культур в дальнейшем будет использована в различных генетических исследованиях для поиска ДНК-маркеров, отвечающих за высокую продуктивность и стрессоустойчивость.

Получение трансгенных растений табака, экспрессирующих *rol* гены

Agrobacterium rhizogenes штаммов А4, 15834 и К599

Бережнева З.А.¹, Гиниятуллина Г.Р.²

¹ Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Уфимского федерального исследовательского центра РАН

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный университет»

Абиотические факторы окружающей среды, такие как засуха, избыточная влажность, воздействие высоких или низких температур, тяжелых металлов, засоление и кислотность почв оказывают прямое влияние на урожайность сельскохозяйственных культур. Поэтому создание стрессоустойчивых трансгенных растений является весьма актуальным.

Бактерии *Agrobacterium rhizogenes* природные переносчики онкогенов *rol* А, В, С и D в растения, вызывающие заболевание «hairy root». Экспрессия каждого из этих генов, оказывает воздействие на параметры роста, приводит к различным фенотипическим эффектам в растениях. Трансгенные растения с *rol*-генами отличаются новыми фенотипическими признаками, а так же повышением устойчивости к различным стрессовым воздействиям (Кагирова и др., 2017). Также имеются данные, согласно которым продукты *rol* генов могут подавлять активные формы кислорода (АФК) (Bulgakov et al., 2008; Nikravesh et al., 2012). Таким образом, экспрессия *rol*-генов может оказывать множественный положительный эффект на растения. В биотехнологических лабораториях чаще всего используемыми штаммами *A. rhizogenes* являются агропиновые 15834 и А4 и кукуминопиновый К599. *Rol*-гены *A. rhizogenes* перспективный, но тем не менее малоизученный объект, используемый при создании трансгенных растений, характеризующихся улучшенными параметрами роста и повышенной стрессоустойчивостью. Поэтому целью работы являлось получение трансгенных растений табака *Nicotiana tabacum* L., экспрессирующих *rol*-гены *A. rhizogenes* с помощью штаммов А4, 15834 и К599. В задачи эксперимента входило проведение агробактериальной трансформации с помощью штаммов А4, 15834 и К599, получение побегов-регенерантов, проверка наличия *rol*-генов в полученных волосовидных корнях и побегах-регенерантах и акклиматизация растений к росту в почве.

Агробактерии заранее выращивали при 28°C в течение суток в жидкой среде LB, содержащей стрептомицин (100 мг/л) для селекции штамма К599 и рифампицин (100 мг/л) для штаммов А4, 15834. Выросшую агробактериальную суспензию центрифугировали при 4000 об/мин в течение 10 минут, осадок растворяли в 20 мл жидкой среды МС (Мурасиге-Скуга). Листья табака *N. tabacum* L. сорта Petit Havana линии SR1 стерилизовали в течение 1 мин в 70% растворе С2Н5ОН, 10 мин в 10% растворе белизны и 5 раз промывали в стерильной дистиллированной воде. Далее с помощью пинцета и скальпеля листья нарезали на небольшие экспланты, которые помещали на среду МС без антибиотиков и ставили на инкубацию при 25°C в темный термостат на 2 часа. Потом экспланты помещали на новую чашку Петри, нижней стороной листа вверх, в которой было 10 мл жидкой среды МС и 1 мл агробактерий. Инокуляцию проводили в течение 15 минут. Далее экспланты подсушивали на стерильной фильтровальной бумаге и возвращали на чашку Петри со средой для сокультивирования. Совместное культивирование эксплантов и агробактерий проводили в течение двух суток при температуре 23-25°C. Затем листовые экспланты промывали в жидкой среде МС с антибиотиком цефотаксимом и переносили их на агаризованную среду МС с этим же антибиотиком. Все образованные волосовидные корни помещали в чашки Петри со средой МС с цефотаксимом. Корни культивировали в термостате Binder с выключенным светом. Регенерацию побегов на волосовидных корнях индуцировали при помощи гормонов 6-БАП (1 мг/л) и НУК (0,5 мг/л). Для подтверждения наличия *rol*-генов, ДНК из волосовидных корней и регенерационных побегов выделяли с помощью СТАВ-метода. Для подтверждения наличия в корнях и побегах генов *rolA* и *rolB* использовали

метод ПЦР с праймерами RolAB1F AATTGCTACGAGGGGACGCTTTGT/RolAB1R ACGCTCCGCCGGTGGTCATACTTA, RolAB2F TCGGCGGGCTAAGGTCAAGAA/ RolAB2R CTCGCGAGAAGATGCAGAAAAGTA.

Перед акклиматизацией растений к почве побеги со сформированными корнями вынимали из питательной фитогормональной среды МС и высаживали на почвенный грунт, накрывали пленкой и выращивали при температуре 25°C на свету.

Литература

1. Кагирова А.С., Гумерова Г.Р., Гуменко Р.С., Кашапова Г.М., Кулуев Б.Р. Особенности фенотипического проявления rol-генов *Agrobacterium rhizogenes* в растениях. Биомика. 2017. Т. 9. № 4. С. 304-316.
2. Bulgakov V.P. Functions of rol genes in plant secondary metabolism. *Biotechnology Advances*. 2008. Т.26. № 4. С. 318-324.
3. Nikravesh F., Khavari-Nejad R.A., Rahimian H. Study of antioxidant enzymes activity and isozymes pattern in hairy roots and regenerated plants in *Nicotiana tabacum*. *Acta Physiol Plant*. 2012. Т. 34. С. 419-427.

Анализ эколого-просветительской деятельности на примере проекта АНО «Чистая Уфа» «Крышечки спешат на помощь»

Богданович М.Д.

Башкирский государственный университет

С ростом экологических проблем возрастает актуальность экологического образования. Повышением экологической культуры населением занимаются общественные экологические движения и некоммерческие организации. Автономная некоммерческая организация "Чистая Уфа" – это организация по поддержке экологических инициатив населения. Директором является Воробьева Елена Александровна.

АНО "Чистая Уфа" осуществляет деятельность по четырем направлениям: 1) очищение лесов и берегов водоемов; 2) внедрение раздельного сбора отходов; 3) экологическое просвещение населения, благотворительность; 4) озеленение Республики Башкортостан.

С 4 февраля 2019 года реализуется эколого-благотворительный проект «Крышечки спешат на помощь». Цель проекта – привлечь внимание жителей республики к проблеме раздельного сбора мусора и переработке вторсырья. Деньги, вырученные от сдачи крышечек на переработку, идут на благотворительные цели. В 2019 году для тяжело больных пациентов паллиативного отделения Республиканского клинического онкологического диспансера РБ было приобретено 6 ходунков; в 2020 году – оказана помощь пациентам детского ковид-госпиталя г. Благовещенска в виде 5 коллекторов – обогревателей для детских палат.

В экономическом плане на данный момент проект убыточный, т.к. для получения средств от переработки пластиковых крышек нужен большой объем (несколько тонн), а вес одной крышки около 5 г. Чтобы проекту стать прибыльным, за короткий промежуток времени должно собираться большее количество сырья. Для этого необходимо привлечь всех жителей к раздельному сбору, в том числе пластиковых крышек. За месяц жители города могут сдавать от 56 296 кг крышек, это 337 779 рублей с переработки сырья за месяц. Но сейчас за год собирается всего лишь около 2-х тыс. кг крышек – это примерно 11 тыс. рублей.

Главная задача проекта – приобщить жителей к раздельному сбору отходов и более осознанному потреблению. В процессе сбора крышек дети и взрослые учатся различать пластик и другие предметы по маркировке, определять, что идет или не идет на переработку, и как следствие – потреблять осознанно.

Проект «Крышечки спешат на помощь» в 2020 году получил поддержку в виде гранта Фонда Главы Республики Башкортостан, на его средства были установлены первые экологические арт-объекты в республике – контейнеры в виде сердца, куда можно принести и опустить крышки. По мере наполнения организуются выгрузки «сердец», в которых принимают участия волонтеры и активные жители города. Многие не просто собирают крышки, но и организуют пункты приема в рамках проекта у себя в офисах, в детских садах, классах и других учебных заведениях. Небольшие контейнеры для сбора стоят в Министерстве природопользования и экологии РБ и в Администрации ГО г. Уфа, которые поддерживают эколого-благотворительный проект.

Проект «Крышечки спешат на помощь» развивается и охватывает более 20 населенных пунктов республики Башкортостан. Распространение пунктов приема крышек по всей республике говорит о том, что люди заинтересованы разделять отходы, сдавать их на переработку и готовы это делать. Проблема заключается в доступности. Процесс сдачи сырья должен быть легким, простым и повсеместным.

На предмет осведомленности населения о проекте «Крышечки спешат на помощь» был проведен социальный опрос. Опросник состоял из 12 вопросов, его прошли 65 человек. Основная часть прошедших опрос составляет молодежь от 18 до 24 лет – 36,9 %, люди, возрастом от 31 до 45 лет, составили 24,6 %. Важную роль в информировании играют социальные сети – благодаря просветительской деятельности в официальные страницы АНО

«Чистая Уфа» о проекте узнали 29,2 % людей; 67,7 % (44 человека) уже были знакомы с другими проектами некоммерческой организации. На вопрос «Какой маркировки пластика принимаются крышки на переработку в рамках проекта?» из 65 человек 5 ответили неверно, 38 человек затруднились в ответе, 22 человека ответили верно (маркировкой 2, 4, 5). Стоит отметить, что никто не выбрал ответ маркировкой «6, 7». Данные виды пластмассы практически не перерабатываются. Ответ – «только 2», которые выбрали пятеро, является не ошибочным, а неполным. В рамках данного проекта на переработку принимаются крышки маркировкой 2, 4 и 5. Исходя из опроса 38 респондентов сдают пластиковые крышки на переработку, 10 – планируют начать, 17 – не собирают. На вопрос: «Сдаете ли Вы на переработку другое сырье? (Макулатура, стекло, батарейки, пластиковые бутылки)» 55,4 % (36 человек) выбрали ответ – да, 26,2 % (17 человек) – нет, 18,5 % (12 человек) – периодически/некоторые фракции. Больше половины – 56,9 % (37) собирают мусор по фракциям у себя дома, 27 человек уже давно этим занимались, а остальные приобщились к разделному сбору после того, как узнали о проекте «крышечки спешат на помощь», еще 38,5 % планируют начать сдавать сырье на переработку.

Безусловно, реализация эколого-благотворительного проекта АНО «Чистая Уфа» «крышечки спешат на помощь» вносит свою долю в повышение экологических знаний о вторичном использовании населения и в развитие системы разделного сбора отходов в Республике Башкортостан. Сами участники проекта считают, что проект «Крышечки спешат на помощь» способствует популяризации разделного сбора отходов и экологическому просвещению населения. С этим утверждением согласились 96,9 % респондентов.

Способы переработки шламов хроматного производства

Бородкина М.С.

Башкирский государственный университет

На сегодняшний день существует много способов переработки шламов, которые образуются в процессе производства хромовой промышленности.

Одним из способов переработки шлама заключается в восстановлении шестивалентного хрома, входящего в состав шлама, до трехвалентного с помощью обработки водной суспензии шлама серосодержащими восстановителями (Середа, 1982). Но этот метод имеет такой недостаток, как невозможность дальнейшей полезной эксплуатации.

Еще один метод направлен на извлечение хромита из образующихся шламов путем обработки соляной кислотой. Извлеченные хромиты отправляют на дальнейшую обработку и вовлечение в производство, а продукт обработки складывают в специально отделенных местах (шламонакопителях), который в дальнейшем никак использоваться не будет (Середа, 1995).

Также существует способ переработки шламов, который подразумевает собой обработку диоксидом углерода. Здесь происходит извлечение как хромита, так и магния. В данном способе присутствует двухстадийная обработка водной суспензией кислотного реагента. Извлечение хромита может достигать до 60%. Извлеченный магний можно использовать в промышленном производстве, например, нагревательных элементов (Середа, 1982).

Четвертый способ переработки шлама хроматного производства включает обработку его суспензии углекислотой, отделение твердого остатка, декарбонизацию раствора бикарбоната магния, отделение осадка основного карбоната магния, его сушку и прокалку. Перед карбонизацией шлама проводят его обработку маточными растворами, полученными после выделения основного карбоната магния. Предварительную обработку шлама маточными растворами проводят при интенсивном перемешивании в течение 10-30 мин при 30-90°C. Суспензию шлама после предварительной обработки подвергают фильтрации или отстаиванию с получением раствора хромата натрия, очищенного от магния, который направляют в основное производство хромата натрия или на извлечение оксида хрома (Пльшевский, 2006).

Пятый способ переработки шлама хроматного производства включает обработку шлама водой с добавлением серной кислоты, озонирование полученной суспензии и разделение суспензии на фильтре, полученный вторичный шлам промывают водой, в которую добавляют восстанавливающий реагент - водный раствор сульфата и/или хлорида двухвалентного железа, и удаляют влажный вторичный шлам. Изобретение позволяет повысить степень извлечения хрома из шламов хроматного производства на 20%, перевести шлам хроматного производства из второго класса опасности в четвертый и обеспечить возможность его последующего использования при строительстве дорог (Циппер, 2018).

Обезвреживание хромовых отходов можно разделить на методы, которые основываются на применении высокотемпературных и низкотемпературных технологий. Продукт обработки является источником как сульфатов магния, кальция, так и оксида, гидроксида магния (Середа, 1996).

В этом методе может быть применено 2 варианта обезвреживания: термический и гидротермальный процессы перевода соединений шестивалентного хрома в водонерастворимые соединения трёхвалентного хрома, путем взаимодействия шлама с серусодержащими восстановителями. При термическом обезвреживании хроматный шлам после водно-сульфатного выщелачивания тщательно смешивался с восстановителем и из полученной массы формировались таблетки, которые подвергались термообработке в течение 50-120 минут. В случае сульфида натрия формирование не проводилось, так как уже на стадии смешения степень восстановления шестивалентного хрома достигала 90%. Полнота обезвреживания шлама достигается при расходе восстановителя на уровне 120-

140% от стехиометрического количества и температуре 150-300°C. При температуре свыше 300°C наблюдается окисление образовавшегося ранее трехвалентного хрома до шестивалентного. Обезвреживание шламов, не подвергавшихся водно-сульфатному выщелачиванию, протекает не полностью, особенно в случае применения серы (Середа, 1996).

Процесс гидротермального обезвреживания шлама серой и сульфидом натрия проводится при температуре 105-120°C и расходе восстановителя на уровне 110-120% в течении 2 часов. В данном варианте водно-сульфатное выщелачивание шлама почти в 2 раза уменьшает продолжительность процесса его обезвреживания (Середа, 1996).

Таким образом, термический метод обезвреживания хроматных шламов, особенно с использованием сульфидосодержащих отходов, может представить интерес предприятий хромовой промышленности, которые не имеют цеха по обезвреживанию шламов. Гидротермальный метод обезвреживания со стадией водно-сульфатного выщелачивания подойдет предприятиям, которые имеют цеха нейтрализации хроматных шламов (Середа, 1996).

Литература

1. Авторское свидетельство № 969674 А1 СССР, МПК С01G 37/02, С01G 37/14. Способ переработки хроматных шламов : № 3225849 : заявл. 29.12.1980 : опубл. 30.10.1982 / Б. П. Середа, И. М. Пономарева, В. А. Рябин [и др.] ; заявитель ПРЕДПРИЯТИЕ П/Я А-7125, ПРЕДПРИЯТИЕ П/Я Г-4427.
2. Патент № 2083497 С1 Российская Федерация, МПК С01G 37/02, С01F 5/24, С01G 37/14. Способ переработки шлама хроматного производства : № 95100748/25 : заявл. 17.01.1995 : опубл. 10.07.1997 / Б. П. Середа, О. В. Демидова, Б. А. Попов [и др.] ; заявитель Акционерное общество открытого типа "Хромпик". – EDN WENCMC.
3. Патент № 2281249 С1 Российская Федерация, МПК С01G 37/14. Способ переработки шлама хроматного производства : № 2005112324/15 : заявл. 25.04.2005 : опубл. 10.08.2006 / Ю. С. Плышевский, Н. В. Гаркунова, К. Н. Захаров [и др.] ; заявитель Федеральное государственное унитарное предприятие "Уральский научно-исследовательский химический институт с опытным заводом" (ФГУП "УНИХИМ с ОЗ").
4. Патент № 2652178 С2 Российская Федерация, МПК С01G 37/00. Способ переработки шлама хроматного производства : № 2016103516 : заявл. 03.02.2016 : опубл. 25.04.2018 / А. А. Циппер, В. Н. Басов, С. В. Островский [и др.] ; заявитель ООО "Межрегиональный центр биологических и химических технологий".
5. Середа, А. Б. Исследование процессов обезвреживания и переработки шламов хроматного производства: специальность 02.00.01 "Неорганическая химия" : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата технических наук / Середа Андрей Борисович. – Екатеринбург, 1996. – 19 с.

Характеристика влияния промышленного предприятия на состояние здоровья населения

Бородкина М.С.

Башкирский государственный университет

АО «Актюбинский завод хромовых соединений», расположенный в г. Актюбе Республики Казахстан, является специализированным предприятием по выпуску хромовых соединений. Среди веществ, поступающих в окружающую среду с выбросами и сбросами предприятия, присутствуют хром (VI) и хром (III). Учитывая специфичность указанных веществ для предприятия, рассмотрим основные направления влияния их на состояние здоровья человека.

Соединения трехвалентного хрома представляют значительно меньшую экологическую опасность, чем соединения шестивалентного хрома. Соединения трехвалентного хрома могут лишь в небольшой степени усваиваться организмом через пищеварительную систему, в то время как соединения шестивалентного хрома обладают способностью взаимодействовать с белками в верхних слоях кожного покрова и формировать устойчивые сложные комплексы (Сухих, 2020). Соединения трехвалентного хрома не вызывают кожных раздражений и, как правило, не провоцируют аллергический дерматит, если только предварительно они не вошли во взаимодействие с соединениями хрома шестивалентного (Bessonova, 2011).

Соединения шестивалентного хрома легко усваиваются организмом как через пищеварительную, так и посредством дыхательной систем. Проникновение таких соединений в организм через неповрежденную поверхность кожи изучено в меньшей степени (Bessonova, 2011). Раздражения и повреждения, вызванные действием шестивалентного хрома, чаще возникают вследствие их попадания на слизистые оболочки, через которые они легко попадают внутрь (Сухих, 2020). Длительный контакт в производственных условиях с соединениями шестивалентного хрома может привести к возникновению раздражений и повреждений кожного покрова и слизистых оболочек, аллергических реакций или кожных изъязвлений.

Соединения шестивалентного хрома обладают канцерогенными свойствами. В основе отрицательных действий химических веществ, в том числе соединений хрома, лежит рассогласование и повреждение комплекса метаболических и других регуляторных и компенсаторных механизмов гомеостаза, обеспечивающих адаптацию организма к условиям биосферы (Сухих, 2020).

Достаточно много исследований посвящено алергизирующему воздействию хрома на организм. В исследованиях Засорина Б.В. установлена корреляционная зависимость между содержанием хрома в объектах окружающей среды и частотой заболеваний язвенной болезнью желудка, и гастритом, а также аллергическими болезнями (Засорин, 1993).

Таким образом, среди веществ, присутствующих в выбросах предприятия, наибольшее гигиеническое значение имеют соединения шестивалентного хрома. Вместе с тем, следует подчеркнуть, что негативное воздействие на здоровье может иметь место лишь в случае длительного непосредственного контакта организма с соединениями шестивалентного хрома, что для условий населенного места неприемлемо (Bessonova, 2011).

Для оценки состояния здоровья населения рассматриваемого региона были изучены демографические данные - смертность, рождаемость, естественный прирост, а также уровень заболеваемости населения по данным обращаемости в лечебно - профилактические учреждения. Для анализа использованы данные официальной статистики (Отчет по качеству, 2019). Динамика рождаемости одна из наиболее показательных характеристик состояния здоровья населения.

Статистика рождаемости с 2010 по 2019 года демонстрирует тенденцию увеличения рождаемости как в пределах города, так и по области. Одной из важнейших причин наблюдаемого увеличения показателя рождаемости является улучшение социально-

экономических условий. Соотношение смертности и рождаемости определяет естественный прирост населения. Так в городе естественный прирост населения в 2019 году составлял 18,86 на 1000 человек населения, в области - 14,60. В целом естественный прирост населения как в г. Актобе, так и в Актыбинской области в целом имеет тенденцию к росту (Отчет по качеству, 2019).

Согласно известному утверждению (Засорин, 1993), здоровье человека на 49-53% обуславливается образом жизни, на 18-22% генетическими и биологическими факторами, на 8-10% состоянием здравоохранения, на 17-20% окружающей средой. А уровень здоровья детского населения является индикаторным показателем качества окружающей среды.

Также в отчете (Отчет по качеству, 2019) представлена первичная заболеваемость детского населения города Актобе и Актыбинской области по отдельным классам болезней за 2010 и 2019 годы. Представленная информация свидетельствует о том, что как в Актыбинской области в целом, так и в г. Актобе по сравнению с 2010 годом в 2019 году отмечается снижение уровня первичной заболеваемости детского населения. Причина данного факта вероятно обусловлена рядом факторов, среди которых можно выделить улучшение социально-экономических условий жизни населения и относительную стабилизацию экологической ситуации в регионе.

Литература

1. Bessonova, V. P. Chrome in an environment / V. P. Bessonova, O. E. Ivanchenko // Питання біоіндикації та екології. – 2011. – No 16-1. – P. 13-29.
2. Засорин Б.В. Связь алергизации населения с загрязнением окружающей среды хромом: автореф. дис. к.м.н. - Алма-Ата, 1993. - 20 С.
3. Отчет по качеству. Естественное движение населения Республики Казахстан за 2019 год. Министерство национальной экономики Республики Казахстан. Комитет по статистике. Астана. 2019. 14 С.
4. Сухих, Д. С. Химическое загрязнение окружающей среды соединением хрома / Д. С. Сухих, А. В. Чернов // Химические и материаловедческие аспекты техносферной безопасности: Сборник трудов XXX Международной научно-практической конференции, Химки, 19 марта 2020 года. – Химки: Академия гражданской защиты МЧС России, 2020. – С. 95-104.

Характеристика продукции и отходов хроматного производства

Бородкина М.С.

Башкирский государственный университет

Все хромовые товарные соли выпускаются на основе полупродукта – монохромата натрия, который поступает в цеха на переработку в виде раствора. Хромовым сырьем служит хромовая руда – минерал, относящийся к группе шпинелей, где металлы представлены магнием, хромом, алюминием. Хромовая руда поставляется из горно-обогатительных комбинатов (ПЭК, 2019).

Рассмотрим характеристику на примере АО «Актюбинского завода хромовых соединений». Основное производство занимает выпуск окиси хрома металлургической, бихромата натрия, монохромата натрия (ОВОС, 2018).

Шлам сернистого натрия образуется при производстве окиси хрома металлургической (ОВОС, 2018). Окись хрома представляет собой тонкодисперсный порошок зеленого цвета. Обладает высокими укрывистостью, свето-, термо-, атмосферостойкостью и стойкостью к действию агрессивных газов (Цыганков А.П., 1979). Окись хрома нерастворима в воде, трудно растворима в кислотах и щелочах, легко окисляется расплавленными окислителями (нитратами, перхлоратами), воздухом в присутствии щелочей, горячими растворами некоторых окислителей. Применяется в основном в металлургической промышленности. Образующийся шлак сернистого натрия в виде пульпы по трубопроводу переносится в шламонакопители (ОВОС, 2018).

Шлак сульфата натрия образуется в результате производства бихромата натрия (ОВОС, 2018). Бихромат натрия (двуххромовокислый натрий, натриевый хромпик) — неорганическое соединение, являющееся натриевой солью дихромовой кислоты. Характеризуется высокой гигроскопичностью, является сильным окислителем (Цыганков А.П., 1979). Очень хорошо растворяется в воде и полярных растворителях (например, уксусной кислоте). Бихромат натрия, применение которого весьма разнообразно, востребован в химпроме, электротехнике, деревообработке и не только. Шлак сульфата натрия относится к группе негорючих веществ. Шлак вывозится грузовыми машинами на щдамонакопитель (ОВОС, 2018).

Монохроматный шлак образуется при производстве монохромата натрия (ОВОС, 2018). Монохромат натрия получается при прокаливании шихты, состоящей из хромовой руды, кальцинированной соды и твердого остатка (без доломита). После прокаливания спек подвергают выщелачиванию, в результате которого образуется раствор монохромата натрия и твердый остаток в виде гранул, содержащих 30—35% окиси хрома (Цыганков А.П., 1979). В производстве монохромата натрия на 1 т продукции образуется около 2 т токсичного шлама, содержащего окислы кремния, алюминия, кальция, железа, магния и хрома и некоторые другие соединения (Середа А.Б., 1996). Шлак вывозится грузовыми машинами на щдамонакопитель (ОВОС, 2018).

Литература

1. Отчет ОВОС АО «АЗХС» «Оценка воздействия производства сульфата хрома на окружающую среду» Т.2, «Казмеханобр», Алматы 2018
2. Производственный экологический контроль (ПЭК) АО «АЗХС» в 2019 г. (договор №10-11/1429 от 25.03.2019 г.), ДГП ГНПОПЭ «Казмеханобр», Алматы, 2019
3. Середа, А. Б. Исследование процессов обезвреживания и переработки шламов хроматного производства : специальность 02.00.01 "Неорганическая химия" : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата технических наук / Середа Андрей Борисович. – Екатеринбург, 1996. – 19 с.
4. Цыганков А.П., Балацкий О.Ф., Сенин В.Н. Технический прогресс – химия – окружающая среда. – М.: Химия, 1979. – 296 с.

Воздействие мутагенных факторов на генетический аппарат клетки

Брандукова Е.В.

Башкирский государственный университет

В настоящее время технологии значительно шагнули вперёд, человек пользуется энергией атома, создаются новые химические и фармакологические препараты, достижения генной инженерии стали активно внедряться во многие сферы жизни общества. В результате этого процесса последовала проблема загрязнения окружающей среды мутагенами различной природы, которая на сегодняшний день является одной из самых острых и актуальных задач последних десятилетий. Перед учёными всего мира остро стоит вопрос ее качественного решения. Научно-техническая революция преобразовала среду обитания человека и, как следствие, обилие различных мутагенов стали способны вызывать необратимые нарушения в генетическом аппарате человека, а собственные системы защиты генетической информации в клетке перестают справляться под воздействием мутагенных факторов различного характера.

Факторы, которые вызывают мутацию именуют мутагеном, а процесс возникновения мутаций – мутагенезом, при этом организм, приобретший какой-либо новый признак и изменивший свой фенотип в результате мутации, называют мутантом. Мутации присущи всем организмам и постоянно возникают в природе естественным путём под влиянием мутагенов, которые вызывают нарушение нормальных процессов репликации, рекомбинации или расхождения генетических носителей информации. Виды мутаций разнообразны так же, как различны причины мутаций.

В научной литературе выделяют следующие виды мутаций: 1) спонтанные или индуцированные; 2) соматические или генеративные; 3) вредные, нейтральные, полезные; 4) генные, хромосомные, геномные (Айала, 2019).

Значительная часть мутаций является нейтральной или вредной для живого организма и только очень малая часть (до нескольких процентов) может оказаться полезной. Некоторые мутации могут носить и положительный характер, например, повышать резистентность организма к неблагоприятному воздействию окружающей среды, но негативный проявляется значительно, например, снижается жизнеспособность организма, вызываются необратимые заболевания, чаще не совместимые с жизнью, гибель организма.

Отрицательное воздействие мутагенных факторов, как правило, направлено на наследственный аппарат человека, а мутационный процесс является главным источником изменений, приводящим к различным патологиям в организме. В классификации основными группами мутагенов выступают: физические, химические, биологические и аутомутагенты.

К группе *физических мутагенов* относят излучения: ионизирующее радиационное, рентгеновское, ультрафиолетовое и температуру.

Под воздействием ультрафиолетового излучения организмы находятся в течении всей жизни и в малых дозах оно способно оказывать благотворное влияние. Под воздействием ультрафиолета вырабатываются витамины группы D и улучшаются иммунобиологические свойства организма, тем не менее, в больших дозах оно способно оказывать негативное воздействие на организм, в значительной степени на эпидермис и сетчатку глаза.

Воздействие ионизирующего излучения представлено альфа-, бета- и гамма-излучениями, биологическое действие которых обусловлено способностью вызывать возбуждение, а также ионизацию атомов и молекул в облучаемой субстанции (Gricienė, 2014). Под воздействием энергии излучения в клетке возникают возбуждённые и ионизированные молекулы, ими могут оказаться как неорганические, так органические молекулы, перераспределение энергии излучения между ионизированными молекулами ведёт к радиолузу – разрушению химических связей с образованием свободных

радикалов (Рис, 2014). В случае ионизации ДНК, поглощённая энергия излучения расходуется на разрушение структуры азотистых оснований и может вызвать необратимый процесс.

Учеными установлена пропорциональная зависимость между частотой сцепленных с полом рецессивных мутаций и дозой облучения, частотой хромосомных перестроек и дозой радиационного излучения. Любая доза ионизирующего излучения оказывает губительное воздействие на клетку и её генетический аппарат, безопасной дозы не существует, особенно опасно ионизирующее излучение для клеток, имеющих более крупные ядра, для которых характерно более частое деление. Это клетки крови, эпителия и мужские гаметы. Так, например, замена глутаминовой кислоты на валин в молекуле глобина (белковой части гемоглобина) приводит к катастрофическим последствиям. Гемоглобин начинает хуже связывать и переносить кислород. Эритроциты, в которых содержится гемоглобин, становятся непрочными и легко разрушаются. Вследствие замены одной из ста сорока шести аминокислот на другую развивается тяжелое заболевание – серповидноклеточная анемия (Первушин, 2022).

К группе *химических мутагенов* относятся самые разнообразные вещества (алкилирующие соединения, альдегиды, кетоны, различные антиметаболиты, перекись водорода, азотная кислота и её аналоги, красители, обладающие основными свойствами, соли тяжёлых металлов, вещества ароматического ряда), инсектициды, гербициды, наркотики, алкоголь, никотин, некоторые лекарственные вещества и многое другое. Данные химические мутагены так же можно объединить в группы: окислители и восстановители; алкилирующие агенты и пестициды; некоторые пищевые добавки; продукты переработки нефти и органические растворители; лекарственные препараты (например, производные этиленмина, дихлордиэтиламина, тиофосфамид, дегранол, гормональные препараты, хлоридин, амидопирин).

Химические мутагены — это химические вещества, способные вступать в реакцию с компонентами ДНК и тем самым вызывать в ней нарушения. Это может быть химические перестройки азотистых оснований (элиминация, дезаминирование, нарушение кольцевой структуры), нарушение сахарофосфатного остова молекулы, ковалентное связывание азотистых оснований с алифатическими и ароматическими радикалами. Важными характеристиками данного мутагена являются количественные закономерности зависимости концентрации и природы вещества и времени воздействия (Бочков, 2003).

Механизм действия химических мутагенов основан на разрушении химических связей в молекуле ДНК после проникновения его внутрь клетки, изменённая в ходе химических превращений ДНК (образование димеров, алкилирование и т.д.) реплицируется с нарушениями, что приводит к мутации. Мутагены делят на мутагены прямого и непрямого действия (промутагены), которые сами по себе инертны, но в ходе реакций ферментативного окисления способны превращаться в мутагены. Примером является превращение этилового спирта в канцерогенный ацетальдегид.

Экспериментально было установлено, что мутагенной активностью обладает несколько тысяч химических соединений, но в отличие от ионизирующего и ультрафиолетового излучений для химических мутагенов характерна специфичность действия, зависящая от природы объекта и стадии развития клетки. В случае активного взаимодействия химических мутагенов с компонентами наследственных структур (ДНК и белками) возникают первичные повреждения, которые в дальнейшем, ведут к возникновению хромосомных и геномных мутаций.

Мутагенные и канцерогенные свойства химических веществ тесно связаны между собой, поэтому выявление возможных мутагенов в окружающей среде, испытание на мутагенность продуктов промышленного синтеза, тех же красителей, лекарственных препаратов, пестицидов и пр.-является важной задачей современной генетики.

Мутагенами биологического происхождения являются вирусы, бактерии (стафилококк), грибы, простейшие, гельминты и продукты их метаболизма, которые действуют как химические мутагены, вакцины, сыворотки, стероидные гормоны, а также неполноценное питание и возраст. К изменениям этой группы относят специфические последовательности ДНК – транспозоны (элементы генома, способные вызывать значительные хромосомные мутации, встраиваясь в геном), микротоксины – продукты жизнедеятельности микроорганизмов (например, афлатоксин), плазмиды, вирусы кори, оспы, гриппа, гепатита. Биологические мутагены способны вырезать фрагменты ДНК, вставлять новые, провоцировать генные мутации, в частности, это может быть замена одного нуклеотида на другой.

Мутагенное повреждение *вирусами* при заражении ими клеток были установлены еще 30-х годах XX века, позже было определено, что хромосомные разрывы могут индуцировать вирусы гриппа, герпеса, оспы, ветряной оспы, кори, коревой краснухи, энцефалита, полиомиелита и пр.

Непатогенные вирусы, присутствующие почти во всех клетках, создают поток чужеродной ДНК, который постоянно воздействует на клетки хозяина, чужеродная ДНК обладает мутагенными свойствами, нарушая качественный процесс рекомбинации. Вирусы, так же, как организм их хозяина, подвергаются воздействию мутагенов среды, особенно в клетках с нарушенными репарационными механизмами, в результате чего возникают новые расы вирусов с измененными мутагенными свойствами.

Живые вакцины, а также инфекционные формы вируса способны индуцировать повышение числа клеток с нарушениями в числе и структуре хромосом.

Примером *бактериальных* токсинов являются: ботулотоксин, стрептолизин-О, токсин гемолитического стрептококка, повышает частоту мутаций в культуре эмбриональных фибробластов.

Примеры *грибов* или *микотоксинов*: афлатоксин - образуется плесневыми грибами *Aspergilla flavus*, растущими на орехах, пряностях и злаках, является гепатотоксином и канцерогеном; патулин - синтезируется грибами *Penicillium expansum*, которые растут на зрелых фруктах, зерне, орехах, содержится в испорченных фруктах и соках, оказывает гепато-, нефротоксическое и канцерогенное действие на организм.

Гельминты-паразиты кишечника человека выделяют мутагенные продукты своего метаболизма, метаболиты которых разрушают теломеры хромосом, нарушают процесс кроссинговера.

Современными учеными так же было выявлено, что вакцинация людей и использование лечебных сывороток также может привести к повышению уровня хромосомных aberrаций.

Таким образом, природа мутагена может быть различной, но его действие всегда направлено на генетический аппарат клетки. Конечно, в клетке существует система защиты от разрушительного влияния мутагенных факторов, это уже названная система репарации или самовосстановления ДНК, для фоторепарации необходимо присутствие видимого света: энергия видимого света запускает ферментативную реакцию, в ходе которой происходит разрезание димеров и восстановление нативной структуры ДНК.

Кроме того, некоторые химические вещества способны снижать повреждающий эффект мутагенов, их называют антимутагенами, к таким веществам относят соединения тиолового ряда (цистеин, цистин, глутатион, бета-аминоэтилизомочевина), фосфорилированные тиолы, органические соединения селена, пропиленгликоль, глицерол, соединения с выраженной токсикологической и фармакологической активностью (гистамин, триптамин, серотонин, аминокислоты). Проблема в использовании данных веществ в качестве антимутагенов заключается в том, что многие виды протекторов эффективны в высоких концентрациях, которые близки к токсичным, но в

перспективе планируется разработка антимутагенов, применение которых будет безопасным для организма.

В перспективе, создание более совершенных систем защиты человека является идеальной стратегией, направленной к снижению до минимума возможности неблагоприятного мутагенного действия различных факторов, примером могло бы послужить осуществление требования обязательного испытания в тест-системах на мутагенность химических веществ.

Литература

1. Айала Ф. Современная генетика: Том 1 / Ф. Айала, Д. Кайгер – М.: Книга по Требованию, 2019. – 296 с. - ISBN 978-5-458-37353-1
2. Бочков Н.П. Экологическая генетика человека // Экологическая генетика. Т. 1. № 5. 2003. С. 16-21
3. Рис Э, Стернберг М. Введение в молекулярную биологию (от клеток к атомам): пер. с англ. / под ред. Ю.С. Лазуркина, В.А. Ткачука. - М.: Мир, 2014. - 142 с. - ISBN: 5-03-003521-4
4. Первушин В.В., Горпинич И.В., Савончик Г.С. Мутагенез: разновидности и эволюционная роль. // Международный студенческий научный вестник. – 2022. – № 1.; URL: <https://eduherald.ru/ru/article/view?id=20860> (дата обращения: 22.05.2022)
5. Gricienė V., Slapšytė G., Mierauskienė J. Cytogenetic monitoring of nuclear workers occupationally exposed to ionising radiation // Radiat. Prot. Dosimetry. 2014. V. 159. № 1-4. P. 10-9.

Борьба с нозематозом у медоносных пчел

Булатова А.Ф.

Башкирский государственный университет

Нозематоз - это группа заболеваний пчел, вызываемые микроспоридиями рода *Nosema*. Это одноклеточные эукариотические паразиты, развитие и завершение жизненного цикла которых зависит от клетки-хозяина (Wittner, 1999).

Классификация микроспоридий всегда вызывала много споров. В настоящее время они включены в царство грибов. Они способны заражать широкий круг хозяев, от протистов до человека, хотя большинство из них являются паразитами беспозвоночных (Becnel, 1999).

Среди микроспоридий описаны два вида рода *Nosema*, паразитирующие на медоносных пчелах, - *Nosema apis* и *Nosema ceranae*, вызывающие заболевание нозематоз (Zander, 1909).

Споры ноземы могут быть обнаружены и количественно определены внутри медоносных пчел с помощью световой микроскопии. Однако из-за морфологического сходства между видами возбудителей для уверенной идентификации видов требуется молекулярный анализ. Из более чем 200 исследованных соединений наиболее эффективной и единственной зарегистрированной формой пероральной терапии *Nosema apis* является антибиотик фумагиллин, продаваемый как Fumagilin-B. Фумагиллин препятствует репликации ДНК во время внутриклеточного развития стадии без спор и поэтому не влияет на жизнеспособные споры, которые важны для передачи паразита. Зараженное пасечное оборудование можно стерилизовать путем фумигации с использованием уксусной кислоты или термической обработки, подвергая рамки воздействию температуры 49°C в течение не менее 24 часов. Эти методы считаются жизнеспособными вариантами борьбы с *Nosema apis*, поскольку они действуют на стадии спор (Fenoу, 2009).

Кроме фумагиллина, на рынке не существует ветеринарного препарата для применения в качестве средства против нозематоза. Поэтому в последние годы исследования были направлены на поиск новых соединений, предпочтительно растительного происхождения, с противомикробными и противогрибковыми свойствами, которые могут быть использованы в органическом животноводстве.

Еще одно соединение растительного происхождения - ресвератрол. Это фитоалексин, который естественным образом вырабатывается в растениях в ответ на инфекцию, повреждения, ультрафиолетовое излучение, холод, жару, абиотический стресс и т.д. Несколько исследований в области здоровья человека предлагают его в качестве активного ингредиента для лечения некоторых патологий (Jung, 2005). Это компонент, присутствующий в рационе человека, и, благодаря отсутствию токсичности, он присутствует во многих продуктах питания в очень разных концентрациях, а также используется в качестве пищевой добавки. Ресвератрол успешно используется против других микроспоридий, поражающих человека и млекопитающих.

Другая группа веществ, которые могут быть использованы для борьбы с нозематозом, - это основные составляющие эфирных масел. К ним относится тимол. Это фенольное соединение с характерным запахом, которое встречается в природе как составная часть многих эфирных масел, таких как тимьян и орегано. Он обладает бактерицидными, пестицидными и фунгицидными свойствами (Chiesa, 1991).

Литература

1. Becnel J.J., Andreadis, T.G. Microsporidia in insects. In: Murray, W., Louis, M.W. The Microsporidia and Microsporidiosis. American Society of Microbiology. 1999; 447–501.
2. Chiesa F., D'Agaro M. Effective control of varroaosis using powdered thymol. Apidologie, 1991; 22:135– 145.

3. Fenoy S., Rueda C., Higes M., Martín-Hernández R., del Aguila C. High-level resistance of *Nosema ceranae*, a parasite of the honeybee, to temperature and desiccation. *Applied of Environmental Microbiology*. 2009; 75(21):6886-9.
4. Jung H.J., Hwang I.A., Sung W.S., Kang H., Kang B.S., Seu Y.B., Lee D.G. Fungicidal effect of resveratrol on human infectious fungi. *Archives of Pharmacal Research*. 2005; 28(5): 557-60.
5. Wittner M. y Weiss L.M. *The Microsporidia and Microsporidiosis*. ASM Press, Washington, DC, USA. 1999; 110.
6. Zander E. Tierische Parasiten als Krankheitserreger bei der Biene. *Leipziger Bienenztg* 1909; 24: 147– 150, 164–166.

Влияние галоперидола на родительское поведение самок крыс с абсансной эпилепсией
Буянова А.А., Шамсутдинова Дилара А., Шамсутдинова Динара А., Садртдинова И.И.
Башкирский государственный университет

Материнская депрессия – одна из самых актуальных проблем современного общества. Доказано, что самки крыс линии WAG/Rij обладают повышенным уровнем тревожности и служат прекрасным объектом при моделировании материнской депрессии (Саркисова, 2016).

Целью исследования стала оценка материнского поведения и уровня тревожности у самок крыс линии WAG/Rij после введения галоперидола.

Работа была проведена на половозрелых самках крыс линии WAG/Rij ($m=200-220$ гр.). Контрольная и опытная группы включали по 6 самок. Опытной группе с 1-го по 3-й день эксперимента вводили внутримышечно галоперидол ($0,1$ мг/кг) (Добрякова и др., 2011 и Дубынин и др., 2016). Материнскую реакцию и уровень тревожности оценивали в тесте «открытое поле». Установка представляет собой круглую арену с диаметром 80 см, окруженную стенкой, поле арены разделено на квадраты, в центре установки расположена чашка Петри. Эксперимент проводили на 6-8-й дни после родов (день родов – 0-й), в ходе каждого дня тестирования самку три раза помещали на край поля, т.е. схема опыта содержит три этапа. Первый этап (красный свет): в течение 2 мин фиксировали параметры исследовательской активности животного (пробег, количество стоек, отходов от стенки поля, частота и продолжительность груминга и замираний). После этого самку отсаживали на 1 мин, затем повторно помещали в «открытое поле». Второй этап (красный свет): в чашку Петри помещали детенышей и в течение 2 мин оценивали родительскую реакцию в норме (латентный период (ЛП) первого подхода и переноса, общее количество подходов и переносов). Затем самку отсаживали еще на 1 мин, после этого в течение 2 мин проводили третий этап (яркий свет): оценивали родительскую реакцию при стрессе (ЛП первого подхода и переноса, общее количество подходов и переносов). Полученные данные обрабатывали в программе «STATISTICA v.7.0» (Stat Soft Inc., США). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования показали, что в условиях красного света после инъекции галоперидола у самок крыс линии WAG/Rij увеличилось число подходов к 8-му дню опыта с $2,25 \pm 0,29$ по $4,15 \pm 0,13$, а у контрольной группы данный показатель увеличился незначительно - с $1,67 \pm 0,33$ по $2,05 \pm 0,12$ ($p < 0,05$). После инъекции галоперидола при ярком освещении значения показателей материнского поведения снизились, но при красном свете с 6-го по 8-й день тестирования мы наблюдали достоверное различие по количеству переносов в сравнении с данными без препарата: с $2,52 \pm 0,19$ по $1,51 \pm 0,06$ у экспериментальной группы и с $0,21 \pm 0,03$ по $0,15 \pm 0,02$ у контрольной группы ($p < 0,05$), т.е. происходило улучшение родительской реакции, связанное с активацией дофаминергических синапсов. Кроме того, после введения галоперидола наблюдали снижение количества замираний (потенциальных приступов эпилепсии) с $1,25 \pm 0,37$ до $0,15 \pm 0,24$ и увеличение продолжительности груминга, что свидетельствует о стабильном эмоциональном состоянии самки ($p < 0,05$).

Литература:

1. Добрякова Ю.В., Танаева К.К., Дубынин В.А., Каменский А.А. Роль дофаминовой и опиоидной систем в регуляции материнского поведения // Журн. высш. нерв. деят. — 2011. — Т. 42. — № 1. — С. 3-17.
2. Дубынин В.А., Танаева К.К. Материнская депрессия: когда счастье не в радость // Наука из первых рук: Попастъ в десятку. — 2014. — Т. 55. — № 1. — С. 51-59.
3. Саркисова К.Ю., Танаева К.К., Добрякова Ю.В. Условная реакция предпочтения места, ассоциированного с детенышами, и материнская забота у депрессивных крыс линии WAG/Rij. // Журн. высш. нерв. деят. — 2016. — Т. 66. — № 2. — С. 229-241.

Изучение плотности астроцитов коры головного мозга белых крыс на фоне введения наночастиц магния

Габбасова Г.Х., Давлетбаева А.Р., Федорова А.М.
Башкирский государственный университет

Появляется все больше доказательств и исследований, которые показывают токсичность наночастиц, поступающих в организм с окружающей среды. Особое беспокойство вызывает то, что, помимо сердечно-сосудистой и легочной систем, восприимчивой мишенью для воздействия наночастиц, может быть нервная система (Алфимов, 2007). Эпидемиологические исследования в настоящее время связывают воздействие загрязненного воздуха, включая НЧ, с повышенным уровнем инсульта или нейродегенеративных заболеваний, включая болезнь Альцгеймера, а также с деменцией или когнитивными нарушениями, которые вместе составляют фенотип, подобный болезни Альцгеймера (Сыч и соавторы, 2012). Широкое распространение наноматериалов в медицине при отсутствии определенных знаний по воздействию и накоплению наночастиц на организм человека и животных послужили поводом для проведения новых исследований.

В нескольких исследованиях было высказано предположение о цитотоксическом воздействии наночастиц, снижающих жизнеспособность клеток, что приводит к потенциальным патофизиологическим состояниям, лежащего в основе механизма гибели клеток, у животных и у человека.

Целью исследования явилось оценить экспрессию GFAP-иммунопозитивных астроцитов в первичной соматосенсорной коре головного мозга крыс на фоне перорального введения наночастиц магния в дозе 50 мг/кг.

В качестве экспериментальных животных использовались половозрелые крысы линии Вистар, массой 210-350 грамм. Согласно правилам, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей, экспериментальные животные содержались в вентилируемом помещении при температуре 20°C, на стандартном пищевом рационе вивария, при свободном доступе к воде и пищи, при световом режиме 12/12. Отобранные животные были взвешены и случайным образом разделены на 2 группы: 1-я группа (12 крыс) – интактные животные (контроль); 2-я группа (12 крыс) – ежедневное пероральное введение наночастиц магния (50 мг/кг массы тела, 2 мл) в течение 28 дней.

Образцы головного мозга крыс фиксировали в нейтральном 10 % формалине по Лилли, обезживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин. Готовили серию фронтальных срезов толщиной 10-12 мкм. Всего было обработано 212 гистологических образцов мозга крыс контрольной группы и опытных групп. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином.

На парафиновых срезах при помощи иммуногистохимического метода выявляли содержание высокоспецифичного маркера астроцитарной глии – глиального фибриллярного кислого белка (GFAP) по протоколу изготовителя. Окраску срезов проводили с помощью иммуногистостейнера Leica Microsystems BOND TM (Германия). Использовали мышинные моноклональные антитела (Santa Cruz Biotechnology) и универсальную систему вторичной детекции для визуализации (Novocastra TM). После проведения иммуногистохимической реакции ядра клеток докрашивали гематоксилином и заключали в бальзам.

Для оценки плотности окрашивания ИГХ+ маркеров GFAP измеряли общую площадь ИГХ+ клеток относительно общей площади исследуемой области в 20 полях зрения при увеличении x400, используя возможности программного обеспечения «ImageJ» и функций программы: «Color threshold» и «Analyze particles».

Одним из маркеров повреждающего действия неблагоприятных факторов и развития патологических процессов в тканях мозга является активация астроглии. Реактивные изменения астроцитов проявляются в увеличении их линейных размеров, активации синтеза ряда белков, в том числе и GFAP.

Комплекс подобранных методик гистологической окраски и микроморфометрические методы позволили оценить особенности астроцитов гиппокампа головного мозга крыс контрольной и опытных групп.

Была проведена оценка интенсивности окрашивания маркера экспрессии астроцитов, кислого фибриллярного белка GFAP, в первичной соматосенсорной коре крыс контрольной и опытной групп. Количественная оценка относительной плотности GFAP позитивных клеток в соматосенсорной коре опытной и контрольной групп животных, выявило, что в опытной группе на фоне введения наночастиц магния в дозе 50 мг/кг выявлен рост интенсивности окрашивания астроцитов наружного пирамидного, наружного пирамидного, внутреннего зернистого и внутреннего пирамидного слоев.

Таким образом, было выявлено увеличение числа GFAP – позитивных клеток в различных зонах первичной соматосенсорной коры, что свидетельствует об увеличении числа реактивных астроцитов в указанных областях головного мозга крыс опытных групп при воздействии наночастиц магния в дозе 50 мг/кг.

Литература

1. Алфимов М. В., Разумов В. Ф., Доклад рабочей группы «Индустрия наносистем и наноматериалов», Российские нанотехнологии, Т.2, 2007г. 24 с.
2. Сыч, В.Ф., Дрождина, Е.П., Санжапова А. Ф. Введение в нанобиологию и нанобиотехнологии/ В. Ф. Сыч, Е. П. Дрождина, А. Ф. Санжапова// 2012. —200–203с.

Морфологические показатели слоев первичной соматосенсорной коры на фоне перорального введения наночастиц магния

Габбасова Г.Х., Федорова А.М.

Башкирский государственный университет

Современные достижения, достигнутые с помощью нанотехнологий, обещают произвести революцию во многих аспектах современной жизни, однако эти достижения требуют должной осмотрительности, чтобы гарантировать, что они не сопровождаются неблагоприятными последствиями для здоровья человека или окружающей среды. Многие новые наноматериалы (имеющие размер <100нм) могут быть очень мобильными при попадании в окружающую среду, а также очень реактивными, что вызывает беспокойство по поводу возможных неблагоприятных воздействий, включая, возможность нейротоксичности. Многие исследования привели убедительные доказательства по поводу нейротоксичности, в частности о возможности попадания вдыхаемых наночастиц на поверхность слизистой оболочки носового эпителия, которые могут интраназально попадать в нейроны обонятельных рецепторов и транспортироваться аксоплазматическим транспортом в обонятельные луковицы, преодолевая гематоэнцефалический барьер. Есть опасения, что из обонятельной луковицы наноматериалы могут проникнуть глубже в мозг и воздействовать на другие структуры мозга. Конечно, люди будут подвергаться воздействию не только искусственных наноматериалов, но такое воздействие будет происходить в сложной смеси материалов окружающей среды, некоторые из которых представляют собой случайно образующиеся частицы того же диапазона вдыхаемых размеров, что и искусственные наноматериалы (Гусев, 2007; Yan, 2011).

Целью исследования явилось изучить морфологические особенности слоев первичной соматосенсорной коры и нейронов, формирующих слои первичной соматосенсорной коры головного мозга крыс на фоне перорального введения наночастиц магния в дозе 50 мг/кг;

В качестве экспериментальных животных использовались половозрелые крысы линии Вистар, массой 210-350 грамм. Согласно правилам, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей, экспериментальные животные содержались в вентилируемом помещении при температуре 20°C, на стандартном пищевом рационе вивария, при свободном доступе к воде и пищи, при световом режиме 12/12. Отобранные животные были взвешены и случайным образом разделены на 2 группы: 1-я группа (12 крыс) – интактные животные (контроль); 2-я группа (12 крыс) – ежедневное пероральное введение наночастиц магния (50 мг/кг массы тела, 2 мл) в течение 28 дней.

Образцы головного мозга крыс фиксировали в нейтральном 10 % формалине по Лилли, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин. Готовили серию фронтальных срезов толщиной 10-12 мкм. Всего было обработано 212 гистологических образцов мозга крыс контрольной группы и опытных групп. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином.

Микроскопирование полученных гистологических препаратов проводилось при помощи светооптического микроскопа Микмед-5 (ЛОМО, Россия). Фотографирование проводилось при помощи камеры Levenchuk C510 (5M pixels). Исследования структурных изменений головного мозга белых крыс проводили в поле зрения микроскопа Микмед-5 (ЛОМО, Россия) при увеличении в 100 (окуляр 10, объектив 10) и 400 раз (окуляр 10, объектив 40).

Результаты гистологического исследования первичной соматосенсорной коры показали, что первичная соматосенсорная кора крыс контрольной и опытной групп устроены традиционным способом, в ней обнаружены, 6 слоев:

1) молекулярный слой (М) – сформирован немногочисленными нейронами, отмечаются глиальные элементы в виде астроцитов и олигодендроцитов, слой пронизан сосудами, эндотелиальные клетки которых хорошо прослеживаются на световом микроскопе при разных увеличениях;

2) наружный зернистый слой (НЗ) – слой образован многочленными клетками, которые располагаются плотно друг другу; клетки имеют округлую форму, цитоплазма которых сильно хромофильна; также между нейронами округлой формы отмечается наличие мелких и средних пирамидных клеток;

3) наружный пирамидный слой (НП) – образован пирамидными клетками, мелких и средних размеров; по сравнению с зернистым слоем клетки располагаются менее плотно, между клетками отмечается наличие просветов; у пирамидных клеток при большом увеличении можно увидеть начальный сегмент апикального дендрита;

4) внутренний зернистый слой (ВЗ) – по своей структуре и типам клеток напоминает наружный зернистый слой, только более узкий, образован 2-4 рядами клеток;

5) внутренний пирамидный слой (ВП) – самый «светлый» слой, образован крупными пирамидными клетками, клетки располагаются рыхло, местами клетки образуют группировки;

6) полиморфный слой (П) – образован нейронами разных форм, клетки располагаются цепочками, параллельно друг другу.

Исследование морфологических особенностей слоев первичной соматосенсорной коры и нейронов, формирующих слои первичной соматосенсорной коры головного мозга крыс на фоне перорального введения наночастиц магния в дозе 50 мг/кг; показало, что слои первичной соматосенсорной коры имеют шестислойное строение, отмечается наличие более выраженных просветов наружного пирамидного слоя в опытной группе, у контрольной группы в нейронах зернистого слоя в цитоплазме определяется умеренная хромофобность, перикарионы клеток опытной группы более светлые. Изучение толщины слоев коры головного мозга на фоне введения наночастиц магния показало, что ширина наружного зернистого слоя составляет $228,63 \pm 30,41$ мкм у крыс опытной группы, что достоверно выше по сравнению с контрольной группой. Также достоверные различия были обнаружены при сравнении толщины наружного и внутреннего пирамидного слоев, у контрольной группы толщина слоев достоверно меньше.

Таким образом, пероральное введение раствора наночастиц магния в дозе 50 мг/кг выявила различия в морфологическом строении нейронов коры головного мозга белых крыс контрольной и опытной групп, возможно, что в такой дозировке наночастицы магния способны накапливаться в организме как нейротоксичный агент, что может вызывать отсроченные во времени структурные изменения в строении головного мозга.

Литература

1. Гусев, А. И. Наноматериалы, наноструктуры, нанотехнологии / А. И. Гусев. – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2007. – 416 с.

2. Yan Z. Fabrication and formation mechanism of hollow MgO particles by pulsed excimer laser ablation of Mg in liquid / Z. Yan, R. Bao, C. M. Busta [et al.] // Nanotechnology. – 2011. – Vol. 22, № 26. – 265610.

Роль гена MLH1 в развитии рака желудка

Гареева Э.И.

Башкирский государственный университет

В России рак желудка (РЖ) является одной из самых актуальных проблем онкологии. Около 40 тысяч россиян ежегодно умирают от этой патологии. За год в нашей стране регистрируется 48,8 тысяч новых случаев этого заболевания, что составляет около 11% от всех злокачественных опухолей. РЖ воспринимается как одна из основных проблем общественного здравоохранения. Это гетерогенное заболевание с различными генетическими и молекулярными изменениями.

РЖ, как правило, возникает спорадически при участии внешних факторов риска, таких как инфекция *Helicobacter pylori* (HP-инфекция), особенности питания и образа жизни. Однако около 5–10 % пациентов, страдающих РЖ, имеют отягощенный онкологический семейный анамнез. Это, в свою очередь, подразумевает генетическую предрасположенность к развитию таких форм РЖ, как перстневидно-клеточный рак и низкодифференцированная аденокарцинома (Аалтонен Л.А., Балагер Ф., Линдор Н., Морейра Л., Шапель А, Хампель Х, 2018). К молекулярным механизмам, лежащим в основе развития рака желудка с вероятностью 70-83%, можно отнести мутации, наследуемые в ряде генов. Одним из них является ген MutL homolog (MLH1) и его полиморфные варианты. Мутации гена MLH1 приводят к уменьшению или полному подавлению синтеза белка MLH1 (Бьюкенен Д.Д., Уолш М.Д., Кленденнинг М., Меткалф А.М., Тан Ю.Й., Фергюсон К., 2015). В результате накапливаются ошибки спаривания при репликации ДНК, нарушается работа других генов, участвующих в важных клеточных процессах, таких как контроль роста и деления клеток. Последствием таких нарушений может стать развитие различных форм рака, в том числе и рака желудка (Allen JI, Axilbund JE, Boland CR, Burke CA, Burt RW, Giardiello FM, 2015).

Выборку больных составили 257 человек (из которых 120 имели диагноз диффузный тип РЖ, 95 – интестинальный тип РЖ) различной этнической принадлежности. В качестве контроля была проанализирована группа здоровых индивидов без признаков патологий ЖКТ, состоящая из 242 человек различной этнической принадлежности.

У больных РЖ и индивидов контрольной группы из Республики Башкортостан проведен анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs1800734 гена MLH1. Распределение частот генотипов по данному локусу соответствовало равновесию Харди-Вайнберга. Нами были выбраны наиболее многочисленные этнические группы Республики Башкортостан: русские, татары и башкиры. Группу больных составили 257 человек различной этнической принадлежности с установленным диагнозом «рак желудка» (111 русских, 116 татар и 293 башкир). В качестве контроля исследована группа здоровых доноров без каких-либо признаков заболеваний ЖКТ, состоящая из 242 человек различной этнической принадлежности (116 русских, 92 татарина и 20 башкир). Распределение по половому признаку среди больных было следующим: мужчин – 143, женщин – 114, среди индивидов контрольной группы: мужчин – 170, женщин – 72. Кроме того, все испытуемые прошли анкетирование, учитывающее национальную принадлежность до трех поколений, год рождения, наличие у близких родственников отягощенности по онкологическим заболеваниям.

В результате исследования было проведено сравнение распределения частот аллелей и генотипов полиморфного ДНК-локуса для нахождения маркеров повышенного или пониженного риска развития РЖ между группами больных с установленным диагнозом «рак желудка» и здоровых индивидов соответствующей этнической и гендерной принадлежности.

Анализ исследования полиморфного варианта rs1800734 гена MLH1 выявил, что в группе больных и в группе здоровых доноров среди мужчин в большей степени распространен гомозиготный генотип rs1800734 *CC. Его частота равна 74,83% среди больных РЖ, и 69,41% среди индивидов, не страдающих патологиями ЖКТ. Среди женщин в большей степени также распространен гомозиготный генотип rs1800734 *CC. Его частота

равна 64,04 среди больных РЖ, и 62,50% среди индивидов, не страдающих патологиями ЖКТ. Вторым по частоте встречаемости оказался генотип rs1800734 *ТС, который среди больных мужчин встречается с частотой 18,18%, а среди контрольной группы составляет 23,53%. Среди больных женщин генотип rs1800734*ТС встречается с частотой 29,82%, а среди контрольной группы составляет 20,83%. Гомозиготный генотип rs1800734*ТТ был обнаружен у 6,99% пациентов и у 7,06% здоровых индивидов. При изучении полиморфного варианта rs1800734 гена MLH1 было обнаружено, что среди группы больных раком желудка и здоровых доноров в зависимости от гендерной принадлежности наиболее распространенным является аллель С, выявленный в среднем на 90,45% хромосом. Аллель Т был выявлен в обеих выборках в среднем на 9,55%.

В результате проведенного анализа роли полиморфного варианта rs1800734 гена MLH1 были обнаружены ассоциации данного полиморфного ДНК-локуса для жителей Республики Башкортостан.

Исследование выполнено при поддержке «Государственное задание Министерства науки и высшего образования РФ №075-03-2021-193/5»

Литература

1. Аалтонен Л.А., Балагер Ф., Линдор Н., Морейра Л., Шапель А, Хампель Х, 2018; и др. Консорциум EPICOLON. Выявление синдрома Линча у пациентов с колоректальным раком. JAMA 2018; 308: 1555–1565.
2. Бьюкенен Д.Д., Тан Ю.Й., Уолш М.Д., Кленденнинг М., Меткалф А.М., Фергюсон К., 2015; № 3. С. 123-456.
3. AllenJI, Axilbund JE, Boland CR, Burke CA, Giardiello FM, и др. Рекомендации по генетической оценке и лечению синдрома Линча: консенсусное заявление целевой группы США по колоректальному раку. Диск прямой кишки. 2015; 57: 1025–48.

Использование биопрепарата Фитоспорин при возделывании яровой пшеницы

Грабовенко М.А., Рахматуллина С.Р.

Башкирский государственный университет

Пшеница - основная зерновая культура и дальнейшее увеличение объема производства ее зерна является одним из условий продовольственной безопасности и укрепления экономики страны. Республика Башкортостан - один из регионов Российской Федерации по производству зерна пшеницы. Вследствие поражения болезнями вегетативных органов растений могут происходить потери урожая (до 35-40%) (Буренок, Кукшенева, 2009). В настоящее время для защиты растений от листовых болезней рекомендуется целый набор химических фунгицидов. Однако их применение во второй половине вегетации растений небезопасно, особенно при производстве зерна пшеницы для продовольственных целей. Интегрированная система защиты растений предполагает постепенное снижение применения химических средств и замену их на биологические препараты (Гумеров, 2008).

Одним из новых биологических препаратов является фитоспорин, созданный на основе бактерии *Bacillus subtilis* 26Д. Эффективность данного препарата достаточно подробно изучена для защиты растений пшеницы от корневых гнилей и его рекомендуют применять путем обработки семян. В тоже время недостаточно изучено влияние данного препарата на листовые болезни. Выявление особенностей процесса формирования урожая яровой пшеницы и определение эффективности применения биопрепарата фитоспорин в период вегетации актуально (Давлетшин, 2004).

Фитоспорин-М промышленный бактериальный препарат с широким спектром и длительным действием. Предназначен для защиты озимой пшеницы и ржи, яровой пшеницы и ячменя, зернобобовых, картофеля, столовой сахарной свеклы, подсолнечника, риса, хлопчатника, табака, овощных, плодово-ягодных и декоративных культур от комплекса грибных и бактериальных болезней. Препарат пролонгированного действия и длительного хранения, защищающий растения в течение всего периода вегетации и при хранении урожая. Он отличается высокой биологической эффективностью против корневых гнилей, листовых грибных болезней на зерновых, зернобобовых культурах (65-75%), фитофтороза и ризоктониоза на картофеле (60%), парши и гнили на плодовых культурах (75%), гоммоза на хлопчатнике (90%). Действие препарата близко по эффективности к химическим контактным фунгицидам при полной экологической безопасности (Зинченко, 2002).

Фитоспорин-М выпускается в виде: порошка (титр не менее 2 млрд. спор и клеток/г); пасты (титр не менее 100 млн. клеток/г); водной суспензии (титр не менее 1 млрд. клеток/мл) (Кузьмин, Корнев, Шевченко, 2001). Прибавка урожая и чистая прибыль от применения Фитоспорина-М достигает на зерновых до 4,0 ц/га, на зернобобовых 3,6 ц/га, на картофеле 40 ц/га, на томатах, огурцах 80-90 ц/га. Химические фунгициды из-за их отравляющего действия запрещены для использования перед уборкой и при уборке урожая. Из-за того, что период уборки урожая часто бывает длительный (от 20 до 100 дней и более, например, для томатов и земляники) потери урожая из-за грибных болезней достигают 20-40%. Фитоспорин-М не имеет срока ожидания, то есть плоды можно употреблять в пищу в день обработки растений Фитоспорином-М. Фитоспорин-М биофунгицид широкого спектра действия для борьбы с болезнями сельскохозяйственных культур.

Преимущества: высокая биологическая, фунгицидная, бактерицидная активность против грибных и бактериальных заболеваний; высокая росторегулирующая активность; действует сразу после обработки семян и вегетирующих растений, имеет длительное время защитного действия; совместим с химическими пестицидами; способен уменьшить токсическое действие химических фунгицидов и гербицидов на культурные растения; повышает урожайность сельскохозяйственных культур до 30%; увеличивает сохранность продукции в 2-3 раза при ее обработке перед закладкой на хранение; не вызывает резистентности у растений; не требует периода ожидания; экологичен, безвреден для человека, животных,

птиц, насекомых; используется в течение всего периода вегетации растений и хранения продукции.

Следует отметить, что использование в технологии возделывания яровой пшеницы препаратов производства НВП «БашИнком» способствует формированию качественного зерна и положительно влияет на биометрические показатели растений (Шаяхметов, Ямалеев, Гарипова, 2001).

Литература

1. Буренок В.П., Кукшенева Т.П. Пестициды для защиты яровой пшеницы // Достижения науки и техники АПК. 2009. № 9. С. 37-39.
2. Гумеров И.М. Эффективность фунгицидов и биопрепаратов в защите яровой пшеницы от листовых болезней // Достижения науки и техники АПК. 2008. № 2. С. 36-37.
3. Давлетшин Ф.М. Автореферат диссертации кандидата с.х. наук. Формирование урожая яровой пшеницы при применении биологического препарата фитоспорин для защиты растений от болезней корневой системы. Уфа. 2004. С. 20.
4. Зинченко В.А. О потенциальных скрытых потерях урожая при применении гербицидов на зерновых культурах // Агро XXI. М. 2002. № 2. С. 2-3.
5. Кузьмин Н.А., Корнев Г.В., Шевченко В.Е. Теоретические и практические основы растениеводства. Воронеж, 2001. 200 с.
6. Шаяхметов И.Т., Ямалеев А.М., Гарипова Г.Н. и др. Комплексная защита зерновых культур от болезней, вредителей и сорняков в Республике Башкортостан / МСХ и П РБ - БНИИСХ РАСХН. Уфа. 2001. 65 с.

Анализ распространения полиморфного варианта rs11385942 гена LZTFL1 в популяциях аварцев, багаулинцев, лезгин и чамалинцев

Екомасова Н.В.^{1,2}, Халикова А.А.¹, Джаубермезов М.А.^{1,2}, Суфьянова З.Р.¹, Хуснутдинова Э.К.^{1,2}

¹ Башкирский государственный университет

² ИБГ УФИЦ РАН

Подавляющее большинство пациентов, инфицированных коронавирусом SARS-COV-2, переносят заболевание в бессимптомной, либо легкой форме, в то время как у небольшой части заболевших наблюдаются выраженные нарушения дыхания, острый респираторный синдром и полиорганная недостаточность, которая часто приводит к летальному исходу (Zhang X., et al., 2020). Тяжесть заболевания, зависит от многих факторов, в том числе и от генетических. Был обнаружен участок 3 хромосомы 3p21.31, связанный с двукратным увеличением риска дыхательной недостаточности (Ellinghaus, D., et al., 2020; D. Downes, D.J., et al., 2021). Ген LZTFL1 кодирует белок, участвующий в функционировании, выстилающих дыхательные пути, первичных ресничек, которые представляют собой субклеточные органеллы на основе микротрубочек, действующие как антенны для внеклеточных сигналов. (Seo S., et al., 2011). Частота аллеля риска (инсерция-делеция rs11385942 GA) была выше среди пациентов, подключенных к искусственной вентиляции легких, что указывает на то, что этот аллель обуславливает предрасположенность к наиболее тяжелым формам COVID-19. Данная ассоциация гена LZTFL1 встречается у 60% людей южноазиатского происхождения и лишь у 15% европейцев, чем, отчасти, можно объяснить, почему некоторые этнические группы более подвержены тяжелому течению заболевания, а другие нет (Nafilyan V., et al., 2021).

В результате проведенного нами исследования было изучено распространение полиморфного варианта rs11385942 гена LZTFL1 в популяциях Дагестана: аварцев, багаулинцев, лезгин и чамалинцев. Были подсчитаны частоты аллелей и генотипов, а также проведен сравнительный анализ распространения изучаемого полиморфного варианта между популяциями аварцев, багаулинцев, лезгин, чамалинцев и популяциями мира.

Выявлено, что генотип GA/GA полиморфного варианта rs11385942 гена LZTFL1 в популяции аварцев не встречается, генотип G/G встречается с частотой 96,4%, генотип G/GA с частотой 3,6%. В популяции багаулинцев генотип GA/GA не встречается, генотип G/G встречается с частотой 93,9%, генотип G/GA с частотой 6,1%. Генотип GA/GA полиморфного варианта rs11385942 гена LZTFL1 в популяции лезгин встречается с частотой 2,6%, генотип G/G с частотой 81,6%, генотип G/GA с частотой 15,8%. В популяции чамалинцев выявлено, что генотип GA/GA не встречается, генотип G/G встречается с частотой 94,4%, генотип G/GA с частотой 5,6%.

В результате сравнительного анализа, было обнаружено отсутствие статистически значимых различий по данным распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs11385942 гена LZTFL1 между популяциями аварцев, багаулинцев, лезгин, чамалинцев и популяциями Африки, Америки и Европы. Показано наличие статистически значимых различий по данным распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs11385942 гена LZTFL1 между популяциями аварцев, багаулинцев, лезгин, чамалинцев и смешанной выборки образцов популяций Южной Азии.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-74-00104.

Литература

1. D. Downes, D.J., Cross, A.R., Hua, P. et al. Identification of LZTFL1 as a candidate effector gene at a COVID-19 risk locus. *Nat Genet* 53, 1606–1615 (2021).
2. Ellinghaus, D., Degenhardt, F., Bujanda, L., et al. Genome wide association study of severe Covid-19 with respiratory failure, *N. Engl. J. Med.*, 2020.

3. Nafilyan, V. et al. Ethnic differences in COVID-19 mortality during the first two waves of the Coronavirus Pandemic: a nationwide cohort study of 29 million adults in England. *Eur. J. Epidemiol.* 36, 605–617 (2021).
4. Seo S, Zhang Q, Bugge K, et al. A novel protein LZTFL1 regulates ciliary trafficking of the BBSome and Smoothed. *PLoS Genet*, 2011.
5. Zhang X, Tan Y, Ling Y, et al. Viral and host factors related to the clinical outcome of COVID-19. *Nature* 2020; 583:437-440.

Изучение количественного соотношения клеток инфильтрирующих соединительнотканную пластинку десны пациентов при гингивите и пародонтите

Зайцева Е.А., Мусин И.Ф.

Башкирский государственный университет

Известно, что воспалительные заболевания пародонта, такие как гингивит и пародонтит, представляют серьезную медико-социальную проблему (Драпкина, 2014). Заболевания тканей пародонта с характерной для них этиологической многофакторностью и четко выраженной этапностью (фазностью) развития (от легкого гингивита до тяжелого пародонтита) служат наглядной клинической иллюстрацией переходных состояний от полного здоровья пародонта до утраты зубов вследствие разрушения основных составляющих пародонтального комплекса. Клиническая картина и хроническое течение гингивита, и хронического генерализованного пародонтита на ранних стадиях заболевания характеризуется маломанифестным и латентным течением, что затрудняет своевременную диагностику и, следовательно, отодвигает начало адекватных лечебных и реабилитационных мероприятий. Знание специфики деструктивных процессов и целенаправленное обследование тканей пародонта позволяют уточнить не только диагноз, но и тяжесть протекающего процесса. Количественная характеристика отдельных видов клеток, например, как лимфоциты и фибробласты, может играть большую роль в уточнении диагноза заболевания тканей пародонта для принятия своевременных лечебных и реабилитационных мероприятий. Цель нашего исследования - изучить количественное соотношение клеток, инфильтрирующих соединительнотканную пластинку десны пациентов при гингивите и пародонтите.

Исследовано 10 биоптатов мягких тканей десны человека, взятых у лиц мужского и женского пола в возрасте от 23 до 60 лет (с их добровольного согласия) с клиническим диагнозом - гингивит и пародонтит различных степеней тяжести. Ткани фиксировали в 10% формалине по Лилли, заливали в парафин, получали гистологические срезы, окрашивали их гематоксилином и эозином. Окрашенные срезы изучали и фотографировали при помощи микроскопа AXIO IMAGER-Z1 фирмы «CARL ZEISS» (Германия). Количество клеток в поле зрения считали при общем увеличении микроскопа X400. Математико-статистическая обработка результатов осуществлялась при помощи программы «Statistica» v.6.

Результаты наших исследований показали, что количественное соотношение лимфоцитов и фибробластов в тканях десны в двух группах пациентов с разной клинической картиной (пародонтит и гингивит) противоположно меняется. При гингивите лимфоцитов было достоверно больше, чем при пародонтите ($18,5 \pm 4,1$ и $2,9 \pm 0,7$ соответственно, при $p < 0,05$), а при пародонтите, наоборот, фибробластов было достоверно больше, чем лимфоцитов ($19,6 \pm 4,4$ и $8 \pm 1,1$ при $p < 0,05$). Морфологические изменения структуры тканей десны пациентов, выявленные нами при гингивите и пародонтите, в большей степени характеризуются как признаки хронического воспаления. Но хроническое воспаление обычно имеет несколько этапов в зависимости от степени развития процесса, и от этого зависит окончательный диагноз заболевания. Различия между количественным соотношением макрофагов и нейтрофильных лейкоцитов в тканях десны в двух группах пациентов с разной клинической картиной (пародонтит и гингивит) были недостоверны. Поэтому для формулировки выводов мы принимали во внимание только количественное соотношение лимфоцитов и фибробластов.

Результаты исследования показали, что ткани десны человека при гингивите характеризуются наличием клеточных инфильтратов с количественным преобладанием лимфоцитов, что обычно является одним из главных признаков иммунного воспаления, вне зависимости от того первичное оно или вторичное. Известно, что специфический иммунный ответ организма определяется активностью взаимодействия иммунокомпетентных клеток — макрофагов, антиген-специфических клонов эффекторных и регуляторов Т- и В-лимфоцитов, дифференцировкой лимфоцитов в плазматические клетки, накоплением

антителопродуцирующих клеток и антител (Цепов, 2014). Реакция активации лимфоцитов в виде увеличения их количества в крови и в тканях указывает на силу иммунного ответа, на способность лимфоцитов реагировать и поглощать чужеродный антиген. При иммунном воспалении макрофагами, фибробластами и активированными Т-лимфоцитами синтезируется обычно большое количество цитокинов трансформирующего фактора роста β и тромбоцитарного фактора роста, которые усиливают митотическую активность фибробластических клеток и стимулирует их пролиферацию, что приводит в дальнейшем к развитию фибропластических процессов – фиброзу или рубцеванию тканей (Mark, 2014). Проллиферация фибробластических клеток и накопление коллагена при пародонтите может быть обусловлено также воздействием иммунных комплексов в тканях пародонта. Полагают, что при хроническом воспалении, развивающемся в глубоких тканях пародонта, значительная часть фибробластов все время находится в состоянии активации, скорее всего обусловленной действием цитокинов, экспрессируемых иммунокомпетентными клетками. Этим фибробластам свойственна повышенная экспрессия генов, кодирующих белки межклеточного вещества. Показано, что при этом некоторые фибробласты вырабатывают в 2 – 3 раза больше коллагена, чем остальные. Поэтому при пародонтите, естественно, должно выявляться в тканях большое количество фибробластических клеток, что и подтвердили результаты наших исследований.

Таким образом, ткани десны человека при пародонтите характеризуются наличием клеточных инфильтратов с количественным преобладанием фибробластов, что является признаком склероза тканей пародонта. Диагностическое исследование структуры тканей десны пациентов, определение количественного соотношения между лимфоцитами и фибробластами может помочь сделать своевременную диагностику и определить комплекс адекватных лечебных и реабилитационных мероприятий.

Литература

1. Драпкина О.М., Драпкина Ю.С. Фиброз сердца и печени: составляющие одного уравнения. Кардиология. 2014. Т.54. №9. С. 57-62.
2. Цепов Л.М., Николаев А.И., Михеева Е.А. Диагностика, лечение и профилактика заболеваний пародонта. 3-е изд., испр. и доп. М.: МЕДпресс-информ, 2014. - 272с.
3. Mark D. Turner, Belinda Nedjai, Tara Hurst, Daniel J. Pennington. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA). Molecular Cell Research*. 2014. № 1843. P. 2563-2582.

Клонирование гена TaNAC69 пшеницы мягкой и генетическая трансформация табака

Ибрагимова З.А.¹, Галимова А.А.²

¹ Башкирский государственный университет

² Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН

Пшеница мягкая (*Triticum aestivum* L.) – одна из важнейших продовольственных культур в мире (Senapati N. et.al., 2018). Известно, что продукты, получаемые из нее, являются наиболее массово употребляемыми в пищу на ежедневной основе во многих странах мира. Основное назначение пшеницы – получение хлеба, но также из нее производят манную крупу, крахмал, пшеничные отруби и в небольших количествах применяется на спиртовом производстве (Sanz-Penella J.M et.al., 2018).

Однако производство пшеницы сталкивается с абиотическими стрессовыми факторами, наиболее актуальный из которых засуха. Следовательно, актуальным направлением является создание засухоустойчивых сортов пшеницы (Gahlaut V. et.al., 2016).

Повышение устойчивости к факторам окружающей среды возможно путем манипулирования экспрессией генов факторов транскрипции, поскольку они чувствительны к стрессам и регулируют работу нижестоящих защитных генов во время ответа на стресс (Erpen L. et.al., 2018). Предыдущие исследования показали, что трансгенные растения, сверхэкспрессирующие гены, кодирующие факторы транскрипции, могут повышать устойчивость к абиотическим стрессам (Jiang Q. et.al., 2017). Так, транскрипционные факторы семейства NAC задействованы в ответе на факторы окружающей среды путем контроля экспрессии генов, связанных со стрессом (Bhatta M. et.al., 2018).

У пшеницы мягкой были идентифицированы 4 высоко гомологичных гена TaNAC69 (TaNAC69-1, TaNAC69-2, TaNAC69-3, TaNAC69-4). Они имели аминокислотную идентичность >95%. Эти гены преимущественно экспрессировались в корне при нормальных условиях и заметно активировались в условиях засухи в корне и листе, а также в условиях холода в листе (Xue G.G. et.al., 2006).

Также, позднее была изучена сверхэкспрессия TaNAC69 в листьях и корнях трансгенной пшеницы с промотором ячменя HvDhn4s. Такие трансгенные линии растений имели большую длину корней, а также продуцировали большую биомассу побегов в условиях дегидратационного стресса, вызванного ПЭГ (Xue G.G. et.al., 2011).

Для создания генно-инженерной конструкции, мы амплифицировали ген TaNAC69 из геномной ДНК озимой мягкой пшеницы сорта Московская 39. После провели очистку ПЦР смеси, затупление концов и сшивание полученного ампликона с плазмидой pCambia1301 – бинарным вектором для трансформации растений. Данный вектор имеет гены устойчивости к гентомицину и канамицину, а также промотор вируса мозаики цветной капусты 35S. Далее трансформировали полученной плазмидной ДНК компетентные клетки *E. coli*. Из единичных колоний выделили плазмидную ДНК методом щелочного лизиса, после проверок методом ПЦР-анализа и гель-электрофореза. Провели трансформацию данной плазмидой методом электропорации клетки *A. tumefaciens* штамма AGL-0 и *A. rizogenes* штамма A4. После получения рекомбинантных штаммов агробактерий, провели трансформацию стерильных листовых пластинок табака *Nicotiana tabacum* Petit Havana линии SR-1. Ожидается получение трансгенных побегов и волосовидных корней содержащих целевой ген TaNAC69.

Литература

1. Bhatta M., Morgounov A., Belamkar V., Baenziger P.S. Genome-Wide Association Study Reveals Novel Genomic Regions for Grain Yield and Yield-Related Traits in Drought-Stressed Synthetic Hexaploid Wheat. *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 19. P. 3011.

2. Erpen L., Devi H.S., Grosser J.W., Dutt M. Potential use of the DREB/ERF, MYB, NAC and WRKY transcription factors to improve abiotic and biotic stress in transgenic plants. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 2018. V 132. P. 1–25.

3. Gahlaut V., Jaiswal V., Kumar A., Gupta P.K. Transcription factors involved in drought tolerance and their possible role in developing drought tolerant cultivars with emphasis on wheat (*Triticum aestivum* L.) *Theor. Appl. Genet.* 2016 V. 129. P. 2019–2042.
4. Jiang Q., Sun X., Niu F., Hu Z., Chen R., Zhang H. GmDREB1 overexpression affects the expression of microRNAs in GM wheat seeds. *PLoS ONE.* 2017 P.1-18.
5. Sanz-Penella J.M., Wronkowska M., Soral-Smietana M., Haros M. Effect of whole amaranth flour on bread properties and nutritive value // *LWT - Food science and technology.* 2013. V 50. P. 679-685.
6. Senapati N., Stratonovitch P., Paul M.J., Semenov M.A. Drought tolerance during reproductive development is important for increasing wheat yield potential under climate change in Europe. *J. Exp. Bot.* 2018. V. 70. P. 2549–2560.
7. Xue G.G., Bower N.N., McIntyre C.C., Riding G.G., Kazan K., Shorter R. TaNAC69 from the NAC superfamily of transcription factors is up-regulated by abiotic stresses in wheat and recognises two consensus DNA-binding sequences. *Funct. Plant Biol.* 2006. V. 33. P. 43–57.
8. Xue G.G., Way H.H., Richardson T., Drenth J., Joyce P.A., Mc Intyre C.L. Overexpression of TaNAC69 leads to enhanced transcript levels of stress up-regulated genes and dehydration tolerance in bread wheat. *Mol. Plant.* 2011. V. 4. P. 697–712.

Морфологические изменения слизистой ротовой полости пациентов при лейкоплакии

Кабилова Э.Р., Фаткуллина С.С.

Башкирский государственный университет

Стоматологические заболевания - наиболее распространенные поражения человеческого организма. Лейкоплакия – хроническое заболевание слизистых оболочек и представляет собой ороговение слизистой оболочки полости рта и красной каймы губ, возникающее, как правило, в ответ на хроническое экзогенное раздражение, и относится к факультативному предраку (Иорданишвили, 2008). В этиологии лейкоплакии большое значение придают местным раздражающим факторам. Ороговение эпителия возникает как защитная реакция слизистой оболочки. Среди эндогенных факторов выделяют системные поражения органов (желудочно-кишечного тракта, эндокринной системы). Общие заболевания создают фон для развития лейкоплакии. Лейкоплакия может возникать как профессиональное заболевание при воздействии лаков, фенола, бензола и т.д. Особенно неблагоприятно сочетание вредных профессиональных факторов с курением табака. В связи с вышеперечисленными фактами изучение механизмов развития лейкоплакии слизистой ротовой полости для разработки вопросов профилактики и лечения является актуальным. Цель исследования - изучить морфологические изменения и степень пролиферации клеток слизистой ротовой полости при разных формах лейкоплакии.

Исследовано 12 биоптатов слизистой ротовой полости, взятых у лиц мужского и женского пола в возрасте от 23 до 60 лет (с их добровольного согласия) с клиническим диагнозом - лейкоплакия различных степеней тяжести при простой и веррукозной форме. Кусочки тканей фиксировали в 10% формалине по Лилли, после обезвоживания в серии спиртов возрастающей концентрации заливали в парафин по общепринятой методике. Гистологические срезы готовили на микротоме LEICA RM 2145 (Германия) и окрашивали гематоксилином и эозином. Окрашенные гистологические срезы изучали и фотографировали при помощи микроскопа AXIO IMAGER-Z1 фирмы «CARL ZEISS» (Германия). Количество пролиферирующих клеток эпителия в поле зрения считали на окрашенных срезах при общем увеличении X100. Подсчет осуществлялся на предоставленных препаратах, которые заранее подвергались иммуно-гистохимическим реакциям на выявление ядерного антигена пролиферирующих клеток PCNA (фирмы Santa Cruz Biotechnology, Inc.). Математико-статистическая обработка результатов осуществлялась при помощи программы «Statistica» версии 6. Была произведена систематизация данных и подсчет описательных характеристик. С помощью непараметрического критерия Манна-Уитни (U-критерий) была оценена значимость различий между группами с простой и веррукозной лейкоплакией.

Наши исследования показали, что общим морфологическим признаком простой и веррукозной лейкоплакии слизистой оболочки полости рта является проявление признаков хронического воспаления и нарушения микроциркуляции в соединительнотканной пластинке слизистой. При простой лейкоплакии слизистой оболочки полости рта выявляется нарушение процессов пролиферации клеток базального и шиповатого слоев, сопровождающееся процессом гиперкератоза (появление зернистого и рогового слоев). При веррукозной лейкоплакии слизистой оболочки полости рта значительно усиливается пролиферация клеток эпителия. Нами была проведена статистическая обработка показателей пролиферации клеток эпителия ротовой полости при плоской и веррукозной лейкоплакии. С использованием критерия Манна-Уитни были найдены достоверно значимые отличия между группами пациентов с простой и веррукозной лейкоплакиями. Количество пролиферирующих клеток эпителия слизистой ротовой полости у группы пациентов с веррукозной лейкоплакией ($22,48 \pm 4,41$) было значительно больше по сравнению с пациентами с плоской лейкоплакией $11,16 \pm 1,58$ ($p = 0,04$). Данный факт свидетельствовал о более тяжелом течении протекания воспалительных процессов при веррукозной лейкоплакии в сравнении с плоской лейкоплакией. Также это может косвенно свидетельствовать об озлокачествлении протекающих процессов, так как именно усиление интенсивности

пролиферации клеток может быть одним из признаков перерождения тканей и формирования злокачественной опухоли (Анисимова, 2008; Янова, 2009).

Литература

1. Анисимова И.В., Недосенко В.Б., Ломиашвили Л.М. Клиника, диагностика и лечение заболеваний слизистой оболочки рта и губ (учебное пособие) - М.: Медицинская книга, 2008.- 194.:ил.

2. Иорданишвили К.С. Заболевания эндодонта, пародонта и слизистой оболочки полости рта (учебное пособие) - М.: МЕДпресс-информ, 2008. 344 с.

3. Янова Н.А. Анализ предраковых заболеваний кожи, слизистой оболочки полости рта и красной каймы губ в крупном промышленном городе /Н.В. Тнунова // Сборник научных статей межрегиональной научно-практической конференции «Образование, практика и наука в стоматологической службе Севера». Якутск. 2009. С.213-215.

Биотестирование токсического действия кристаллических форм наночастиц диоксида титана с помощью зеленой водоросли *Chlorella vulgaris* Beyer.

Константинова О.В.

Башкирский государственный университет

Интерес к наночастицам металлов за последние годы значительно повысился в связи с их широким применением в различных промышленных отраслях: косметической, текстильной, лакокрасочной, медицинской, а также в агропромышленном комплексе. Среди перспективных наночастиц оксидов металлов диоксид титан занял место благодаря своей высокой рассеивающей способности и фотокаталитической активности. Фотокаталитическая активность обуславливает антисептические свойства наночастиц и возможность их применения в области окружающей среды и энергетики, включая самоочищающиеся поверхности, системы очистки загрязненного воздуха и воды, стерилизацию (Racovita et al., 2022). Наличие диоксида титана во многих потребительских товарах и их возрастающее применение приводит к значительному увеличению объёма выброса наночастиц в окружающей среде. Основным интерес представляю две кристаллические формы диоксида титана - анатаз и рутил, третья форма брукит реже встречается в природе. Эти полиморфы обладают разными свойствами, следовательно, различаются и фотокаталитические характеристики. Наночастицы анатаза имеют, как правило, сферическую или овальную форму и размер от 10 до 100 нм (типично 20-30 нм), то наночастицы рутила часто представлены кристаллитами неправильной или стержневидной формы с поперечным диаметром менее 10 нм и длиной 40-50 нм и более (Гмошинский, 2019). Известно, что наиболее эффективно процесс фотодеструкции органических соединений идет на поверхности TiO₂ в анатазной кристаллической модификации с удельной поверхностью более 50 м²/г (Третьякова, 2006). В известных на данный момент исследованиях экотоксичности кристаллических форм диоксида титана на различных модельных организмах не дает однозначного представления о преобладании токсического действия одной из форм. Вместе с тем в последние годы появились данные о сходных по силе и направленности эффектах этих форм НЧ TiO₂ (Xu Y. et al., 2017), в связи с чем, возникает необходимость изучения последствий воздействия НЧ TiO₂ рутильной модификации на клетки и ткани организма. Кроме того, в большинстве работ авторы не всегда уточняют кристаллическую фазу НЧ, что затрудняет интерпретацию данных и указывает на дефицит информации относительно неблагоприятных эффектов различных форм НЧ TiO₂. Так количественная оценка экотоксикологического воздействия полиморфов наночастиц диоксида титана на бактерии *Escherichia coli* показала незначительно повышенную токсичность анатаз по сравнению с образцами рутила (Planchon, 2013). В исследовании воздействия диоксида титана на водоросли *Chlorella vulgaris* изменения относительного показателя замедленной флюоресценции не были существенными в диапазоне концентраций до 100 мг/л (Асанова и др., 2017). Исследовательская группа оценила повреждение анатаза и рутилового нано-TiO₂ мембраны и субклеточных структур *Chlorella vulgaris* и предположила, что анатаз повреждает ядро и клеточную мембрану клеток водорослей, в то время как рутил вызывает повреждение хлоропластов и внутренних органелл (Iswarya et al., 2016). Был описан концентрационно зависимый токсический эффект *Galleria mellonella* за счет существенных окислительных повреждений и увеличения показателей клеточного повреждения, таких как аланинтрансфераза, аспартаттрансфераза, лактатдегидрогеназа и др. (Venay Tuncsoy et al., 2021).

Цель работы - изучение влияния различных форм наночастиц диоксида титана на зеленые водоросли проведено на примере *Chlorella vulgaris* Beyer., находящейся в логарифмической фазе роста (18,81*10⁶ клеток/мл). *Chlorella vulgaris* Beyer встречается практически повсеместно. Простота культивирования, высокая скорость и обильность роста хлореллы позволяет достаточно быстро оценить ответную реакцию тест-организма на воздействия кристаллическими формами титана. Для культивирования хлореллы

использовалась питательная среда №6 (Шарипова, Дубовик, 2012). Простерилизованная питательная среда №6 была разлита в стерильные колбы по 50 мл с добавлением 4 мл матричной культуры *Chlorella vulgaris* Beyer в логарифмической фазе роста и раствора наночастиц диоксида титана (опытные концентрации составили 50мг/л, 100мг/л и 150мг/л соответственно). Наночастицы разбивали с помощью ультразвуковых волн в ультразвуковой ванне «Сапфир». Все дни эксперимента определяли численность клеток культуры *Chlorella vulgaris* Beyer. прямым счетом в камере Горяева с глубиной 0,1 мм и стороной малого квадрата равной 0,05 мм. Клетки хлореллы визуализируются как одиночные, шаровидные, с тонкой оболочкой, диаметром 4,2-10,5 мкм. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы Microsoft Excel.

В ходе эксперимента выяснено, что при внесении наночастиц диоксида титана в концентрации (150 мг/л) изменяется кривая роста клеток *Chlorella vulgaris*. В контрольных образцах логарифмическая стадия роста *Chlorella vulgaris* началась на 10 сутки культивирования, в образцах с анатазом в концентрации 50мг/л на 8 сутки, с рутилом в такой же концентрации на 9 сутки эксперимента. При концентрации 100мг/л и 150мг/л в двух кристаллических формах темп деления клеток хлореллы замедлился на 10 день эксперимента. При этом замедление роста в образцах с анатазом выше по сравнению с рутилом, что указывает не только на концентрационную зависимость экотоксичности наночастиц, но и на различные свойства кристаллических форм. К концу эксперимента максимальная численность клеток хлореллы оказалась в образцах с нативной средой культивирования ($P < 0,05$).

Таким образом, внесение в культуральную жидкость анатаза в концентрации 100-150мг/л сильнее подавляет рост *Chlorella vulgaris*, чем наночастицы диоксида титана в форме рутила в той же концентрации.

Литература

1. Benay Tuncsoy, Yagmur Mese. Influence of titanium dioxide nanoparticles on bioaccumulation, antioxidant defense and immune system of *Galleria mellonella* L. *Environmental Science and Pollution Research*. 2021. № 28 P. 38007-38015.
2. Iswarya V., Bhuvaneshwari M., Handrasekaran N., Mukherjee A. Individual and binary toxicity of anatase and rutile nanoparticles towards *Ceriodaphnia dubia*. *Aquatic Toxicology*. 2016. P. 209-221.
3. Planchon M., Ferrari R., Guyot F., Gélabert A., Menguy N., Chanéac C., Thill A., Benedetti M.F., Spalla O. Interaction between *Escherichia coli* and TiO₂ nanoparticles in natural and artificial waters. *Colloids Surf. B Biointerfaces*. 2013. P. 158–164.
4. Racovita A.D. Titanium Dioxide: Structure, Impact, and Toxicity. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022. P. 19.
5. Y. Xu, M. Hadjiargyrou, M. Rafailovich, T. Mironava. J. Cell-based cytotoxicity assays for engineered nanomaterials safety screening: exposure of adipose derived stromal cells to titanium dioxide nanoparticles. *Nanobiotechnology*. 2017. V. 5 No. 1. P. 50.
6. Асанова А.А., Полонский В.И., Григорьев Ю.С. Оценка токсичности техногенных наночастиц с использованием водоросли *Chlorella vulgaris* 2017. С. 50-54.
7. Гмошинский И.В., Багрянцева В.О., Хотимченко С.А. Токсиколого-гигиеническая оценка наночастиц диоксида титана в составе пищевой добавки E171. Анализ риска здоровью. 2019. № 2. С. 145-163.
8. Третьякова Ю.Д. Красная книга микроструктур новых функциональных материалов., М.: МГУ им. М.В. Ломоносова. 2006. С. 116.
9. Шарипова М.Ю., Дубовик И.Е. «Современные методы альгологии» учеб. пособие. Башкирский государственный университет. — Уфа: РИЦ БашГУ, 2012. С. 44-48.

Правовые основы и способы обеспечения экологической безопасности предприятия

Кулбахтина И.Г.

Башкирский государственный университет

Любое предприятие, находящееся на территории РФ, несет обязательства по соблюдению экологической безопасности и устранению возможностей нанести вред состоянию здоровья и жизни, находящихся в определенном районе граждан и окружающей среде. Основные нормы экологической безопасности заложены в Конституции РФ в статье 42: «Каждый имеет право на благоприятную окружающую среду, достоверную информацию о ее состоянии и на возмещение ущерба, причиненного его здоровью или имуществу экологическим правонарушением» [http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_28399/2b65ae24cc8141d4720fb749fb0c5583f8395048/].

Более детально данные конституционные принципы расшифрованы в ФЗ 10.01.2002 г. №7- ФЗ «Об охране окружающей среды» (в ред. от 26.03.2022). Согласно данному нормативно-правовому акту, каждое предприятие обязано не только соблюдать на практике основные требования этого закона, но и разрабатывать внутренние проектные, стратегические документы, направленные не только на снижение экологических угроз экономической безопасности, но и предпринимать меры по улучшению состояния окружающей среды [http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_34823/].

Смысл управленческой работы государственных и муниципальных органов в обеспечении экологической безопасности в промышленных регионах предусмотрено в одобренной Правительством РФ 31.08.2002 года Экологической доктрине РФ и в утвержденных Президентом РФ 19.04.2017 года № 176 в «Основах государственной политики в области экологического развития РФ на период до 2025 года», где определяются стратегическая цель, главные задачи государства в области защиты природной среды и экологической защищенности и механизмы их реализации [http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_92097/].

Помимо этого, некоторые составляющие экологической безопасности регулируются конкретными законодательными актами:

- экологическая доктрина РФ (одобрена распоряжением Правительства РФ от 31.08.2002 г. № 1225-р);
- стратегия экологической безопасности РФ на период до 2025 года (утв. Указом Президента РФ от 19.04.2017 г № 176);
- Водный кодекс РФ от 03.06.2006 г. № 74- ФЗ (в ред. от 01.05.2022);
- Земельный кодекс РФ от 25.10.2001 г. № 136- ФЗ (в ред. от 01.05.2022);
- ФЗ от 28.12.2010 г. №390- ФЗ «О безопасности» (в ред. от 09.11.2020);
- ФЗ от 30.03.1999г. №52- ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» (ред. от 01.01.2022);
- ФЗ от 04.05.1999 №96- ФЗ «Об охране атмосферного воздуха» (ред. от 11.06.2021);
- ФЗ от 21.07.1997 №116- ФЗ « О промышленной безопасности опасных производственных объектов» (в ред. от 11.06.2021);
- ФЗ от 24.06.1998 №89- ФЗ «Об отходах производства и потребления» (ред. от 01.03.2022).

Каждое предприятие должно последовать не только правительственным шаблонам в экологической области, но и внутренним стандартам компании.

На основе всех вышеназванных нормативно-правовых актов на предприятиях создается проектная природоохранная нормативная база, которая содержит в себе совокупность мероприятий по защите окружающей природной среды и проект мониторинга влияния на окружающую среду.

Таким образом, законодательство в различных странах вполне отличается друг от друга, так же как и значение, придаваемое роли правоохранительных органов в деле защиты окружающей нас среды. Но во всех сферах этим темам придают большой смысл.

Распределение йодтиронинов в ядрах тканей высших растений

Магадиева Т.М., Гарипова М.И.

Башкирский государственный университет

Целью нашего исследования является выявление йодтиронинов в клетках высших растений. Для достижения поставленной цели в работе были сформулированы следующие задачи:

1. Выяснить, присутствуют ли в клетках проростков фасоли соединения, антигенно подобные трийодтирону (специфически реагирующие с поликлональной сывороткой к трийодтирону).
2. Определить содержание исследуемых соединений в ядрах и цитоплазме 9 видов высших растений.

Объектом исследования являлись высшие растения девяти видов, выбранные нами случайно

Материалом для исследования служили гомогенаты листовых пластинок и корней девяти видов высших растений, цитоплазма и лизаты ядер следующих видов растений: фасоль обыкновенная (*Phaseolus vulgaris* L.), земляника садовая (*Fragaria ananassa*), банан райский (*Musa paradisiaca*), пшеница мягкая (*Triticum aestivum* L), картофель или паслён клубненосный (*Solanum tuberosum*), морковь посевная (*Daucus Sativus Hoffm*), бобы овощные, или огородные (*Vicia faba* L.), петрушка огородная (кудрявая) (*Petroselinum crispum*).

В исследовании использовались пятидневные проростки бобов, фасоли и пшеницы. Морковь, петрушка, картофель, земляника были выращены в открытом грунте.

На первом этапе исследований мы попытались ответить на вопрос, присутствуют ли в проростках фасоли соединения, антигенно-подобные трийодтирону, то есть специфически реагирующие с поликлональной сывороткой к трийодтирону, покрывающей поверхность лунок стрипа.

Метод основан на одностадийном твердофазном конкурентном иммуноферментном анализе с применением поликлональных антител к трийодтирону. Определение проводили в гомогенатах листовых пластинок и корней проростков фасоли.

Установлено, что в корнях и листовых пластинках проростков фасоли присутствуют соединения, связывающиеся с поликлональными антителами к трийодтирону.

Далее мы провели сравнение содержания исследуемых соединений в цитоплазме и ядрах клеток фасоли. Показано, что соединения, антигенно подобные йодтиронином, концентрируются в ядрах клеток.

Как следует из полученных данных, концентрация выявленных соединений в ядрах клеток в 7-10 раз выше, чем в цитоплазме. Таким образом, существует вероятность того, что йодтиронины в ядрах клеток фасоли выполняют роль гормонов, то есть регулируют активность транскрипции генов, подобно тому, как это происходит в животных клетках. В этом случае подобные соединения с высокой вероятностью должны присутствовать и в клетках других высших растений. Если же выявленные соединения являются продуктами вторичного обмена, они должны существовать не во всех растениях, а лишь в тех, которые отнесены к лекарственным на основании эффектов вторичных метаболитов на щитовидную железу человека. Для проверки этого предположения были выбраны случайным образом восемь растений (дополнительно к фасоли), относящихся как к двудольным, так и однодольным растениям. Установлено, что выявленные соединения присутствуют не только в растениях семейства бобовых, но и в растениях других семейств двудольных и однодольных растений. Существует высокая вероятность того, что они есть у всех высших растений. В ядрах клеток растений исследуемые соединения концентрируются и возможно принимают участие в регуляции транскрипции генов.

Механизмы действия ботулинического токсина

Магадиева Т.М.¹, Хазиев А.Ф.²

¹ Башкирский государственный университет

² АО НПО «Микроген» филиал в г.Уфа «Иммунопрепарат»

Ботулинические токсины характеризуется системным распределением после внутривенного и внутримышечного введения. Посредством системы кровообращения, токсины попадают в периферическую нервную систему, где они проникают в нейрональные клетки, причем преимущественно в мотонейроны. Внутри нейрона токсины блокируют высвобождение нейромедиаторов, что приводит к длительному нисходящему двустороннему параличу, характерному для ботулизма. Даже при внутримышечном применении в терапевтических целях часть введенных токсинов, особенно в высоких дозах, может диффундировать от места инъекции, что приводит к дистальным нейрональным эффектам, а при очень высоких дозах – системному воздействию.

Ботулинические токсины (BoNT) составляют большое семейство нейротоксинов природного происхождения. BoNT и представляют собой эндопептидазы АВ-типа с молекулярной массой 150 кДа, состоящие из тяжелой цепи (HC) (~ 100 кДа) и легкой цепи (LC) (~ 50 кДа), связанных дисульфидной связью.

Легкая цепь представляет собой цинк зависимую эндопептидазу, которая расщепляет нейрональные белки класса SNARE, которые являются основным компонентом механизма высвобождения медиатора нейронов, а их расщепление приводит к блокировке высвобождения нейромедиаторов.

Тяжелая цепь структурно и функционально разделена на С-концевой рецептор-связывающий домен (HCC) и N-концевой домен транслокации (HCN). С-концевой рецептор-связывающий домен облегчает специфическое связывание токсинов, их проникновение в нейрональные клетки посредством связывания с ганглиозидами и белковыми рецепторами, что приводит к эндоцитозу всей молекулы ботулотоксина.

После проникновения токсина внутрь в эндосоме происходят структурные изменения, приводящие к встраиванию домена HCN в мембрану эндосомы и перемещению его в цитозоль клетки. Внутри цитозоля дисульфидная связь между HC и LC разрывается, и каталитически активный LC высвобождается внутрь клетки, после чего расщепляются белки SNARE и блокируется деятельность мотонейрона.

На этапе расщепления белка комплекса SNARE каждый из семи различных серотипов BoNT расщепляет уникальную пептидную связь, расположенную на одном из белков SNARE. BoNT/A, /C и /E расщепляют синаптосомно-ассоциированный белок 25 кДа (SNAP-25) в положениях 197-198, 198-199 и 180-181 соответственно. BoNT/B, /D, /F и /G нацеливаются на синаптобrevин, расщепляя его в положениях 76-77, 59-60, 59-59 и 81-82 соответственно. Интересно, что в дополнение к SNAP-25, BoNT/C также расщепляет синтаксин в позиции 253-254.

Ботулинические токсины типа А разделяются на подтипы А1, А2 и т.д. до А8 и различаются по некоторым свойствам. BoNT/A2, взаимодействует с полисиалоганглиозидами с большей аффинностью, чем BoNT/A1. Кинетика проникновения подтипов токсина типа А в клетки также различается, отмечается, что BoNT/ А2 и /А6 проникают в нейрональные клетки быстрее, чем BoNT/A1. Серотипы и подтипы токсинов также различаются по каталитической активности и внутриклеточной устойчивости, причем BoNT/A1 обладает самой длинной зарегистрированную внутриклеточную продолжительность действия, за ним следуют BoNT/A3.

В процессе расщепления белков SNARE каждый серотип токсина производит в строго определенном месте. Подтипы же токсинов имеют один сайт расщепления, свойственный серотипу, и при этом сайт связывания субстрата активного центра у подтипов токсинов различаются.

Таким образом, биологическое действие ботулотоксина является сложным многошаговым процессом и не может произойти без реализации четырех шагов, что требует функциональной активности всех трех доменов молекулы:

1. для связывания с нейрональными клетками;
2. для эндоцитоза;
3. для транслокации через мембрану LC в цитозоль нервных клеток;
4. для проявления ферментативной активности и расщепления белков SNARE внутри цитозоля нервных клеток.

Роль полиморфных вариантов гена нейропилина 1 (NRP1) в патогенезе новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2

Маркелов В.А., Нургалиева А.Х.

Башкирский государственный университет

Нейропилин 1 совместно с нейропилином 2 относится к семейству эссенциальных рецепторов клеточной поверхности (нейропилинов) и выполняет роль ко-рецептора при взаимодействии факторов роста эндотелия сосудов (VEGF, англ. Vascular endothelial growth factor) и семафоринов с их целевыми рецепторами. Нейропилин 1 опосредует целый ряд сигнальных, адгезивных и ангиогенных путей (Guo HF, Vander Kooi CW, 2015). В составе данного белка насчитывают 923 аминокислотных остатка. Он имеет обширную внеклеточную структуру, состоящую из двух тандемных CUB-доменов, двух доменов гомологичных факторам свертывания V/VIII, сюда же входит линкерная последовательность и единичный МАМ-домен. По одному домену включают трансмембранная и цитоплазматическая части нейропилина-1 (Nakamura F, Tanaka M, et al., 1998). Для цитоплазматической части (включает 44 аминокислотных остатка) нейропилина 1 характерен высокий филогенетический консерватизм (Pellet-Many C, Frankel P, et al., 2008).

Общая функциональная значимость данного рецептора обуславливает интерес исследовательского сообщества к роли нейропилина 1 и полиморфных вариантов его гена в контексте их влияния на развитие и исход новой коронавирусной инфекции COVID-19 у человека. Целью данного обзора является формирование целостной картины роли как самого нейропилина-1, так и полиморфных вариантов его гена при течении коронавирусной инфекции COVID-19 у человека в рамках существующих литературных данных.

Нейропилин-1 стимулирует разделение S1 и S2 субъединиц шиповидного белка SARS-CoV-2. Расчетная граница S1 и S2 субъединиц выделяется в области 685 и 686 аминокислотных остатков спайкового белка SARS-CoV-2 соответственно (Li ZL, Buck M, 2021). В свою очередь, при взаимодействии S1 субъединицы шиповидного белка с нейропилином-1 клеточной поверхности ведущую роль играет последовательность в области 678-685 аминокислотных остатков (Daly JL, Simonetti B, et al., 2020). Необходимо отметить, что формированию устойчивой связи нейропилина 1 и S1 домена обеспечивается посредством электростатических и водородных взаимодействий ARG685 (аргинин) S1-субъединицы с ASP320 (аспарагиновая кислота), THR316 (треонин) и PRO317 (пролин) нейропилина 1 (Klaewkla M, Charoenwongpaiboon T, 2021). Диссоциация рецептор-связывающего домена (RBD, англ. Receptor Binding Domain) S1 субъединицы шиповидного белка и его S2 субъединицы индуцируется формированием устойчивой связи RBD с ангиотензинпревращающим ферментом 2 (ACE2), однако этого недостаточно для полного разделения шиповидного белка, так как незатронутый сайт взаимодействия в положении 685-686 поддерживает относительную целостность спайкового белка. Таким образом, связь между последовательностью 678-RRAR-685 шиповидного белка с нейропилином 1 обуславливает форсированное высвобождение S2 субъединицы (Li ZL, Buck M, 2021). Всё это указывает на способность нейропилина 1 модулировать инфекцию SARS-CoV-2.

Ассоциация полиморфных вариантов гена нейропилина-1 (NRP1) с патологическими состояниями человека и их возможное влияние на патогенез COVID-19. Спайковый белок SARS-CoV-2 способен блокировать ноцицептивную передачу сигналов по оси VEGF-A/NRP-1. Удивительно, что шиповидный белок способен демонстрирует анальгезирующие свойства при хронической боли у крыс (Moutal A, Martin LF, et al., 2021). Для SNP rs2506142 гена NRP1 выявлена связь с различными формами мигрени (Zhuo YJ, Shi Y, 2019; Gormley P, Anttila V, 2016; Pollock CE, Sutherland HG, et al., 2018). Известно, что концентрации цитозольных ионов кальция имеет ведущую роль при патогенезе различных типов мигрени (Zhao Y, Zhu R, 2020), в свою очередь, для нейропилина 1 была показана способность влиять на ноцицептивную активность посредством VEGF-A, которая обусловлена увеличением

числа натриевых и кальциевых каналов в нейронах спинномозговых ганглиев (Moutal A, Martin LF, et al., 2021).

Ряд литературных источников указывает на связь SNP rs2228638 гена NRP1 с целым спектром сердечно-сосудистых патологий (Fan SH, Shen ZY, 2018; Dyer LA, Rugonyi S, 2021; Xu J, Lin Y, et al., 2014). Некоторые исследователи выделяют снижение активности нейропиллина 1 в роли ко-рецептора при VEGF-опосредованной сигнализации (Duran I, Tenney J, et al., 2018). Таким образом, нельзя исключать способность данного SNP влиять на ассоциацию спайкового белка и нейропиллина 1 (Hancock JT, Rouse RC, 2021).

Для генотипов GA и AA SNP rs2070296 гена NRP1 была показана связь со значительным снижением эффективности антиангиогенной терапии с использованием ранибизумаба (является ингибитором VEGF-A) (Lorés-Motta L, Muether PS, et al., 2016). Из вышесказанного следует, что указанный полиморфизм также может обладать способностью влиять на ассоциацию нейропиллина 1 и шиповидного белка.

Всё вышесказанное ярко демонстрирует важнейшую роль нейропиллина 1 в ходе инфекции SARS-CoV-2. Особого интереса заслуживает его способность ускорять отделение S2-субъединицы спайкового белка, тем самым усиливая инфекционность. Отдельного внимания требует роль полиморфных вариантов гена нейропиллина 1 в патогенезе рассматриваемой инфекции у людей и различиях её клинических проявлений. В результате была показана связь некоторых полиморфных вариантов с рядом патологических процессов, среди которых можно выделить изменение ноцицептивной активности, аномальный ангиогенез и формирование устойчивой связи спайкового белка с нейропилином 1.

Литература

1. Guo HF, Vander Kooi CW. Neuropilin Functions as an Essential Cell Surface Receptor. *J Biol Chem*. 2015 Dec 4; 290(49):29120-6. doi: 10.1074/jbc.R115.687327.
2. Nakamura F, Tanaka M, et al. Neuropilin-1 extracellular domains mediate semaphorin D/III-induced growth cone collapse. *Neuron*. 1998 Nov;21(5):1093-100. doi:10.1016/s0896-6273(00)80626-1.
3. Pellet-Many C, Frankel P, et al. Neuropilins: structure, function and role in disease. *Biochem J*. 2008 Apr 15;411(2):211-26. doi: 10.1042/BJ20071639.
4. Li ZL, Buck M. Neuropilin-1 assists SARS-CoV-2 infection by stimulating the separation of spike protein domains S1 and S2. *bioRxiv [Preprint]*. 2021 Jan 19:2021.01.06.425627. doi:10.1101/2021.01.06.425627. Update in: *Biophys J*. 2021 Jul 20;120(14):2828-2837.
5. Daly JL, Simonetti B, Klein K, et al. Neuropilin-1 is a host factor for SARS-CoV-2 infection. *Science*. 2020 Nov 13;370(6518):861-865. doi: 10.1126/science.abd3072.
6. Klaewkla M, Charoenwongpaiboon T, Mahalapbutr P. Molecular basis of the new COVID-19 target neuropilin-1 in complex with SARS-CoV-2 S1 C-end rule peptide and small-molecule antagonists. *J Mol Liq*. 2021 Aug 1;335:116537. doi: 10.1016/j.molliq.2021.116537.
7. Moutal A, Martin LF, Boinon L, et al. SARS-CoV-2 spike protein co-opts VEGF-A/neuropilin-1 receptor signaling to induce analgesia. *Pain*. 2021 Jan;162(1):243-252. doi:10.1097/j.pain.0000000000002097.
8. Zhuo YJ, Shi Y, Wu T. NRP-1 and KDR polymorphisms are associated with survival time in patients with advanced gastric cancer. *Oncol Lett*. 2019 Nov;18(5):4629-4638. doi:10.3892/ol.2019.10842.
9. Gormley P, Anttila V, Winsvold BS, et al. Meta-analysis of 375,000 individuals identifies 38 susceptibility loci for migraine. *Nat Genet*. 2016 Aug;48(8):856-66. doi: 10.1038/ng.3598.
10. Pollock CE, Sutherland HG, Maher BH, et al. The NRP1 migraine risk variant shows evidence of association with menstrual migraine. *J Headache Pain*. 2018 Apr 18;19(1):31. doi:10.1186/s10194-018-0857-z.
11. Zhao Y, Zhu R, Xiao T, Liu X. Genetic variants in migraine: a field synopsis and systematic re-analysis of meta-analyses. *J Headache Pain*. 2020 Feb 11;21(1):13. doi:10.1186/s10194-020-01087-5.

12. Fan SH, Shen ZY, Xiao YM. Functional polymorphisms of the neuropilin 1 gene are associated with the risk of tetralogy of Fallot in a Chinese Han population. *Gene*. 2018 May;653:72-79. doi: 10.1016/j.gene.2018.02.027.
13. Dyer LA, Rugonyi S. Fetal Blood Flow and Genetic Mutations in Conotruncal Congenital Heart Disease. *Journal of Cardiovascular Development and Disease*. 2021 Jul;8(8). doi:10.3390/jcdd8080090.
14. Xu J, Lin Y, Si L, et al. Genetic variants at 10p11 confer risk of Tetralogy of Fallot in Chinese of Nanjing. *PLoS One*. 2014 Mar 3;9(3):e89636. doi: 10.1371/journal.pone.0089636.
15. Duran I, Tenney J, Warren CM, et al. NRP1 haploinsufficiency predisposes to the development of Tetralogy of Fallot. *Am J Med Genet A*. 2018 Mar;176(3):649-656. doi:10.1002/ajmg.a.38600.
16. Hancock JT, Rouse RC, Stone E, Greenhough A. Interacting Proteins, Polymorphisms and the Susceptibility of Animals to SARS-CoV-2. *Animals (Basel)*. 2021 Mar 12;11(3):797. doi:10.3390/ani11030797.
17. Lorés-Motta L, van Asten F, Muether PS, et al. A genetic variant in NRP1 is associated with worse response to ranibizumab treatment in neovascular age-related macular degeneration. *Pharmacogenet Genomics*. 2016 Jan;26(1):20-7. doi: 10.1097/FPC.0000000000000180.

Связь полиморфного варианта rs2065364 гена NRP1 с клиническими и биохимическими параметрами больных COVID-19

Маркелов В.А.^{1,2}, Данилко К.В.²

¹ Башкирский государственный университет

² Башкирский государственный медицинский университет

Нейропилин-1 – гликопротеин, относящийся к группе трансмембранных белков, является одним из ведущих рецепторов клеточной поверхности и участвует в целой системе клеточных сигнальных каскадов (Guo HF, Vander Kooi CW, 2015).

Накопление новых исследовательских данных ярко демонстрирует роль нейропиллина-1 при развитии новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2. В частности, после расщепления спайкового (S) белка фурином, его S1 рецептор-связывающий домен (RBD, англ. Receptor-Binding Domain) формирует стойкую связь с нейропилином-1 клеточной поверхности. Тем временем, блокирование этой связи посредством значительно снижает степень вирусной инфекции в клеточных культурах *in vitro* (Cantuti-Castelvetri L, Ojha R et al., 2020). Учитывая сильную степень консерватизма цитоплазматического домена, (Cai H, Reed RR, 1999), можно с высокой вероятностью говорить о значимости полиморфных вариантов гена NRP1 при развитии инфекции SARS-CoV-2 у человека. Например, литературные данные сообщают нам, что полиморфизм rs10080 G>A ассоциирован с пониженной экспрессией NRP1, то есть носители SNP rs10080 G>A могут демонстрировать пониженный уровень экспрессии нейропиллина-1 в клетках-мишенях инфекции (Hashemi SMA, Thijssen M, et al., 2021; Agúndez JA, García-Martín E, et al., 2016).

Всё вышеперечисленное дает нам представление о важности генетической составляющей при анализе влияния нейропиллина-1 на различные клинические и биохимические проявления коронавирусной инфекции SARS-CoV-2. В свою очередь, изучение полиморфных вариантов гена нейропиллина-1 (NRP1) играет ключевое значение для понимания формирования вариабельности клинических проявлений, особенностей патогенеза, развития и исхода заболевания.

Целью данной работы является оценка функциональной значимости полиморфного варианта rs2065364 (с.248 +25634 A>G) гена NRP1 для приведённых демографических, клинических и биохимических показателей.

Материалом для исследований послужили образцы крови 149 больных COVID-19 стационарного отделения Башкирского государственного медицинского университета, поступивших со специфической симптоматикой и характерной картиной компьютерной томограммы вирусного поражения легких между июлем 2020 г. и декабрем 2020 г. Диагноз подтверждался результатом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (RT-PCR) (набор Vector-Best COVID-19 RT-qPCR, Россия) вирусных нуклеиновых кислот мазков зева. Все пациенты подписали информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

От каждого исследуемого были получены образцы периферийной крови для последующего стандартного анализа крови, включая оценку следующих показателей: количество лейкоцитов, доля нейтрофилов и лимфоцитов (%), количество эритроцитов и количество тромбоцитов – анализ выполнялся с использованием автоматического анализатора CELL-DYN Sapphire (Abbot, США). Посредством автоматизированного биохимического анализатора CA-800 (Furuno Electric Co. Ltd., Япония) были проанализированы следующие параметры: сывороточный альбумин (ед/л), аспартатаминотрансфераза (далее АСТ, ед/л), аланинаминотрансфераза (далее АЛТ, ед/л), сывороточный креатинин (мМ/л), креатинфосфокиназа (ед/л), лактатдегидрогеназа (ед/л), сывороточное железо (ед/л), а также С-реактивный белок (мг/л). Сбор образцов крови объемом 3-4 мл осуществляли путем стандартной венопункции с последующим выделением геномной ДНК методом фенольно-хлороформной экстракции (Mathew, 1985). Степень

поражения легких оценивали с помощью компьютерного томографа Optima CT660 (General Electric, США).

Для указанного SNP частота редких аллелей (MAF) имеет значение $\geq 5\%$ в популяциях европеоидов по данным базы the National Center for Biotechnology Information (далее NCBI) [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=rs2065364>], кроме того, для данного полиморфизма выявлена ассоциация с рядом патологических состояний человека. Функциональную значимость SNP анализировали с помощью сетевых ресурсов RegulomeDB версия 1.1 [<https://regulomedb.org>], SNPinfo [<https://snpinfo.niehs.nih.gov>] и HaploReg v3 (Ward, 2012). Анализ полиморфного варианта rs2065364 проводили посредством полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ). Объем реакционной смеси равен 25 мкл. Реакционная смесь содержит 1 мкл исходной ДНК матрицы (10 нг/мкл), рабочий раствор qPCRMix-HS HighROX master mix (Евроген, Москва, Россия), 500 нМ специфических праймеров и 250 нМ зондов с флуоресцентной меткой, (ООО "ДНК-Синтез", Россия). Анализ проводился с использованием измерительного прибора StepOnePlus, Applied Biosystems instrument (США) в соответствии со следующей программой ПЦР: 1) предварительная денатурация при 95°C – 3 мин; 2) 40 циклов амплификации, включающей денатурацию при 95°C – 15 с., отжиг праймеров при 55°C – 30 с. и элонгацию при 72°C – 30 с. Флуоресценцию «по конечной точке» и дискриминацию генотипов определяли по протоколу StepOnePlus, используя программное обеспечение Applied Biosystems StepOnePlus Real-Time PCR Systems software.

Было обследовано 149 больных COVID19, средний возраст составил 58.74 лет, соотношение мужчин и женщин среди больных было равным 51.00%/49.00%, соответственно. По этнической принадлежности Медиана процента поражения легких, по данным компьютерной томографии при поступлении - 44.00%. Для 48.32% больных наиболее частой коморбидной патологией была артериальная гипертензия, 22.83% имели ишемическую болезнь сердца, цереброваскулярную патологию – 14.77% и сахарный диабет 13.42%, у 4.7% больных были в анамнезе обструктивные болезни легких. Данные заболевания могли привести к развитию тяжелого течения COVID19 и развитию осложнений. Медиана для госпитализации составила 11 дней.

Для исследованного SNP не было выявлено отклонений от равновесия Харди-Вайнберга. Проведен сравнительный анализ частоты редкого аллеля с данными, представленными в базе NCBI [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=rs2065364>] для монголоидной (HapMap-HCB-Nan Chinese in Beijing, China) и европеоидной (HapMap-CEU –Utah residents with ancestry from northern and western Europe (Caucasian)) популяций. В исследованной группе частота редкого аллеля А rs2065364 (0.26) совпадала с таковой в популяции европеоидов HapMap-CEU (0.26) и была относительно монголоидов HapMap-HCB (0.33).

Сравнительная оценка частоты rs2065364 ($P=0.64$) между группами больных с поражением легких $\leq 50\%$ и с поражением легких $\geq 50\%$ не показала заметной разницы. Не было выявлено существенных ассоциаций для таких лабораторных показателей как количество лейкоцитов ($\times 10^9$), доля нейтрофилов (%), доля лимфоцитов (%), количество эритроцитов ($\times 10^{12}$), количество тромбоцитов ($\times 10^9$), сывороточный альбумин (ед/л), АСТ (ед/л), креатинин сыворотки крови ($\mu\text{M/л}$), креатинфосфокиназа (ед/л), лактатдегидрогеназа (ед/л), сывороточное железо ($\mu\text{M/л}$), С-реактивный белок (мг/л).

Для rs2065364 G>A была выявлена связь с показателем аланинаминотрансферазы (ед/л): наибольшие значения были выявлены у гомозигот по аллелю G (GG) 33.5 (26.45-47.35, ед/л), в свою очередь, у гетерозигот и гомозигот по аллелю А (AG, AA) наблюдается плавное снижение ($P=0.016$ и $P=0.0006$ соответственно). У носителей генотипа GA rs2065364G>A в значительной степени наблюдается снижение продолжительности госпитализации 10.0 (8.0-13.25) дней ($P=0.026$).

Таким образом, нами была показана связь rs2065364 G>A с уровнем аланинаминотрансферазы, что может быть связано с участием нейропилина-1 в целом спектре сигнальных путей ангиогенеза. Например, был выявлен повышенный уровень

нейропилина-1 на поверхности звездчатых клеток печени (клетки Ито, перициты), избирательно реагирующих на тромбоцитарный фактор роста, при анализе различных моделей цирроза печени. Таким образом он может усиливать процесс фиброза клеток печени печени (Cao S, Yaqoob U, et al., 2016).

Ассоциация гетерозиготного генотипа (GA) rs2065364 G>A с таким важным клиническим параметром как продолжительность госпитализации говорит о высокой и комплексной важности рассматриваемого полиморфного варианта.

Литература

1. Guo HF, Vander Kooi CW. Neuropilin Functions as an Essential Cell Surface Receptor. *J Biol Chem*. 2015 Dec 4; 290(49):29120-6. doi:10.1074/jbc.R115.687327.
2. Cantuti-Castelvetri L, Ojha R, et al. Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and infectivity. *Science*. 2020 Nov 13; 370 (6518): 856-860. doi:10.1126/science.abd2985
3. Cai H, Reed RR. Cloning and characterization of neuropilin-1-interacting protein: a PSD-95/Dlg/ZO-1 domain-containing protein that interacts with the cytoplasmic domain of neuropilin-1. *J Neurosci*. 1999 Aug 1;19(15):6519-27. doi:10.1523/JNEUROSCI.19-15-06519.
4. Hashemi SMA, Thijssen M, et al. Human gene polymorphisms and their possible impact on the clinical outcome of SARS-CoV-2 infection. *Arch Virol*. 2021 Aug;166(8):2089-2108 doi: 10.1007/s00705-021-05070-6.
5. Agúndez JA, García-Martín E, et al. Heme oxygenase-1 and 2 common genetic variants and risk for multiple sclerosis. *Scientific Reports*. 2016 Feb;6:20830. doi:10.1038/srep20830.
6. Cao S, Yaqoob U, et al. Neuropilin-1 promotes cirrhosis of the rodent and human liver by enhancing PDGF/TGF-beta signaling in hepatic stellate cells. *J Clin Invest*. 2010 Jul; 120(7):2379-94. doi: 10.1172/JCI41203.

Анализ роли генетического варианта с.1320+1G>A гена CDH1 в развитии рака желудка

Масалимова М.Д., Нурғалиева А.Х.

Башкирский государственный университет

Рак желудка представляет собой тяжелое злокачественное поражение эпителия слизистой оболочки органа. В мире он занимает пятое место по распространенности среди всех онкологических заболеваний и четвертое место среди причин смертности от злокачественных опухолей. Исходя из данных ВОЗ в 2020 году во всем мире насчитывалось примерно 1,09 млн новых случаев рака желудка (Ferlay J, Ervik M, Lam F, Colombet M, Mery L, Piñeros M, 2020). В России заболеваемость РЖ у лиц обоих полов составляет 21,89 на 100000 населения, смертность – 18,03 на 100000. Наибольшее число случаев болезни диагностируется в возрасте 60–70 лет (Каприн А.Д., Старинский В.В, Шахзадова А.О., 2021).

Большинство исследований РЖ были сосредоточены на семейных случаях и связанных с ней генетических мутациях. CDH1 является основным пораженным геном в диффузном раке желудка, как на соматическом, так и на зародышевом уровне. Мутации зародышевой линии CDH1, включая LOH, точечные мутации и гиперметилирование обнаружены в 29% случаях РЖ без семейной истории. Те пациенты, у кого обнаружены структурные повреждения гена CDH1, имеют более низкую выживаемость (Nakkaart C., 2019). Ранее сотрудниками кафедры генетики и фундаментальной медицины БашГУ в опухолевой ткани одного пациента с РЖ был выявлен патогенный генетический вариант с.1320+1G>A гена CDH1. Согласно предсказательным базам данных, данная однонуклеотидная замена является патогенной.

Целью исследования является анализ распространенности генетического варианта с.1320+1G>A гена CDH1 в расширенных выборках больных раком желудка и здоровых доноров из Республики Башкортостан.

Нами проведен поиск изменений нуклеотидной последовательности участка ДНК, содержащего вариант с.1320+1G>A гена CDH1, у больных раком желудка и здоровых доноров из Республики Башкортостан. В исследование были включены образцы ДНК, выделенные из венозной крови, 300 пациентов с диагнозом «рак желудка» и 285 здоровых индивидов, также образцы ДНК, выделенные из опухолевой и прилежащей к ней гистологически нормальной ткани (48 больных РЖ), лечащихся в ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер» г. Уфа РБ. Письменное информированное согласие было получено от всех участников, включенных в исследование.

С помощью HRM-анализа было выявлено изменение нуклеотидной последовательности участка ДНК, содержащего вариант с.1320+1G>A гена CDH1, у одного больного с РЖ. Пациентом являлась женщина, с установленным диагнозом “рак желудка” в возрасте 72 года. Послеоперационное гистологическое исследование показало высокодифференцированную аденокарциному рака желудка, что позволяет классифицировать у пациентки интестинальный тип РЖ.

Таким образом, частота встречаемости генотипа GA по исследуемому локусу в нашей выборке больных РЖ составила 0,3%, мутантного аллеля А – 0,2%. У здоровых доноров данная мутация не выявлена.

Исследование выполнено при поддержке «Государственное задание Министерства науки и высшего образования РФ №075-03-2021-193/5»

Литература

1. Каприн А.Д., Старинский В.В, Шахзадова А.О. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность) – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, – 2021. – илл. – 252 с.

2. Ferlay J, Ervik M, Lam F, Colombet M, Mery L, Piñeros M, et al. Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2020 – [Электронный ресурс]: URL: <https://gco.iarc.fr/today> (дата обращения: 22.05.2022)

3. Hakkaart C. et al. Germline CDH1 mutations are a significant contributor to the high frequency of early-onset diffuse gastric cancer cases in New Zealand Māori //Familial cancer. – 2019. – T. 18. – №. 1. – C. 83-90.

Сравнение действия наночастиц диоксида титана в разных формах на рост корней кресс-салата

Мукасева Е.Ю., Шарипова М.Ю.

Башкирский государственный университет

Диоксид титана благодаря своим физико-химическим свойствам находит широкое применение: в производстве пигментов, оптических материалов, фотокатализаторов (Шабанова, Н.А., 2006). Известно существование двух различных форм диоксида титана – рутила и анатаза. Физические свойства двух форм различны: рутил обычно имеет темно-красный цвет, анатаз выглядит как синевато-серый или бесцветный минерал.

Различие в физических и поверхностных свойствах, кристаллической фазе позволяют иметь различия в токсических свойствах. На сегодняшний день существует противоречивая информация о негативных влияниях разных кристаллических форм наночастиц TiO₂. Исследования показали, что анатазная структура TiO₂ в 100 раз более токсична, чем рутильная форма (Xu, Y., 2014, Smith, M.A. 2014). В исследованиях других авторов выявлено, что анатаз обладает более цитотоксическим эффектом, чем рутил (Antisari L. V. 2018). В последние годы появились данные об одинаковом эффекте влияния двух различных форм диоксида титана (Xu, Y. 2017). Поэтому возникает необходимость изучения влияния различных форм диоксида титана на рост корней растений.

Мы изучали влияние различных форм диоксида титана (рутила и анатаза) на рост кресс-салата. Влияние наночастиц рутила и анатаза на рост корней *Lepidium sativum* исследовали в лабораторных условиях (Мукасева, Е.Ю. Шарипова М.Ю., 2021). Исходя из полученных данных, можно сделать вывод об изменении роста корня при обработке семян наночастицами диоксида титана в форме рутила и анатаза.

Обработка семян кресс-салата диоксидом титана в форме рутила при концентрации 50 мг/л и 100 мг/л не оказывает достоверно значимого влияния на рост корня по сравнению с контрольным образцом. Обработка анатазом в концентрации 50 мг/л приводит к замедлению роста корня уже на третьи сутки эксперимента, а при концентрации 100 мг/л приводит к замедлению роста корня уже на более ранних сроках эксперимента.

Обработка семян кресс-салата диоксидом титана в форме рутила при концентрации 150 мг/л оказывает достоверное значимое влияние на рост корня по сравнению с контролем на 3-5 сутки эксперимента. Обработка анатазом в этой концентрации приводит к замедлению роста корня уже на вторые сутки эксперимента. Длина корня с этого момента практически не изменяется, т.е. рост прекращается. Прекращения роста не наблюдается после обработки семян в более низких концентрациях диоксида титана.

Исходя из вышеизложенного следует, что влияние различных форм диоксида титана на рост корней кресс-салата имеет различия. Анатазная форма при влиянии на рост корней кресс-салата показала более высокое значение токсического действия, чем рутильная форма диоксида титана.

Литература

1. Мукасева, Е.Ю. Шарипова М.Ю. Оценка токсического действия наночастиц оксида титана на кресс-салат//Биология будущего: материалы конференции/ отв. Ред.. А.М. Федорова. – Уфа: РИЦ БашГУ, 2021. с.69-70
2. Шабанова, Н.А. Химия и технология нанодисперсных оксидов/Н.А. Шабанова, В.В. Попов, П.Д. Саркисов. – М.:ИКЦ «Академкнига».2006. 309 с.
3. Antisari L. V. Engineered nanoparticles effects in soil-plant system: Basil (*Ocimum basilicum* L.) study case / L. V. Antisari, S. Carbone, S. Bosi, A. Gatti, G. Dinelli // Applied soil ecology. 2018. V. 123. P. 551-560.
4. Smith, M.A. Anatase titanium dioxide nanoparticles in mice: evidence for induced structural and functional sperm defects after short-, but not long-, term exposure/ M.A. Smith, R. Michael, R.G. Aravindan, et al. //Asian J. Androl. 2014. V. 17, № 2. P. 261–268.

5. Xu, Y. Cell-based cytotoxicity assays for engineered nanomaterials safety screening: exposure of adipose derived stromal cells to titanium dioxide nanoparticles/ Y. Xu, M. Hadjiargyrou, M. Rafailovich, T. Mironava //J. Nanobiotechnology.2017.V.15, № 1.P.50.

6. Xu, Y. Exposure to silica nanoparticles causes reversible damage of the spermatogenic process in mice / Y. Xu, N. Wang, Y. Yu, Y. Li, Y-B. Li, Y-B. Yu et al. // PLoS One. 2014. V. 9, № 7.

Особенности распределения тяжелых металлов в донных отложениях реки Урал и ее правого притока реки Худолаз (Челябинская область)

Мустакимова Д.И.

Башкирский государственный университет

Территория Южного Урала является в геохимическом отношении уникальной и имеет немаловажную значимость в области горнорудного производства не только Республики Башкортостан (РБ), но и России. В течение многих лет данный регион славился добычей и обогащением полиметаллических руд и, как следствие, последующим загрязнением наиболее опасными для поверхностных водных экосистем тяжелыми металлами (ТМ) (Сомов, 2018).

Одним из крупных водных объектов данного региона является река Урал, которая берёт начало в хребте Уралтау (Южный Урал), протекает по территориям Башкортостана, Челябинской и Оренбургской областей, Казахстана и впадает в Каспийское море. Верхний участок р. Урал включает притоки рек Большой и Малый Кизил, Худолаз, Таналык, в пределах которых основными источниками экологических опасностей являются предприятия горнорудной промышленности и аграрного сектора (Чибилёв, 2008).

После попадания различными путями в водный объект ТМ сорбируются, осаждаются, переходя из водной фазы в твердый скелет взвесей и донных отложений (ДО), осаждаются в виде труднорастворимых соединений и снова переходят в водный раствор.

В работах, по эколого-геохимической оценке, состояния водных объектов большое значение уделяется анализу депонирующих сред к одной из которых ДО. Загрязняющие вещества накапливаются в виде ДО, которые в свою очередь являются источниками вторичного загрязнения водоемов (Галатова, 2007).

Цель исследования оценка содержания тяжелых металлов (Cu, Zn, Fe, Ni, Mn, Pb, Co) в донных отложениях рек Урал и Худолаз.

Исследования проводились в летний период 2021 г. на территории Челябинской области в окрестностях сельского поселения Кизильское. Пробные площадки располагались следующим образом: ПП1 – Урал (1 км до впадения р. Худолаз в р. Урал), ПП2 – Худолаз (1 км до впадения р. Худолаз в р. Урал), ПП3 – слияние р. Урал и р. Худолаз, ПП4 – 1 км после слияния двух рек.

Отбор проб ДО проводился в соответствии с ГОСТ 17.1.5.01 (гигиенические нормативы, 2006). Пробу массой 300 г отбирали из слоя ила 0-10 см с помощью дночерпателя в пластиковые сосуды, высушивали при комнатной температуре и просеивали через сито $d=0,25$ мм.

Уровень техногенного загрязнения ДО реки оценивали с использованием суммарного показателя загрязнения (Z_c). Вычисляется по формуле: $Z_c = \sum K_c - (n-1)$, где $K_c = C_i/C_{ф}$ - коэффициенты концентрации отдельных компонентов загрязнения, n - число загрязняющих веществ. Степени загрязнения при $СПЗ \leq 8$ - слабая, $8 \leq СПЗ \leq 16$ - допустимая, $16 \leq СПЗ \leq 32$ - умеренно опасная, $32 \leq СПЗ \leq 128$ - опасная, $СПЗ \geq 120$ - чрезвычайно опасная (Опекунова, 2012).

Содержание тяжелых металлов (Cu, Zn, Fe, Ni, Mn, Pb, Co) в ДО определяли методом атомной абсорбции, сравнительный анализ проводился с геохимическими фоновыми концентрациями ТМ по М.Г. Опекуновой (Опекунова, 2012): для Cu – 4; Zn – 20; Fe - 3800; Ni - 20; Mn - 1100; Co - 0,1; Pb - 9 (мг/кг).

Полученные результаты исследования свидетельствуют о повышенном содержании, изучаемых металлов в ДО во всех пунктах отбора. Концентрация Cu во всех пробных площадках превышает значения геохимического фона в 4,3- 24 раза, Zn в 8,5 - 127,8 раз, Co в 211-298 раз. Содержание Fe, Pb превышают значения геохимического фона в незначительные разы от 1,1-1,8 раза. Отмечено, что содержание Mn не превышает значений геохимического фона во всех пробных площадках, за исключением незначительного превышения в ПП2 (1,4 ПДК).

По суммарному показателю загрязнения изучаемые ДО относятся к чрезвычайно опасной категории ($Z_c = 224 \div 450$).

Резюмируя вышеизложенное можно констатировать, что тяжелые металлы в донных отложениях р. Урал и Худолаз распределены неравномерно. Выявлены высокие концентрации Co, Zn, Cu. Локальная зона повышенного содержания металлов находится в ПП2 (1 км до впадения р. Худолаз в р. Урал).

Высокое содержание тяжелых металлов в донных отложениях объясняется тем, что максимальная концентрация промышленных предприятий характерна для верхнего и среднего течения р. Урал и ее притоков. Так, к примеру, на значительном протяжении р. Худолаз загрязняется шахтными и подотвальными водами объектов Сибайского филиала Учалинского ГОК, что свидетельствует о сильной техногенной нагрузке. В связи с этим возникает необходимость регулярного отслеживания концентрации тяжелых металлов в донных отложениях, а также разработка и проведение природоохранных мер.

Литература

1. Галатова Е.А. Особенности накопления и распределения тяжелых металлов в системе вода-донные отложения-гидробионты: на примере реки Уй: Автореф. дис. канд.биол.наук. Троицк, 2007. 22 с.

2. Опекунов А.Ю. Экологическая седиментология: учеб. пособие. – СПб.: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2012. 224 с.

3. Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в почве: Гигиенические нормативы. - М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2006. 15 с.

4. Сомов В.В. Миграция и аккумуляция тяжелых металлов в природных и антропогенно преобразованных ландшафтах Башкирского Зауралья // Дис.канд. геогр. н. - СПб, 2018. 131 с.

5. Чибилёв А.А. Бассейн Урала: история, география, экология. Екатеринбург: УрО РАН, 2008.410 с.

Воздействие систем теплообеспечения на состояние атмосферного воздуха на примере города Янаул Республики Башкортостан

Мухутдинова З.Б.

Башкирский государственный университет

Любое проявление человеческой деятельности способно оказывать негативное воздействие на окружающую среду. Ежедневно в атмосферу выбрасываются тонны загрязняющих веществ, которые влияют на жизнедеятельность живых организмов и планеты в целом. Наряду с автотранспортом предприятия теплообеспечения являются неотъемлемым элементом городской инфраструктуры, которые вносят существенный вклад в загрязнение атмосферного воздуха.

г. Янаул – северные ворота республики. Площадь города составляет 26 км², население – 25 109 человек (2020). Основной отраслью экономики является добыча топливно-энергетических полезных ископаемых. В районе представлены обрабатывающая промышленность и производство пищевых продуктов, химии, полиграфии, текстиля, изделий из древесины, неметаллических изделий и стройматериалов. Также широко развито сельское хозяйство [Официальный сайт администрации муниципального района Янаульский район РБ URL: <https://yanaul.bashkortostan.ru/district/>].

Основными источниками загрязняющих веществ в г. Янаул являются газообразные и жидкие вещества (96,1%), из них оксиды азота составляли 32,6%, летучие органические вещества (ЛОС) – 27,9%, оксид углерода – 20,4%, диоксид серы – 11,8%, углеводороды (без ЛОС) – 3,4%, твердые вещества – 3,9% (среднее за 1999–2012 гг.). С 2013 г. по настоящее время тенденция загрязнения окружающего воздуха снизилась. Это связано, прежде всего, с сокращением количества выбросов предприятий в связи с экономическим кризисом и установкой более совершенных очистных сооружений (Хаматдинова, 2021). Целью работы явился анализ воздействия систем теплообеспечения на состояние атмосферного воздуха на примере г. Янаул РБ. Объектом исследования являлся Янаульский филиал АО «Башкоммунэнерго». Предприятие занимается обеспечением теплоэнергией и горячей водой населения города. В котельных установлены водогрейные котлы КВ-ГМ-7.56-115Н, работающие на природном газе. В работе использовался анализ природоохранной документации предприятия: Проект нормативов предельно-допустимых выбросов загрязняющих веществ в атмосферу для Янаульского филиала АО «Башкоммунэнерго» (2018), Программа производственного экологического контроля (ПЭК) Янаульского филиала АО «Башкоммунэнерго» (2018). Расчеты рассеивания загрязняющих веществ в приземном слое атмосферы проводились с использованием унифицированной программы УПРЗА «Эколог». Согласно анализу ПЭК, производственный процесс сопровождается выбросами загрязняющих веществ различного класса опасности, которые оказывают воздействие на атмосферный воздух в районе расположения предприятия. Основными источниками выбросов загрязняющих веществ являлись организованные источники – дымовые трубы котельных. Общее количество источников – 17, из них 12 организованных и 5 неорганизованных. Суммарный валовый выброс вредных загрязняющих веществ в атмосферу составил 110,54 т/год. Всего в выбросах предприятия содержится 21 загрязняющих веществ, из них 1-го класса опасности – 1 (бенз/а/пирен), 2-го класса опасности – 5 (марганец и его соединения, бензол, дигидросульфид (сероводород), фториды газообразные, серная кислота), 3-го класса опасности – 8 (железа оксид, азота диоксид, азот оксид, углерод (сажа), сера диоксид, диметилбензол (ксилол), метилбензол (толуол), взвешенные вещества), 4-го класса опасности – 2 (углерод оксид, бензин нефтяной). Расчеты рассеивания загрязняющих веществ в приземном слое атмосферы показали, что максимальные приземные концентрации загрязняющих веществ предприятия составили менее 0,8–1 ПДК. Основными загрязняющими веществами, выбрасываемыми предприятием, являются оксиды азота и углерода.

Несмотря на выполнение предприятием требований экологического законодательства превентивный подход к экологической политике компании предполагает необходимость поиска путей уменьшения негативного воздействия на окружающую среду и разработки системы природоохранных мероприятий. Одним из технологических решений проблемы является ступенчатое сжигание топлива, которое подразумевает подачу воздуха в горелочные устройства в две ступени. В топке организуются две зоны горения: первая – когда через горелки с топливом подается воздух в количестве, меньшем стехиометрического, а во второй зоне вводится остальное количество воздуха, необходимое для дожигания продуктов неполного сгорания из первой зоны. Благодаря этому в начале факела уменьшается образование окислов азота из-за пониженной концентрации кислорода, а на второй стадии происходит уменьшение за счет снижения температурного уровня. При использовании данного метода возможно уменьшение выбросов NOx почти в 2 раза (Дорогутина, 2017).

Дополнительный эффект может обеспечить замена старых котлов на современные. Например, водогрейные котлы ТУРБОТЕРМ, разрабатываемые и внедряемые Промышленной Группой РЭМЭКС, предназначены для работы на газообразном и жидком топливе (в том числе на мазуте различных марок). Котлы обеспечивают нормируемый КПД в 92% при работе на газе и 87% при работе на мазуте. Снижение выбросов будет достигаться за счет уменьшения удельного потребления природного газа на единицу отпускаемого тепла от котельных [Техническое описание, 2005 URL: http://turboterm.r52.ru/netcat_files/416/712/Rukovodstvo_po_proektirovaniyu__montazhu_i_servisnomu_obslyzhivaniyu.pdf].

Внедрение новых технологий на любом предприятии является затратным, однако их реализация может осуществляться поэтапно. Обеспечивая теплом население города, котельные установки являются источниками выбросов, в составе которых наиболее существенными являются оксиды азота и углерода. Данные химические соединения оказывают пагубное воздействие как на животных и человека, так и на растительный мир. Развиваются болезни легких и сердечно-сосудистой системы, погибают урожаи. Поэтому для защиты окружающей среды необходимо проводить инвентаризацию выбросов, не допускать превышения ПДВ. А также своевременно обслуживать оборудование, менять технологию работы или искать новые методы сокращения негативного воздействия на окружающую среду.

Литература

1. Дорогутина А.О., Кузнецов В.А., Пуртова Е.Е. Оценка эффективности процессов минимизации воздействия на состояние окружающей среды выбросов котельных установок АО "Сибур Химпром". Успехи в химии и химической технологии. 2017. Т. 31. № 2(183). С. 17-19.
2. Программа производственного экологического контроля (ПЭК) Янаульского филиала АО «Башкоммунэнерго», Янаул, 2018.
3. Проект нормативов предельно-допустимых выбросов (ПДВ) загрязняющих веществ в атмосферу для Янаульского филиала АО «Башкоммунэнерго», Янаул, 2018.
4. Хаматдинова, Д. Н. Загрязнение атмосферного воздуха в городе Янаул. Форум молодых ученых. 2021. № 6(58). С. 754-757.

Влияние нефтеперерабатывающей отрасли на окружающую среду

Назарова Ю.А.

Башкирский государственный университет

Экологические проблемы, которые имеют в настоящее время глобальный социальный характер, наиболее выражено начали проявляться в нефтеперерабатывающей отрасли, там, где огромная энерго-насыщенность предприятий, образование и выбросы вредных веществ создают не только техногенную нагрузку на окружающую среду, но и общественно-политическую напряженность в обществе.

Постоянно совершенствуются технологии, вследствие чего такие параметры как температура, давление, содержание опасных веществ, достигают критических величин. Растут мощности аппаратов, а также количество опасных веществ, которые в них находятся. Многие виды продукции нефтеперерабатывающих заводов (НПЗ) с передовой технологией, которая обеспечивает комплексную переработку сырья и состоящей из сотен позиций взрывоопасны и пожароопасны или токсичны. Все перечисленные выше особенности современных объектов нефтепереработки приводят к их потенциальной экологической опасности.

Экономическая целесообразность расположения нефтеперерабатывающих предприятий приводит к повсеместному созданию индустриальных комплексов в местах проживания населения. Важнейшей проблемой нефтедобывающей и нефтеперерабатывающей отраслей промышленности является проблема охраны производственной и окружающей среды. В связи с этим важными являются анализ влияния на среду обитания предприятий нефтеперерабатывающего комплекса.

Невосполнимый вред промышленных технологий НПЗ для окружающей среды можно описать риском, характер и масштабы которого зависят от типа и объемов, потребляемых нефти и топлива, способов их использования, уровня технологии системы безопасности и эффективности проведения работ по уменьшению загрязнений. Гигиеническая значимость этих производств очень высока так как сама нефть и процесс ее переработки включают сотни химических веществ, которые присутствуют одновременно в различных комбинациях между собой, сочетаниях с другими неблагоприятными факторами; нефть и нефтепродукты обладают комплексным воздействием на организм, то есть поступают в организм через все входные ворота; и, наконец, нефть и все ее производные, способны проникать и поражать все аспекты окружающей среды, всю среду обитания: воздух, воду, почву, трансформируются во все живые и неживые объекты в природе.

Все данные факторы в целом создают полное экологическое неблагополучие, ухудшение стандартов жизни, всех санитарно-гигиенических норм, что не может не отразиться на состоянии здоровья рабочих этих предприятий и населения регионов, где размещены объекты перерабатывающей промышленности.

Состояние здоровья людей должно быть главным показателем социальной эффективности, а создание здоровой среды обитания, которая обеспечивает социальное, физическое и психическое благополучие человека, должно стать главной задачей дальнейшего развития общества.

Опасные химические вещества, содержащиеся в составе сточных вод

Назарова Ю.А.

Башкирский государственный университет

Согласно Федеральному закону Российской Федерации (Общему техническому регламенту) «О водоотведении» опасными загрязняющими веществами называются вещества или группы веществ, являющиеся по соответствующим классификациям токсичными, канцерогенными, мутагенными, тератогенными, аккумулирующимися в живых организмах или обладающие иными свойствами, которые через водную среду могут отрицательно влиять на любую жизненную функцию живых организмов.

Водные объекты, являясь важным естественным элементом среды обитания человека, прямо и косвенно влияют на его здоровье, влияя на условия его жизни.

Сбросы сточных вод не должны ухудшать условия жизни населения и представлять угрозу для их здоровья. Расчетная методика определения условий сброса сточных вод в водоем основана на данных о начальном состоянии водоема, расстоянии от места сброса до первой точки использования воды и гигиенических требованиях к качеству воды в этом пункте.

Расчет условий сброса сточных вод производится:

1. По общесанитарным показателям (БПК; O₂; щелочность; химические вещества, лимитирующий показатель которых общесанитарный).
2. По органолептическим показателям (окраска; химические вещества, лимитирующий показатель которых органолептический).
3. По токсикологическим показателям (химические вещества, лимитирующий показатель которых токсикологический).
4. По взвешенным веществам (фоновые показатели качества воды, гидрологическая характеристика водоема, категория использования водоема ниже по течению)
5. По сравнительной оценке, проектных данных.

Все математические расчеты условий слива сточных вод в водоемы основаны на следующем правиле: для соблюдения гигиенических требований к качеству воды в водоеме необходимо, чтобы при сбросе сточных вод в водоем, общее загрязнение по каждому показателю не превышало допустимого содержания, установленного Санитарными Правилами и Нормами охраны поверхностных вод от загрязнения (СанПиН № 4630-88), во всем объеме воды, протекающей через створ, расположенный на один километре выше пункта водопользования.

Изменения показателей крови экспериментальных крыс после введения полного адьюванта Фрейнда

Назмутдинов Б.Р., Мусин И.Ф.

Башкирский государственный университет

Ревматоидный артрит (РА) - это хроническое аутоиммунное заболевание, которое характеризуется тяжелым поражением суставов (Joseph et al., 2010). Статистика свидетельствует, что РА болеет около 1% взрослого населения планеты и около 1 миллиона населения в Российской Федерации (Зинчук, Амирджанова, 2014). Частота встречаемости заболевания увеличивается с возрастом, причем установлено, что женщины подвержены заболеванию в 3 раза больше, чем мужчины. Механизмы воспалительных процессов, развивающихся при РА хорошо изучены. При заболевании постепенно разрушаются ткани суставов, происходит повышение уровня медиаторов воспаления, гиперплазия клеточных элементов синовиальной оболочки, синовит, прогрессирующая деструкция хрящевой ткани и разрушение костной ткани (Мужикян и др., 2018). В последние годы медиками и биологами активно разрабатываются различные методы лечебных мероприятий для борьбы с этим заболеванием. При этом используются различные экспериментальные модели на животных, в том числе и модель адьювантного артрита. В лабораторных условиях необходима возможность быстрой оценки активности заболевания, его прогноза, принятия решения о назначении базисных препаратов и контроля лечения. Для этого используют обычно несколько клинико-лабораторных маркеров. Наиболее доступным и быстрым методом мы посчитали проведение общего анализа крови. Цель нашего исследования - выявление ключевых моментов в изменении отдельных показателей общего анализа крови экспериментальных крыс при адьювантном артрите.

Эксперимент выполняли на самках белых беспородных крыс массой 200-220 г (n=10). Животных содержали в стандартных условиях, согласно Директиве 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях и в соответствии с Санитарно-эпидемиологическими требованиями к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) (СП 2.2.1.3218-17; утв. постановлением Главного государственного санитарного врача РФ № 41 от 29 августа 2014 г.). Для моделирования ревматоидного артрита 5 крысам в плантарную поверхность задней лапы вводили полный адьювант Фрейнда (complete Freund adjuvant (CFA) производства Sigma-Aldrich в объеме 100 мкл (Миронов, 2012). Контрольной группой служили 5 интактных крыс. На 30 сутки, применяя эфирный наркоз, забирали у животных кровь. Общий анализ крови проводили на гематологическом анализаторе SYSMEX XS 1000i (Япония). Полученные результаты исследования обрабатывали с применением непараметрического критерия Манна-Уитни (Бенержи, 2007; Реброва, 2002).

На 2-й день после инъекции полного адьюванта Фрейнда в лапках крыс опытной группы возникала региональная воспалительная реакция, которая нарастала к 3-му дню и проявлялась в виде покраснения, болезненности при пальпации и отека лапки. К концу месяца эксперимента у животных с моделированным адьювантным артритом выявлялись признаки генерализации процесса с формированием вторичных изменений в виде усиления и распространения отека на вышележащие суставы. Сравнение полученных результатов исследования крови экспериментальных крыс показало следующее. В опытной группе уровень содержания лейкоцитов был примерно вдвое и значимо (6.2×10^9 г/л, $p < 0.001$) выше, чем в контрольной интактной группе (11.7×10^9 г/л). Уровень содержания палочкоядерных нейтрофилов в опытной группе также оказался в разы и значимо (6% , $p < 0.001$) выше, чем в контрольной группе (1%). Уровень содержания сегментоядерных нейтрофилов в контрольной интактной группе значимо (49% , $p < 0.001$) ниже, чем в опытной (75%). Уровень содержания лимфоцитов в интактной группе оказался значимо (39% , $p < 0.001$) выше, чем в контрольной группе ($12,5\%$). Уровень содержания моноцитов (Мо) в

интактной группе был значимо выше, чем в контрольной группе (2.2%, $p < 0.02$). Уровень содержания эозинофилов (Эо) в опытной группе оказался ниже, чем в контрольной группе, но незначимо ($1.5 \text{ p} > 0.13$) из-за высокой внутригрупповой вариации в интактной группе. Численность эритроцитов (Эр) в интактной группе оказалась значимо выше (4.77×10^9 г/л, < 0.0001) чем в опытной группе (3.77×10^9 г/л, $p < 0.0002$). В принципе то же самое имело место и в отношении содержания гемоглобина (Hgb). В интактной группе содержание гемоглобина оказалось значимо выше (134 г/л, $p < 0.001$), чем в контрольной группе (120 г/л). При всех вышеперечисленных изменениях параметров белой и красной крови на фоне выраженного воспалительного процесса, фиксируемого ростом общей численности лейкоцитов, показатель СОЭ оставался стабильным у животных опытной группы.

Таким образом, введение животным полного адьюванта Фрейнда, представляющего собой эмульсию «вода в масле» и содержащей термически инактивированные *M. tuberculosis*, сопровождается развитием адьювантного артрита, сопровождающееся значимым увеличением общего числа лейкоцитов в крови, падением количества эритроцитов и гемоглобина, изменением формулы крови в виде повышения % сегментоядерных и палочкоядерных лейкоцитов, числа лимфоцитов и понижения моноцитов. Полученные результаты исследования могут служить основой для выбора определенного методического подхода для фармакологической оценки эффективности препаратов для лечения ревматоидного артрита.

Литература

1. Бенержи А. Медицинская статистика понятным языком. М.: Практическая медицина. 2007. 287с.
2. Зинчук И. Ю., Амирджанова В. Н. Социальное бремя ревматоидного артрита. Научно-практическая ревматология. 2014. № 3. Т. 52. С. 331–335.
3. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А.Н. Миронов, Н.Д. Бунятян, А.Н. Васильев с соавт. — Часть первая. — М.: Гриф и К. 2012. С. 751.
4. Мужикян А.А., Шекунова Е.В., Кашкин В.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Гистологическая оценка патологических изменений суставов при различных способах индукции хронического артрита у крыс. Лабораторные животные для научных исследований. 2018. № 1. С.32-45.
5. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: МедиаСфера. 2002. 312 с.
6. Joseph A., Brasington R., Kahl L., Ranganathan P., Cheng T. P., Atkinson J. Immunologic rheumatic disorders. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010. Т. 125. № 2. P. 204–215.
7. Scott D. L., Wolfe F., Huizinga T. W. Rheumatoid arthritis. *Lancet.* 2010. Т. 376, 9746. P. 1094–1108.

Биоинформатика в онкологии

Нигматуллина Н.В., Нургалиева А. Х.

Башкирский государственный университет

Современные диагностические методы, используемые в онкологии, предполагают образование большого массива данных. Ключевой проблемой на сегодняшний день является выбор правильного способа обработки базы данных пациентов с онкологическими заболеваниями. За последние несколько десятилетий было разработано множество альтернативных подходов. Целью данной работы был биоинформатический анализ данных полногеномного секвенирования экзома.

Использованы данные секвенирования экзома 9 пациентов с раком желудка. Все последовательности (риды) выровнены на референсный геном с использованием программы Burrows-Wheeler Alignment (BWA) (Li et al., 2009). В качестве референсной использовалась последовательность генома человека (Genome Reference Consortium Human Build 37 (GRCh37-hg19)). Коллинг вариантов осуществляли с помощью The Genome Analysis Tool Kit (GATK) (DePristo et al., 2011).

Для обеспечения надежности и точности последующего анализа были предприняты следующие шаги по первичной обработке данных:

- Удалены риды с высоким однообразием нуклеотидного состава (10%, 9 пн);
- Удалены риды, представляющие собой контаминацию адаптерами (не менее 15 пн совпадения, не более 3 пн несовпадения);
- Удалены дублицированные риды (пары прочтений, которые полностью совпадают).

Все риды после первичной фильтрации были выровнены относительно референсной последовательности. Если один рид мог быть выровнен относительно нескольких позиций в геноме, лишь одна из них была учтена.

С целью поиска SNV вариаций генома было проведено выравнивание полученной последовательности и референсного генома.

В целях выявления SNV была применена следующая фильтрация:

- Исключены SNV с $Q < 20$;
- Исключены SNV, прочтенные менее чем 10 ридами;
- Исключены SNV, расположенные на расстоянии ≤ 5 пн от края рида;
- Исключены риды в повторяющихся участках генома.

В результате полного экзомного секвенирования образцов ДНК, выделенных из опухолевой и прилегающей к ней нормальной ткани желудка больных РЖ, на один образец в среднем выявлено 33 205 изменений нуклеотидной последовательности в опухолевой ткани, 33 070 – в нормальной ткани. При этом более половины этих изменений были аннотированы, как расположенные в интронных или 3', 5'- нетранслируемых областях.

При анализе функциональной значимости выявленных генетических вариантов в образцах ДНК из нормальной ткани установлено, что 0,54% являются изменениями, приводящими к образованию или элиминации стоп-кодонов (0,51% – «stop gain», 0,03% – «stop loss»), 1,13% – изменениями, приводящими к сдвигу рамки считывания, 49,35% – синонимичными заменами, 44,97% – несинонимичными заменами, 1,49% – инсерциями и делециями, не приводящими к сдвигу рамки считывания. В образцах ДНК из опухолевой ткани большая часть выявленных нарушений также являются несинонимичными (44,75%) и синонимичными (47,67%) заменами; 0,94% – изменениями, приводящими к образованию или элиминации стоп-кодонов (0,90% – «stop gain», 0,04% – «stop loss»), 2,28% – изменениями, приводящими к сдвигу рамки считывания, 1,89% – инсерциями и делециями, не приводящими к сдвигу рамки считывания.

Таким образом, проведенная обработка позволила выявить общее количество и тип изменений в изучаемых образцах.

Исследование выполнено при поддержке «Государственное задание Министерства науки и высшего образования РФ №075-03-2021-193/5»

Сравнение действия наночастиц серы и фунгицида «Тиовит джет» на рост корней томата

Сабурова О.В., Шарипова М. Ю.

Башкирский государственный университет

В настоящее время в сельском хозяйстве в качестве удобрений благодаря ее биологическим свойствам находит применение сера. Серные частицы применяются и как средство защиты растений, удобрений и стимуляторов роста побегов и корней (Федяев В. В., 2018). Также проводятся работы с применением методик синтеза наночастиц (Massalimov I., 2016). В связи с разработкой и апробацией антимикробных свойств наночастиц серы изучение особенностей их формирования представляется особенно актуальным (Akl M. Awwad, 2015).

Исследования на клеточных культурах показывают, что при концентрации наночастиц, превышающей 100 мг/л, негативное воздействие начинает проявляться либо отсутствует вовсе. Изучение влияния наночастиц диоксида титана различных размеров продемонстрировало, что мелкие частицы по сравнению с крупными более токсичны (Асанова А.А., 2019).

Совместно с биопрепаратами в системах органического земледелия применяют фунгицид «Тиовит джет». Достоинства и недостатки «Тиовит джета» обусловлены его физико-химическими свойствами, одним из которых является его слабая токсичность.

Нами было исследовано влияние наночастиц серы и фунгицида «Тиовит джет» на длину корня томата (*Solanum lycopersicum*). Исследования проводились в лабораторных условиях. Опыт проводился в трёх повторностях для каждой концентрации наночастиц серы и тиовита. Длина корня измерялась на пяти растениях в каждой из повторностей на протяжении пяти дней эксперимента.

Измерение длины корня проростков томата также показало различие в контроле и после обработки фунгицидом «Тиовит джет». Небольшая концентрация фунгицида «Тиовит джет» (50 мг/л) способствует на 2-3 сутки эксперимента увеличению роста корня, в то время как сильная концентрация (100-150 мг/л) подавляет рост корня в 2-3 раза.

Наночастицы серы проявляют токсические свойства на рост корня даже в малой концентрации (50 мг/л). При максимальной концентрации (150 мг/л) длина корня меньше, чем в контроле в 3 раза. В результате анализа полученных данных можно говорить о негативном воздействии наночастиц серы на прорастание семян томата в концентрациях выше 100мг/л. Наиболее значительные различия отмечены в показателях длины корня.

Таким образом, в результате исследования было установлено, что наночастицы серы по сравнению с фунгицидом «Тиовит джет» обладают более токсичным воздействием на рост корней томата даже при значительно низких концентрациях.

Литература

1. Асанова А.А., Полонский В.И. Изменение ростовых показателей овса посевного *avena sativa* под воздействием наночастиц диоксида титана и кремния/ А.А. Асанова, В.И. Полонский //Вестник КрасГАУ. - 2019. - № 8 (149). - С. 3-9.

2. Федяев В. В., Фархутдинов Р. Г., Массалимов И. А., Цветков В. О., Ишмухаметов А. А., Ярмухаметова И. А., Латыпов Р. Н., Ямалеева А. А. Влияние полисульфида кальция на морфометрические и физиолого-биохимические процессы растений пшеницы/ В. В. Федяев, Р.Г. Фархутдинов, И.А. Массалимов, В.О. Цветков, А. А. Ишмухаметов, И. А. Ярмухаметова, Р. Н. Латыпов, А.А. Ямалеева. - Известия вузов: прикладная химия и биотехнология, 2018. Т. 8. №2. С. 55-62.

3. Akl M. Awwad, Nida M. Salem, Amany O. Abdeen. Phyto-chemical and Spectral Studies of Synthesis Sulfur Nanoparticles Using *Sophora japonica* Pods Extract/ Akl M. Awwad, Nida M. Salem, Amany O. Abdeen // Journal: Journal of Advances in Chemistry, 2015. V. 11. No. 3. P. 3427-3432.

4. Massalimov I., Medvedev Yu., Urakaev F., Ahmed I.S.A., Burkitbayev M., Uralbekov B. Antifungal activity of inorganic micro-and nanoparticles against pathogenic Fungi compared with some traditional organic drugs / I. Massalimov, Yu. Medvedev, F. Urakaev, I.S.A. Ahmed, M. Burkitbayev, B. Uralbekov // American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences. 2016. V. 16. Iss. 4. P. 652-662.

Генетические основы несовершенного остеогенеза

Саетова Э.Ф.¹, Надыршина Д.Д.¹, Хуснутдинова Э.К.^{1,2}

¹ Башкирский государственный университет

² Институт биохимии и генетики УНЦ РАН

На сегодняшний день большой интерес для общества представляет изучение генетической природы наследственных заболеваний и их своевременная ДНК-диагностика. Одним из таких тяжелых наследственных заболеваний является несовершенный остеогенез (НО). Больные НО характеризуются частыми переломами костей и деформациями костной системы (Byers P.H., 1997). Переломы вследствие нарушения костного метаболизма приводят к значительному снижению качества жизни больных НО, а также к повышенному риску смертности от респираторных заболеваний в результате травм (Kim O.H., 2013).

Несовершенный остеогенез наследуется по аутосомно-доминантному типу, аутосомно-рецессивному типу и встречаются случаи X-сцепленного наследования. За развитие аутосомно-доминантных форм НО отвечают гены коллагена 1 типа (COL1A1, COL1A2), ответственные его синтез, а также ген IFITM, участвующий в минерализации костной ткани. Аутосомно-рецессивный тип НО обусловлен структурными изменениями в генах SRTAP, LEPRE1, SRTAP, LEPRE1, SRTAP, PPIB, SERPINF1, FBK10, SP7/Osterix, TMEM38B, Wnt1, BMP1, которые участвуют в синтезе, транспортировке и посттрансляционных модификациях коллагена, или факторы, связанные с дифференцировкой и минерализацией костных клеток (Barnes A.M., 2006; Witecka J., 2008).

Гены, ответственные за развитие данного заболевания условно можно классифицировать на несколько групп по типу их влияния на синтез основного строительного материала опорно-двигательной системы: группа А, первичные дефекты в структуре или процессинге коллагена (COL1A1, COL1A2 и BMP1); группа В, дефекты модификации коллагена (SRTAP, LEPRE1, PPIB и TMEM38B); группа С, дефекты сворачивания и сшивания коллагена (SERPINH1, FKBP10 и PLOD2); группа D, дефекты окостенения или минерализации (IFITM5 и SERPINF1); и группа Е, дефекты развития остеобластов с недостаточностью коллагена (WNT1, CREB3L1 и SP7) (Grafe I., 2014).

Первая группа - гены, ответственные за первоначальную структуру или за процессинг коллагена (COL1A1, COL1A2 и BMP1). Гены COL1A1/ COL1A2 кодирует про-альфа1 и про-альфа-2 цепи коллагена типа I- основного структурного белка кости. Структурные изменения в этих генах встречаются у 90% пациентов с НО 1-4 типами. Ген BMP1 ответственен за процессинг коллагена (Siekierka J.J., 1989).

Вторая группа - гены, участвующие в посттрансляционной модификации. Проколлаген претерпевает несколько посттрансляционных модификаций во время синтеза, которые важны для укладки проколлагена, секреции и сборки внеклеточного матрикса и регулируются клетками, участками и во времени (Engelbert R.H., 2004).

Пролил-3 гидроксилаза 1, хрящ ассоциированный белок и пептидил-пролил цис-транс изомеразаВ (PPIB, известный также как циклофилинВ) объединяются в комплекс 1:1:1 в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР), который посттрансляционно модифицирует специфические пролиновые остатки в развернутых α цепях коллагена (Vranka et al., 2004). Эти модификации включают полное 3-гидроксилирование Pro986 остатков α 1 (I), α 1 (II) и α 2 (V) цепи коллагена, а также некоторые модифицирующие сайты в α 2 (I) (80% Pro707), α 1 (II), α 1 (V) и α 2 (V) цепи (Weis et al., 2009). Комплекс также имеет шаперонную функцию. Более того, каждый компонент комплекса является мультифункциональным белком с независимыми экстраклеточными функциями (Ishikawa et al., 2009). Интересно, что отсутствие компонентов пролил-3-гидроксилирующего комплекса повышает модификацию спирали коллагена пролил-4-гидроксилазой и лизил-гидроксилазой. Избыточная модификация спирали коллагена из-за отсутствия компонентов 3-гидроксилирующего комплекса вызывает задержку в фолдинге спирали коллагена (McMahon A.P., 1990).

Ген TMEM38B кодирует Tric-B, который образует тримерный эндоплазматический ретикулум-мембранный катионный канал, синхронизированный с инозитолтрифосфат-опосредованным высвобождением кальция. Мутации в гене TMEM38B приводит к укорочению белка. Больные НО с мутациями в этом гене страдали генерализованной остеопенией с множественными переломами длинных костей с рождения. Мутации в этом гене приводят к 4 и 14 типам НО (Venturi., 2006).

В третью группу вошли гены, связанные с дефектами сворачивания и шивкой коллагена. Пролил-пептидаза FKBP65 кодируется FKBP10, он как и СуРВ обладает PPIase активностью. FKBP65 оказывает как прямое, так и косвенное действие на проколлаген через ферменты, модифицирующие коллаген.

FKBP65 ассоциирован с лизилгидроксилазой 2 (LH2), ферментом, кодируемым PLOD2, который гидроксилирует телопептидные лизины коллагена. В кости гидроксилирование телопептидных лизинов необходимо для образования поперечных связей между молекулами коллагена для обеспечения стабильности и прочности фибрилл (Rauch F., 2007).

HSP47 представляет собой коллаген-специфический шаперон, который находится в эндоплазматическом ретикулуме и кодируется геном SERPINH1. Он имеет сайт узнавания RDEL, чтобы опосредовать перемещение белка между эндоплазматическим ретикулумом и Гольджи, и связывается только с тройным спиральным коллагеном. Он функционирует, чтобы стабилизировать свернутый коллаген и пометить его для передачи в цис-Гольджи.

Четвертая группа генов участвует в окостенении или минерализации костной ткани- это гены IFITM (ответствен за развитие 5 типа НО) и SERPINF1 (6 тип НО). Белки, синтезированные этими генами, участвуют в минерализации внеклеточного матрикса коллагена, регулируют экспрессию фактора, производного пигментного эпителия, важного коллаген-связывающего белка, регулирующего костный гомеостаз и минерализацию остеоидов, который также имеет сильные антиангиогенные функции посредством неизвестного механизма (Malfait F., 2013).

Пятую группу составляют гены, мутации в которых приводят к нарушению развития остеобластов. Три гена, участвующих в дифференцировке остеобластов, были связаны с фенотипами несовершенного остеогенеза: WNT1 (тип 15), CREB3L1 (тип 16) и SP7 (тип 12). Дефекты этих генов либо вызывают снижение экспрессии коллагена I типа. Связь этих дефектов генов с коллагеном может быть просто количественной, приводя к остеопении, которая сочетается с другими проявлениями нарушения дифференцировки остеобластов (Venturi., 2006).

Недавно выявленные гены, ответственные за развитие несовершенного остеогенеза требуют дальнейшего исследования в патогенезе заболевания. В нее включены недавно идентифицированные гены, роль которых в развитии НО была определена с помощью технологии секвенирования следующего поколения (CCDC134, FAM46A, P4HB, PLS3, SEC24, SPARC) (Kaback L.A., 2008).

Таким образом, использование новых методов идентификации нуклеотидной последовательности позволило выявить гены, важность которых для развития костей ранее не оценивалось. Сформировались знания о причинах развития аутосомно-доминантных и аутосомно-рецессивных форм заболеваний, связанных с дефектами коллагена, аномальной минерализацией костной ткани и др. Редкие типы НО побуждают пересмотреть классификацию НО и выяснить точные механизмы влияния патогенных мутаций на развитие заболевания. В настоящее время доступность NGS открывают новые перспективы для выявления всех оставшихся причин заболевания и знаменуют новый этап в диагностике несовершенного остеогенеза и его терапии.

Литература

1. Barnes A.M., Chang W., Morello R., Cabral W.A., Weis M., Eyre D.R., Leikin S. et al. Deficiency of Cartilage-Associated Protein in Recessive Lethal Osteogenesis Imperfecta. N Engl J Med. 2006 Vol. 355 P. 2757-64.

2. Byers PH, Duvic M, Atkinson M, et al. Элерса-Данлоса синдром типа VIIA и VIIB результат от сплайсинга плоскостных мутаций или геномных делеций , которые включают экзон 6 в COL1A1 и COL1A2 генов типа I коллагена . Am J Med Genet 1997; 72 : 94–105.
3. Engelbert RH, Uiterwaal CS, Gerver WJ, van der Net JJ, Pruijs HE, Helders PJ. Osteogenesis imperfecta in childhood: impairment and disability. A prospective study with 4-year follow-up. Arch Phys Med Rehabil 2004; 85: 772–78.
4. Grafe I, Yang T, Alexander S, et al. Excessive transforming growth factor- β signaling is a common mechanism in osteogenesis imperfecta. Nat Med. 2014;20(6):670-5.
5. Ishikawa, Y., Wirz, J., Vranka, J. A., Nagata, K. & Bachinger, H. P. Biochemical characterization of the prolyl 3-hydroxylase 1, cartilage-associated protein, cyclophilin B complex // J. Biol. Chem.- 2009.- Vol. 284.-P. 17641-17647.
6. Kaback LA, Soung D, Naik A, Smith N, Schwarz EM, O'Keefe RJ, et al. (January 2008). "Osterix/Sp7 regulates mesenchymal stem cell mediated endochondral ossification". Journal of Cellular Physiology. 214 (1): 173–82.
7. Kim O.H., Jin D.K., Kosaki K., Kim J.W., Cho S.Y. et al. Osteogenesis imperfecta type V: clinical and radiographic manifestations in mutation confirmed patients. Am J Med Genet A. 2013;161A:1972-1979.
8. Malfait F, Symoens S, Goemans N, et al. Helical mutations in type I collagen that affect the processing of the amino-propeptide result in an osteogenesis imperfecta/Ehlers-Danlos syndrome overlap syndrome. Orphanet J Rare Dis 2013; 8: 78.
9. McMahon AP, Moon RT. "int-1-a proto-oncogene involved in cell signalling". Development. 107 Suppl: 161–7.1990;29(6):1387–1391.
10. Rauch F, Land C, Travers R, Glorieux FH. Osteogenesis imperfecta type VI in childhood and adolescence: effects of cyclical intravenous pamidronate treatment. Bone 2007; 40: 638–44.
11. Siekierka JJ, Hung SH, Poe M, Lin CS, Sigal NH (October 1989). "A cytosolic binding protein for the immunosuppressant FK506 has peptidyl-prolyl isomerase activity but is distinct from cyclophilin". Nature. 1989. 341 (6244): 755–7.
12. Venturi G, Tedeschi E, Mottes M, et al.— Osteogenesis imperfecta: clinical, biochemical and molecular findings. Clin Genet. 2006. 70, 131-139.
13. Vranka, J. A., Sakai, L. Y. & Bächinger, H. P. Prolyl 3-hydroxylase 1, enzyme characterization and identification of a novel family of enzymes // J. Biol. Chem. 2004.- Vol. 279. - P. 23615-23621.
14. Weis, M. A. et al. Location of 3-hydroxyproline residues in collagen types, I, II, III, and V/XI implies a role in fibril supramolecular assembly // J. Biol. Chem.- 2009. Vol. 285.- P. 2580-2590.
15. Witecka J., Auguociak-Duma A.M., Kruczek A., Szydło A. Two novel COL1A1 mutations in patients with osteogenesis imperfecta (OI) affect the stability of the collagen type I triple-helix. J Appl Genet. 2008 Vol. 49(3). P. 283–295.

Анализ распространения полиморфных вариантов rs11385942 гена LZTFL1 и rs657152 гена ABO, ассоциированных с тяжелым течением COVID-19, в популяциях мегрелов и черкесов

Сахабутдинова Д.Р.¹, Екомасова Н.В.^{1,2}, Джаубермезов М.А.^{1,2}, Аксберг Д.С.¹,
Кучина Я.А.¹, Хуснутдинова Э.К.^{1,2}

¹ Башкирский государственный университет

² ИБГ УФИЦ РАН

Продолжающаяся пандемия COVID-19 оказала разрушительное воздействие на население, социальные структуры и экономический рост. Возбудитель этой вспышки был идентифицирован как недавно обнаруженный коронавирус SARS-CoV-2. Ранее была показана генетическая предрасположенность к осложнениям при COVID-19. В июне 2020 года большая международная группа ученых проанализировала геномы примерно 4000 человек из Италии и Испании и обнаружила, что локусы генов ABO и LZTFL1 и в целом кластер генов хромосомы 3 связаны с развитием респираторной недостаточности при COVID-19 (David Ellinghaus, Frauke Degenhardt, Luis Bujanda, Maria Buti, Agustín Albillos, Pietro Invernizzi, et al. The ABO blood group locus and a chromosome 3 gene cluster associate with SARS-CoV-2 respiratory failure in an Italian-Spanish genome-wide association analysis. June 2020. doi: 10.1101/2020.05.31.20114991). В сентябре 2020 года группа ученых подтвердили, что кластер генов хромосомы 3 не только связан с тяжелым течением заболевания, но и является практически основным генетическим фактором риска тяжелых симптомов при инфекции SARS-CoV-2 (COVID-19 Host Genetics Initiative. The COVID-19 Host Genetics Initiative, a global initiative to elucidate the role of host genetic factors in susceptibility and severity of the SARS-CoV-2 virus pandemic. Eur.J Hum Genet. 2020;28(6):715-718. doi:10.1038/s41431-020-0636-6).

В результате проведенного исследования было изучено распространение полиморфных вариантов rs11385942 гена LZTFL1 и rs657152 гена ABO в популяциях мегрелов и черкесов. Были определены частоты аллелей и генотипов, а также проведен сравнительный анализ распространения изучаемого полиморфного варианта между популяциями мегрелов и черкесов и популяциями мира.

Выявлено, что генотип GA/GA полиморфного варианта rs11385942 гена LZTFL1 в популяции мегрелов не встречается, генотип G/G с частотой 81,94%, а генотип G/GA с частотой 18,06%. В популяции черкесов генотип GA/GA встречается с частотой 2%, генотип G/G с частотой 88%, генотип G/GA с частотой 10%.

В результате исследования, было выявлено, что генотип A/A полиморфного варианта rs657152 гена ABO в популяции мегрелов встречается с частотой 14,3%, генотип A/C с частотой 38,8%, генотип C/C с частотой 46,9%. Генотип A/A в популяции черкесов встречается с частотой 10,1%, генотип A/C с частотой 31,9%, генотип C/C с частотой 58,0%.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-74-00104

Исследование плазмидного профиля бактерий семейства Rhizobiaceae

Солнцев В.А.

Башкирский государственный университет

Ризобиальные сообщества характеризуются многокомпонентностью генома, в котором свойства различных репликонов (плазмид или хромосомы) связаны с адаптацией к условиям среды. Исследования генетического разнообразия семейства Rhizobiaceae важно как с теоретической точки зрения, а именно как важная характеристика рекомбинативной активности штаммов, так и практически, как изобретение методов отбора и получения эффективных симбиотических организмов для использования в качестве замены азотных удобрений. В работе нами были получены плазмидные профили родов *Rhizobium*, *Ensifer*, *Sinorhizobium*. Было определен плазмидный состав для 66 гетерогенных штаммов *Rhizobium leguminosarum* (Frank 1889), полученные из клубеньков чины весенней (*Lathyrus vernus* (L.) Bernh.), 19 штаммов *Mesorhizobium* sp. из клубеньков астрагала нутового (*Astragalus cicer* L., 1753) и 16 штаммов *Ensifer meliloti* (Dangeard, 1926; Young, 2003) из клубеньков люцерны посевной (*Medicago sativa* L., 1753).

В работе использовались методы подготовки агарозных блоков, электрофоретического разделения, сравнительный метод. По результатам анализа бактерии *Rhizobium leguminosarum* характеризовались наличием от 2 до 5 плазмид размерами от 100 до 400 т.п.н., причем был выявлен штамм с высокой репликативной активностью, содержащий 12 плазмид. Плазмидные профили *Ensifer* (*Sinorhizobium*) содержат две мегаплазмиды, длиной 1100 и 1900 т.п.н. Поскольку содержание обеих мегаплазмид жизненно важно для функционирования бактерии, было выдвинуто предположение, что в нескольких образцах произошло слияние малой мегаплазмиды с хромосомой, что подтверждается в литературе (Guo, 2003). Для рода *Mesorhizobium* характерны обширные пангеномы размером в 8 м.п.н., содержащие коинтегративные островки (ICE), несущие симбиотические гены. Такие элементы обозначаются как ICESym. Данные штаммы могут содержать средних размеров плазмиды 100-400 т.п.н. У нескольких образцов были выявлены одиночные плазмиды, в одном случае 3 плазмиды, что является не характерной особенностью для *Mesorhizobium* sp.

Выводы:

1. Получены и охарактеризованы плазмидные профили 101 штамма бактерий из семейства Rhizobiaceae.
2. Количество и размер плазмид позволяет оценить рекомбинантный статус отдельных штаммов, что важно при получении генно-инженерных конструкций и их стабилизации, которые могут применяться как в научных целях, так и для практического использования.

Литература

1. Н.В. Равин. Геном прокариот / Н.В. Равин, С.В. Шестаков // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2013. –Т. 17. –№ 4/2. –С. 972-984
2. Geddes, B. A. The genomes of rhizobia / Geddes, B. A., Kearsley, J., Morton, R. et al. // *Advances in Botanical Research*. 2019 doi:10.1016/bs.abr.2019.09.014
3. Guo, X. Natural genomic design in *Sinorhizobium meliloti*: novel genomic architectures / Guo, X., Flores M., Mavingui P. et al. // *Genome Res.* – 2003. – Vol. 13. – P.1810-1817.
4. Hall J.P.J. What makes a megaplasmid? / Hall J.P.J., Botelho J., Cazares A. et al. // *Phil. Trans. R. Soc.* 2021. В 377(1842): 20200472. <https://doi.org/10.1098/rstb.2020.0472>
5. Schwartz, E. Microbial Megaplasms // *Microbiology Monographs.* – 2009. – P.91-110. doi:10.1007/978-3-540-85467-8

Создание генно-инженерных конструкций для флуоресцентного мечения бактерий

Солнцев В.А.

Башкирский государственный университет

Изучение ризобияльных бактерий сопряжено с рядом трудностей. Одной из таких проблем является необходимость детектирования определенных штаммов *Rhizobium* среди микробиоты клубенька. Поскольку традиционные методы типирования бактерий не позволяют отделить штаммы, несущие гены интереса, в естественной среде, нами предлагается использовать вставку гена флуоресцентного белка GFP (Tsien, 1998) для их идентификации. Совместная вставка гена интереса и GFP также позволяет судить об экспрессии и первого под управлением одного промотора.

Методика получения и вставки генно-инженерной конструкции на основе плазмиды pJB658 была опробована на компетентных клетках *E.coli*. Донором гена флуоресцентного белка явилась коммерчески доступная плазида pTurboGFP-B (Евроген, Россия). Известно, что данная плазида содержит репликон ColE1, что позволяет ей эффективно реплицироваться преимущественно в *E.coli*. Для того, чтобы флуоресцентный белок мог экспрессировать в клубеньковых бактериях, мы использовали плазмиду широкого круга хозяев pJB658, имеющую репликон T2. Уникальность данного репликона заключается в том, что он не принадлежит ни к одной из групп несовместимости, что позволяет ему эффективно экспрессировать во всех грамотрицательных бактериях (Antoine, Locht, 1992).

В работе применялись следующие методы исследования: методика приготовления компетентных клеток, методы ПЦР (полимеразной цепной реакции), рестрикции, лигирования ДНК, метод трансформации бактерий с применением теплового шока.

В составе плазмиды pJB658 имеется промотор P_m, индуцируемый метилбензойной кислотой. Для клонирования гена GFP нами были подобраны праймеры к этому гену. При этом передний праймер содержал сайт рестрикции NdeI. Данная рестриктаза имеет сайт рестрикции GATATG. При обработке наработанного продукта амплификации данным ферментом передняя часть фрагмента расщеплялась данной рестриктазой с образованием липкого конца. При этом последовательность ATG в сайте рестрикции совпадала со стартовым кодоном. Это было необходимо для встраивания целевого гена в рамку считывания под регуляцию промотора P_m.

Для клонирования гена GFP плазида pJB658 линеаризовывалась по сайтам NdeI и SmaI для включения целевого гена. Рестриктаза SmaI расщепляет фрагмент ДНК с образованием тупых концов. Наличие двух рестриктаз при клонировании позволяло получить направленное клонирование. С NdeI концевым участком плазмиды лигировался ПЦР-продукт тоже с NdeI концевым участком, а SmaI концевой участок вектора лигировался с необработанным концевым участком ПЦР-продукта, и поскольку при амплификации использовались полимеразы образующие тупые концы, то эти участки также имели возможность лигироваться.

Далее лигазная смесь трансформировалась в компетентные клетки *E.coli* и бактерии высевались на селективную среду с антибиотиком ампициллином. Это приводило к тому, что на среде образовывали колонии только рекомбинантные бактерии, содержащие трансформируемую плазмиду. Поиск клонов, содержащих нужную генно-инженерную конструкцию проводился с помощью ПЦР с праймерами к гену GFP. Таким образом нами были обнаружены два клон, предположительно содержащие нужные варианты конструкций.

Далее данные штаммы были проверены на способность их нарабатывать зеленый флуоресцентный белок. Поскольку ген был клонирован под регуляцию индуцируемого промотора, эксперименты проводились с использованием индуктора м-толуоловой кислоты. Концентрацию индуктора использовали 2мМ согласно литературным данным. Далее бактерии анализировались с помощью флуоресцентного микроскопа AxioImager M1

(CarlZeiss, Германия). Для детекции GFP использовали набор светофильтров №10 (полоса возбуждение BP 450 – 490, испускание BP 515 – 565).

Было обнаружено, что клетки стали нарабатывать флуоресцентный белок, но в небольших количествах. При этом видно, что бактерии формируют гранулы этого белка внутри клетки. Скорее всего, *E.coli* формируют тельца включения, чего не наблюдалось при использовании плазмиды pTurboGFP-B, который послужил донором гена флуоресцентного белка. По-видимому, отношение бактериальной клетки к рекомбинантному белку зависит также от плазмиды, в составе которой находится целевой ген, или от промотора, под управлением которого встроен ген GFP. Данное явление может быть темой для дальнейших исследований.

В дальнейшем полученная плазида может быть апробирована на штаммах клубеньковых бактерий. Хотя *E.coli* показали не очень значительные результаты по флуоресценции клеток и у них наблюдалось формирование телец включения, эти результаты могут быть отличными в клетках клубеньковых бактерий.

Выводы:

1. Получена генно-инженерная конструкция на основе плазмиды широкого круга хозяев pJB658 с геном зеленого флуоресцентного белка TurboGFP под регуляцией индуцируемого промотора P_m.

2. Показана наработка целевого белка в рекомбинантных клетках, содержащих полученную конструкцию, клетках *E.coli*.

3. Обнаружено, что целевой белок при использовании полученной конструкции формирует в клетках *E.coli* тельца включения.

Литература

1. Tsien, R. Y. (1998). The green fluorescent protein. *Annual Review of Biochemistry*, 67(1), 509–544. doi:10.1146/annurev.biochem.67.1.509

2. Ан. Х. Баймиев, Р. С. Ямиданов, Р. Т. Матниязов, Д. К. Благова, Ал. Х. Баймиев, А. В. Чемерис. Получение флуоресцентно меченных штаммов клубеньковых бактерий дикорастущих бобовых для их детекции *in vivo* И *in vitro*. / Молекулярная биология, 2011, том 45, № 6, с. 984–991

3. Lin J.J. Electrotransformation of *Agrobacterium* // *Electroporation Protocols for Microorganisms. Methods in Molecular Biology*. – 1995. –V. 47. – P. 171-178.

4. Sambrook J. Fritsch E.F., Maniatis T. *Molecular cloning: a laboratory manual*. // Cold Spring Harbor Laboratory Press. – 1989. – 479 p

5. Antoine R., Loch C. Isolation and molecular characterization of a novel broad-host-range plasmid from *Bordetella bronchiseptica* with sequence similarities to plasmids from gram-positive organisms. *Mol. Microbiol.* – 1992. – 6. – pp. 1785-1799

Анализ распространения гаплогрупп R1a-Page07 и N-M231 Y-хромосомы в популяции алтайцев

Суфьянова З.Р.¹, Екомасова Н.В.^{1,2}, Джаубермезов М.А.^{1,2}, Халикова А.А.¹, Бодрошева Н.В.¹, Хуснутдинова Э.К.^{1,2}

¹Башкирский государственный университет

²Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН

Алтайцы – тюркский коренной народ Алтая. Численность алтайцев составляет более 70 тысяч человек в России (по данным Всероссийской переписи населения 2010 года), проживающих преимущественно в Республике Алтай и Алтайском крае. Процесс формирования алтайцев, как этноса, представляется весьма сложным, на него оказали воздействие различные исторические события, географические условия и определенные социально-экономические взаимоотношения с соседними народами. В связи с этим крайне интересным является изучение этой популяции с привлечением современного, молекулярного подхода, а именно изучения генетической структуры популяции.

Наиболее информативным маркером изучения патрилинейной наследственности является нерекombинирующая часть Y-хромосомы (NRY), вследствие ряда таких особенностей как своего большого размера (в сравнении с мтДНК) и однородительского типа наследования.

Было проанализировано 70 образцов представителей популяции алтайцев. Генотипирование проводилось с помощью классических молекулярно-генетических методов. В результате исследования генетического разнообразия популяции алтайцев с использованием 29 маркеров нерекombинирующей области Y хромосомы: M9, 92R7, M207, M420, Page07, Z93, Z95, Z2125, Z2123, M558, M458, B115, M478, M269, M231, P43, TAT, CTS10760, Z1936, M346, M175, 12f2, M267, M410, YAP, M35, M130, P303, M170, было выявлено, что в популяции алтайцев с наибольшей частотой встречается гаплогруппа R1a-Page07, которой принадлежит 35,7% выборки, также с высокой частотой обнаруживается гаплогруппа N-M231 - 15,7%.

В исследуемой нами популяции алтайцев, были выявлены такие восточноевразийские линии гаплогруппы R1a-Page07, как Z2125 (17,1%), Z93 (15,7%), а также R1a-Z2123, которая встречается с достаточно низкой частотой всего 1,4%. В нашем исследовании также была обнаружена с частотой 1,4% восточноевропейская гаплогруппа R1a-M558, в то время как центральноевропейская гаплогруппа R1a-M458 не была найдена.

В результате нашей работы были выявлены линии гаплогруппы N-M231 как N-TAT и N-P43, каждая из которых встречается с частотой 5,7%, к тому же был проведен анализ маркеров CTS10760 и Z1936, определяющих линии гаплогруппы N-TAT, в результате показано, что частота гаплогруппы N-Z1936 составила 2,9%, а гаплогруппа N-CTS10760 популяции алтайцев не встречается. Также был обнаружен один образец из популяции алтайцев принадлежащий к гаплогруппе N-M231(xN-TAT, xN-P43).

Трансген *AtARL* способствует увеличению размеров клеток волосовидных корней табака при действии абиотических стресс-факторов

Тазетдинов Р.А.¹, Мусин Х.Г.²

¹ Федеральное государственное бюджетное общеобразовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный университет»

² Институт биохимии и генетики – обособленное структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук

Процесс роста органов растений на клеточном уровне делится на две перекрывающихся фазы: фаза пролиферации – увеличения числа клеток путем деления и фаза растяжения – роста клеток. Недавно было обнаружено, что гены семейства *ARGOS* контролируют рост органов увеличивая длительность фазы растяжения, благодаря чему трансгенные по этим генам растения обладали более крупными органами, нежели обычные растения. Таким образом, гены семейства *ARGOS* и в частности ген *ARGOS-LIKE (ARL)* являются потенциальными мишенями при создании трансгенных растений.

Волосовидные корни (ВК) – это корни, полученные в ходе генетической трансформации частей растения природными агробактериями вида *Agrobacterium rhizogenes* (синоним *Rhizobium rhizogenes*). ВК способны накапливать те же биологически активные вещества, что и нативные растения, потому они являются важными инструментами современной биотехнологии. В отличие от культур клеток и тканей, ВК обладают большой генетической стабильностью, способны к активному росту в безгормональных средах, накапливают большинство корнеспецифических вторичных метаболитов. Кроме того, ВК являются удобным модельным объектом для генетических исследований, поскольку они сохраняют большинство морфофизиологических характеристик нативных корней. Таким образом, создание культур ВК, содержащих ген *AtARL Arabidopsis thaliana*, является актуальной задачей. Целью данной работы было проведение морфофизиологической характеристики и микроскопического анализа трансгенных волосовидных корней табака, включающих ген *AtARL*.

Культуры ВК были созданы из листовых эксплантов двухмесячных растений при помощи *A. rhizogenes* штамма А4. Совместное культивирование листовых эксплантов и агробактерий проводили на твердой (7 г/л агара) среде МС в течение трёх суток. Была проведена предварительная селекция, для отбора наиболее активно и стабильно растущих корней. Стрессоустойчивость волосовидных корней проверяли на 3 разных стресс-условиях: засоление 150 мМ NaCl, гипертермия 32°C и загрязнение среды 100 мкМ ацетата кадмия. Для фиксации фрагментов корней использовали Фиксатор Кларка, готовили давленные препараты и измеряли размеры клеток корней в зоне растяжения с помощью сканирующего микроскопа Bio-Zero 8100 (США).

Волосовидные корни, содержащие ген *AtARL* набирали большую биомассу как при нормальных условиях культивации на твердых чашках (стандартная среда МС, 27°C), так и при действии различных стресс-факторов. ВК табака, включающие трансген *AtARL* имели более крупные клетки как при нормальных условиях (1,5 раза), так и при действии таких стрессовых факторов как засоление среды (2,3 раза) и гипертермия 32°C (1,3 раза), чем контрольные ВК без целевого гена. Стоит отметить и то, что при действии 100 мкМ ацетата кадмия трансген *AtARL* увеличивал способность клеток к делению. В контрольных линиях при действии ацетата кадмия были зафиксированы длинные клетки, превышающие по длине таковые при нормальных условиях примерно в 2,3 раза, но при этом рост самих ВК не наблюдался. Следовательно, ацетат кадмия подавлял способность клеток к делению, а ген *AtARL* оказывал защитный эффект. Таким образом, трансген *AtARL* увеличивает биомассу ВК и оказывает защитный эффект при действии засоления, гипертермии и кадмия, стимулируя рост и деление клеток корней.

Морфофункциональные особенности печени при индуцировании штамма саркомы M1

Терегулов И.И., Федорова А.М.

Башкирский государственный университет

Наномедицина, которая представляет собой применение нанотехнологий для диагностики, лечения и профилактики заболеваний, предлагает устранить недостатки традиционного лечения рака с помощью различных биосовместимых наноплатформ. Новые нанотехнологии направлены на применение в диагностике к дополнению их терапевтическим возможностям, чтобы обеспечить индивидуализированную терапию, которую можно контролировать неинвазивно и в режиме реального времени. Растущая потребность в новых терапевтических средствах привела к резкому росту разработки терапевтических средств и средств диагностики на основе наночастиц неорганического происхождения, таких как золото, кремнезем, оксид железа, медь, цинк, висмут, гадолиний и т. д. (Damasco J, Ravi S, 2020)

Саркомы являются гетерогенными и клинически сложными видами рака мягких тканей и костей. Саркомы мягких тканей и костей относительно редкая группа опухолей. Саркомы составляют 1% всех злокачественных новообразований, тем не менее в детском возрасте частота заболеваемости выше и составляет 6,5 %, занимая 5-е место по заболеваемости и смертности, и составляют важную группу вторичных злокачественных новообразований. На сегодняшний день охарактеризовано более 100 гистологических подтипов, и многие другие обнаруживаются благодаря молекулярному профилированию. Из-за их в основном агрессивного биологического поведения, относительной редкости и возникновения практически в каждой анатомической области многие подтипы сарком относятся к особенно трудно поддающимся лечению категориям. (Grünwald T, Alonso M, 2020)

Широкое применение в лечении онкологий систем доставки на основе наночастиц TiO₂ – диоксида титана обуславливает необходимость изучения свойств материала, возможных рисков, связанных с его структурой и свойствами.

Целью исследования явилось изучить морфометрические показатели печени у животных контрольной и опытных групп: крысы с вживленным штаммом онковируса саркомы M-1, per os НЧ диоксида титана, 10 мг/кг; опытная группа крыс, per os НЧ диоксида титана 10 мг/кг.

В эксперименте участвовало 20 крыс в возрасте 5-6 месяцев Non-linear albino, массой 210-350 г, поделенных случайно на группы «контроль» и «опыт». Животным контрольной группы (n=5) один раз в сутки с 1-го по 14-й день вводили перорально дистиллированную воду в объеме 1 мл. Животным опытной группы 1 (n=5) один раз в сутки вводили перорально суспензию наночастиц TiO₂ [размер 30-50 нм] в дозе 10 мг/кг. Также была группа крыс с индуцированной саркомой M1, половине из них, опытной группе 3 (n=5) вводили перорально раствор наночастиц TiO₂ [размер 30-50 нм] в дозе 10 мг/кг, и другой половине, опытной группе 4 (n=5) дистиллированную воду в объеме 1 мл. Крысы содержались в условиях вивария кафедры физиологии и общей биологии Башкирского государственного университета, характеризующийся постоянством комнатной температуры (20-22°C) и уровнем влажности. Еду и воду крысы получали ad libitum. При работе с крысами полностью соблюдались международные принципы Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным (2000 год).

Животных умерщвляли декапитацией с соблюдением основных требований к эвтаназии, изложенных в Приложении №4 к «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Образцы печени фиксировали в нейтральном 10 % формалине по Лилли, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин. Готовили серии фронтальных срезов толщиной 10–12 мкм (микротом LEICA 4RM 2145, Германия), которые окрашивали гематоксилином-эозином. Морфометрия полученных гистологических препаратов проводили при помощи светооптического микроскопа Микмед-5 (ЛОМО, Россия), камера

Levenchuk C510 (5M pixels). Для сравнения изученных параметров гепатоцитов был использован непараметрический критерий ANOVA по Краскелу Уоллису ($p < 0,001$).

При анализе гепатоцитов печени наибольшая гипертрофия клетки и ядра наблюдается при комбинированном воздействии саркомы M1 и диоксида титана в течение 14 дней, 50 мг/кг на 49,08 % и 14,97% соответственно (средняя площадь- $633,75 \pm 9,56$ мкм² и средний ЯЦО- $0,187 \pm 0,003$), у опытной группы 2 было выявлена гипертрофия клетки на 35,62 % и гипертрофия ядра 13,58% (средняя площадь- $501,22 \pm 7,96$ мкм² и средний ЯЦО- $0,184 \pm 0,004$), у опытной группы 1 обнаружена гипертрофия клетки на 21,48 % и слабая гипертрофия ядра на 2,43% (средняя площадь- $410,95 \pm 7,09$ мкм² и средний ЯЦО- $0,163 \pm 0,002$).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что низкие дозы наночастиц вызывают выраженные морфологические изменения в структуре тканей, это можно отметить как один из возможных критериев оценки влияния эндокринных дизрапторов на организм. Оценка влияния токсического эффекта наночастиц диоксида титана позволит расширить наши представления в фундаментальных исследованиях, а также дать прогнозы использования наночастиц в качестве агентов доставки лекарственных препаратов, в том числе противораковой терапии.

Литература

1. Damasco J, Ravi S, Perez J, Understanding Nanoparticle Toxicity to Direct a Safe-by-Design Approach in Cancer Nanomedicine. *Nanomaterials* (Basel). 2020 Nov; 10(11): 2186.
2. Grünwald T, Alonso M, Avnet S, Sarcoma treatment in the era of molecular medicine. *Nanomaterials* (Basel). 2020 Nov; 10(11): 2186. *EMBO Mol Med*. 2020 Nov 6; 12(11): e11131.

Исследование ассоциации полиморфного варианта rs1800795 гена интерлейкина-174 с риском развития рака желудка

Туляшева Ф.Ю.¹, Нургалиева А.Х.¹, Хуснутдинова Э.К.²

¹ ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», г. Уфа, Россия.

² Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа, Россия.

Рак желудка (РЖ) - это злокачественная опухоль, происходящая из эпителия слизистой оболочки желудка. В структуре онкологической заболеваемости Российской Федерации рак желудка занимает 6 место (5,9%), 4 ранговое место у мужчин (7,4%), 5 - у женщин (4,6%). В одной только Свердловской области в 2018 г. абсолютное число заболевших раком желудка составило 1140 человек. При этом в структуре смертности населения России от злокачественных новообразований рак желудка составляет 9,5%, что соответствует 2 ранговому месту. Смертность от рака желудка по отношению к другим онкологическим смертям находится в пропорции 1:12. Более 50% всех случаев РЖ приходится на развивающиеся страны, а 50% диагностируются в Восточной Азии.

Одним из признанных фактов риска в развитии рака желудка считается *Helicobacter Pylori*, которая чаще всего инфицирует человека в раннем возрасте. Причем частота инфицирования коррелирует с социально-экономическим статусом человека (или его семьи): то есть чем выше статус, тем реже и позже он инфицируется. Кроме того, другие инфекционные агенты вирусной природы, такие как папилломавирус и вирус Эпштейна-Барр, способны спровоцировать канцерогенез в тканях желудка.

Рак желудка характеризуется провоспалительной реакцией, важную роль в формировании предрасположенности к данному заболеванию могут играть полиморфные локусы генов интерлейкинов, в частности интерлейкина 6 (ИЛ-6). Генетические варианты rs1800595 и rs1800796 способны влиять на продукцию ИЛ-6 и опосредованной контролировать тяжесть развития той или иной патологии. Семейство цитокинов интерлейкина-6 (ИЛ-6) состоит, по крайней мере, из десяти цитокинов, включая ИЛ-6, ИЛ-11, ИЛ-27, онкостатин М, фактор ингибирования лейкемии (LIF), ИЛ-35, ИЛ-39, кардиотрофин-1, кардиотрофиноподобный цитокин (CLC) и цилиарный нейротрофический фактор. Цитокины семейства ИЛ-6 имеют общий консервативный белок gp130, передающий сигнал, и кодируемый геном IL6ST. Интерлейкины вырабатываются в ответ на повреждение инфекционной, химической или иной природы. В нормальном здоровом организме, выработка цитокинов ограничена, что позволяет избежать крайних эффектов, сопровождающихся повреждением тканей организма. То есть иммунная система содержит в себе механизмы ограничения цитокинового ответа. Большие затруднения в этом смысле появляются, если интерлейкины вырабатываются избыточно. В случае провоспалительных цитокинов это грозит неадекватно высоким уровнем воспаления, которое продолжается длительное время и активно повреждает ткани, включая слизистую желудка.

ИЛ-6 обеспечивает миграцию иммунных клеток в воспалительную зону и пролиферацию Т-лимфоцитов в очаге воспаления. Клетки Th17, продуцируя ИЛ-6, блокируют дифференцировку CD4⁺ в Treg-клетки, а изменение соотношения Th17 и Treg-клеток важно при канцерогенезе. Ген ИЛ-6 располагается в 7p21 хромосоме и включает 5 экзонов и 4 интрона. Примерно 90% геномных вариаций, сопровождающихся нарушениями транскрипции и трансляции ИЛ-6, являются следствием однонуклеотидных замен (Single Nucleotide Polymorphism, SNP). ИЛ-6 может служить в качестве ростового фактора для клеток миеломы.

В промоторе гена ИЛ-6 определены такие значимые сайты однонуклеотидных замен, как: rs1800795 (-174 G/C), rs1800796 (-572 C/G) и rs1800797 (-597 G/A).

Целью данной работы стал поиск ассоциаций полиморфного варианта rs1800795 гена интерлейкин -174 с риском развития РЖ в Республике Башкортостан (РБ). В соответствии с поставленной целью были выдвинуты следующие задачи: провести генотипирование полиморфного локуса rs1800795 гена интерлейкин -6 у больных РЖ и в контрольной группе;

провести анализ ассоциации исследованного локуса с риском развития РЖ, с учетом этнической и половой принадлежности анализируемых групп.

Материалом для исследования послужили образцы ДНК 296 пациентов с РЖ (русских – 128 человека, татар – 134 и 34 человек другой национальности) и 233 здоровых доноров (русских – 111 человек, татар – 87 и 35 человека другой национальности). ДНК была выделена из лейкоцитов периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование проводилось с помощью метода ПЦР-ПДРФ.

В распределении частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs1800795 гена интерлейкин -6 среди здоровых индивидов из РБ выявлены гендерные различия. Самым распространенным оказался генотип CG, выявленный у мужчин чаще (в 50,61% случаев), чем у женщин (в 55,38% случаев). Генотип CC у мужчин встречается чаще (в 13,41%), чем у женщин (в 6,15%), а генотипы GG наоборот у мужчин реже (35,98% случаев), чем у женщин (38,46%). Аллель C встречается у здоровых мужчин в 39,02% хромосом, а у здоровых женщин в 33,85% хромосом, аллель G чаще обнаруживается у женщин – в 66,15% хромосом, чем у мужчин – в 60,98% хромосом. Среди больных РЖ наблюдалось следующее: генотип CC выявлен у мужчин чаще (в 13,50% случаев), чем у женщин (в 9,09% случаев), генотип CG обнаруживался у мужчин реже (в 50,92% случаев), чем у женщин (в 56,82% случаев), генотип GG у мужчин и у женщин выявлен примерно с одинаковой частотой, в среднем частота встречаемости данного генотипа составила 34,8%. Если у мужчин, больных РЖ, аллель C встречается в 39,26% хромосом, то у больных женщин – в 37,88% хромосом. Аллель G у женщин с РЖ обнаруживался чаще – в 62,12% хромосом, чем у больных мужчин – в 60,74% хромосом.

В зависимости от этнического состава индивидов, входящих в группу здоровых доноров, также выявлены различия: генотип CC встречается у русских чаще (в 14,41% случаев), чем у татар (в 8,05 % случаев), как и генотип CG: у русских (в 54,95% случаев), у татар (в 49,43% случаев). А гомозиготный генотип GG встречается и у русских реже, чем у татар (30,63% и 42,53 % случаев, соответственно). Аллель C, также как и аллель T в различных этнических группах выявляются примерно с равной частотой, в среднем аллель C обнаружен на 39,63% хромосом, а аллель G на 60,37% хромосом. Среди больных также выявлены этнические различия: генотип CC у русских встречается чаще (в 14,06% случаев), чем у татар (в 10,45% случаев), а генотип CG, напротив, чаще встречается у татар (в 55,22% случаев), чем у русских (в 51,56% случаев). Генотип GG обнаружен у русских и татар почти равной частотой, в среднем с 34,35 случаев. Аллель C у русских, больных РЖ, наблюдался чаще (в 39,84% хромосом), чем у татар (в 38,06% хромосом). Аллель G, наоборот, обнаруживался реже у русских с РЖ (в 60,16% хромосом), чем у татар (в 61,94% хромосом).

Ассоциативный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs1800795 гена интерлейкин -6 между группами больных РЖ и здоровых доноров из РБ статистически значимых различий не выявил.

В результате проведенного исследования не выявлено ассоциации полиморфного варианта rs1800795 гена интерлейкин-6 с риском развития РЖ в РБ. Возможно, увеличение количества испытуемых в обеих репрезентативных выборках позволит установить значимые различия в распределении частот аллелей и генотипов изучаемого локуса между больными РЖ и здоровыми донорами.

Исследование выполнено при поддержке «Государственное задание Министерства науки и высшего образования РФ №075-03-2021-193/5»

Идентификация мутации с.254C>G (p.S85C) в гене MATR3 у пациентов с наследственной моторно-сенсорной нейропатией из Республики Башкортостан

Федерьев К.А.¹, Сайфуллина Е.В.², Хидиятова И.М.^{1,3}

¹ Башкирский государственный университет

² Башкирский государственный медицинский университет

³ Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН

Наследственные моторно-сенсорные нейропатии, НМСН (болезнь Шарко-Мари-Тута, ШМТ) – это большая клинически и генетически гетерогенная группа заболеваний, поражающих периферическую нервную систему, для которых в настоящее время известно более 90 генов, из которых более 40 было идентифицировано с помощью методов NGS (Lassuthova P. et al., 2016). Целью нашего исследования являлся поиск мутаций у пациентов с НМСН методом полного секвенирования экзома по технологии NGS (“Next Generation Sequencing”). В исследование были включены две семьи (по два больных члена из каждой семьи) с аутосомно-доминантной аксональной формой НМСН. В результате последующего биоинформатического анализа ни в одном из известных генов, ответственных за группу наследственных моторно-сенсорных нейропатий, патогенных мутаций выявлено не было. В то же время, в обеих обследованных семьях в гетерозиготном состоянии была идентифицирована одинаковая миссенс-мутация с.254C>G (p.Ser85Gly) в гене MATR3, кодирующем ядерный матричный белок матрин 3 - ДНК- и РНК-связывающий белок с разнообразными функциями в метаболизме нуклеиновых кислот, включая транскрипцию гена, ответ на повреждение ДНК, сплайсинг и деградацию РНК (Salton et al., 2010; Uemura et al., 2017). Известно, что мутация p.S85C в MATR3 приводит к другим неврологическим нозологиям – боковому амиотрофическому склерозу и аутосомно-доминантной дистальной миопатии с дисфагией (Senderek et al., 2009, Müller et al., 2014). Патогенетическая значимость мутации с.254C>G (p.Ser85Gly) в гене MATR3 была убедительно доказана Malik et al. (2018). На основании всех имеющихся данных мы предполагаем, что данная миссенс-мутация может являться основной причиной заболевания у обследованных нами больных. Для подтверждения этого предположения требуются дополнительные клинические и генетические исследования в семьях этих пациентов.

Таким образом, методом полного секвенирования экзома проведен поиск мутаций у пациентов с аутосомно-доминантной НМСН II типа из двух неродственных семей. В обеих семьях выявлена миссенс-мутация с.254C>G (p.S85C) в гене MATR3, которая, предположительно, может являться основной причиной данного заболевания.

Литература

1. Laššuthová P., Brožková D.S., Krůtová M. et al. Improving diagnosis of inherited peripheral neuropathies through gene panel analysis //Orphanet J Rare Dis. – 2016. – V/11(1): 118. Published online 2016.

2. Salton M., Lerenthal Y., Wang S.Y., et al. Involvement of matrin 3 and SFPQ/NONO in the DNA damage response //Cell Cycle. -2010. – V.9. – P.1568–1576.

3. Uemura Y., Oshima T., Yamamoto M. et al. Matrin3 binds directly to intronic pyrimidine-rich sequences and controls alternative splicing //Genes to Cells. -2017.- V.22. – P.785–798.

4. Senderek J., Garvey S.M., Krieger M. et al. Autosomal-dominant distal myopathy associated with a recurrent missense mutation in the gene encoding the nuclear matrix protein, matrin 3 //The American Journal of Human Genetics. – 2009. –V.84. – P.511–518.

5. Müller T.J., Kraja T., Stoltenburg-Didinger G. et al. Phenotype of matrin-3-related distal myopathy in 16 German patients //Ann Neurol. – 2014.- V.76(5). – P.669-80.

6. Malik A.M., Miguez R.A., Li X. et al. Matrin 3-dependent neurotoxicity is modified by nucleic acid binding and nucleocytoplasmic localization // eLife. – 2018. - 7: e35977.

Анализ распространения полиморфного варианта rs657152 гена АВ0 в популяциях аварцев, багаулинцев, лезгин и чамалинцев

Халикова А.А.¹, Екомасова Н.В.^{1,2}, Джаубермезов М.А.^{1,2}, Суфьянова З.Р.¹, Хуснутдинова Э.К.^{1,2}

¹ Башкирский государственный университет

² ИБГ УФИЦ РАН

Тяжёлый острый респираторный синдром (ТОРС, англ. SARS) — респираторное вирусное заболевание, вызываемое коронавирусом SARS-CoV (англ. Severe acute respiratory syndrome coronavirus), был впервые выявлен в Ухане, в Китае, в конце 2019 года, и, заболевание, получившее название COVID-19, быстро приобрело глобальную пандемию (Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., et al., A novel corona-virus from patients with pneumonia in China, 2019, N. Engl. J. Med., 2020, vol. 382, pp. 727—733). Среди пациентов, инфицированных вирусом SARS-CoV-2, наблюдаются значительные различия в тяжести протекания заболевания. На ранних стадиях пандемии, страны Европы столкнулись с гораздо большим количеством случаев заболевания COVID-19 и смертей, чем Восточная Азия и Россия. Механизмы, определяющие, почему у одних групп населения заболевание протекает более тяжело, а у других нет, пока плохо изучены.

Полногеномные исследования выявили несколько генов и локусов, которые увеличивают риск дыхательной недостаточности при COVID-19. Анализируя локус rs657152, расположенный в интронной области гена АВ0, ученые обнаружили, что ген АВ0, chr 9q34.2, связанный с группами крови у человека, может влиять на тяжесть протекания заболевания пациентов (Lehrer, Steven, and Peter H. Rhenstein AB0 blood groups, COVID-19 infection and mortality, Blood cells, molecules & diseases vol. 89 (2021). Аллель А полиморфного варианта rs657152 характеризуется как «аллель риска COVID-19». (Ellinghaus, D., Degenhardt, F., Vujanda, L., et. al., Genome wide association study of severe Covid-19 with respiratory failure, N. Engl. J. Med., 2020.) О важности системы групп крови АВ0 для COVID-19 сообщалось и в других исследованиях, а именно: риск дыхательной недостаточности при COVID-19 был самым высоким у пациентов с группой крови А по сравнению с другими группами, в то время как самый низкий риск был у пациентов с группой крови 0 (J. Zhao et al., “Relationship between the ABO Blood Group and the COVID-19 Susceptibility,” Clin. Infect. Dis., Aug. 2020; M. Zietz and N. P. Tatonetti, “Testing the association between blood type and COVID-19 infection, intubation, and death,” medRxiv Prepr. Serv. Heal. Sci., Apr. 2020). Защитный эффект группы крови 0, в отличие от других групп, объясняли наличием нейтрализующих антител против связанных с белками N-гликанов (A. Breiman, N. Ruvën-Clouet, and J. Le Pendu, “Harnessing the natural anti-glycan immune response to limit the transmission of enveloped viruses such as SARS-CoV-2,” PLOS Pathog., vol. 16, no. 5, p. e1008556, May 2020). Однако rs657152 напрямую не кодирует группу крови А или любую другую группу крови, что указывает на сложность, лежащую в основе этих ассоциаций, которая может быть разрешена будущими исследованиями, включающими секвенирование всего локуса АВ0 (Balanovsky O, Petrushenko V, Mirzaev K, et al. Variation of Genomic Sites Associated with Severe Covid-19 Across Populations: Global and National Patterns. Pharmgenomics Pers Med. 2021;14:1391-1402. Published 2021 Nov 4).

Целью нашего исследования было изучение распространения полиморфного варианта rs657152 гена АВ0 в некоторых популяциях Восточного Кавказа, а именно в популяциях аварцев, багаулинцев, лезгин и чамалинцев. Были подсчитаны частоты аллелей и генотипов, а также проведен сравнительный анализ распространения полиморфного варианта rs657152 гена АВ0 между изучаемыми нами популяциями и различными популяциями мира.

В результате исследования, было выявлено, что генотип А/А полиморфного варианта rs657152 гена АВ0 в популяции аварцев встречается с частотой 10%, генотип А/С с частотой 46,7%, генотип С/С с частотой 43,3%. Генотип А/А в популяции багаулинцев встречается с частотой 19,3%, генотип А/С с частотой 54,8%, генотип С/С с частотой 25,8%. В популяции лезгин генотип А/А встречается с частотой 25,7%, генотип А/С с частотой 37,1%, генотип С/С с частотой 37,1%. Генотип А/А полиморфного варианта rs657152 гена АВ0 в популяции чамалинцев встречается с частотой 28,6%, генотип А/С с частотой 48,6%, генотип С/С с частотой 22,8%. Показано отсутствие статистически значимых различий по данным распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs657152 гена АВ0 между популяциями аварцев, багаулинцев, лезгин, чамалинцев и популяций мордвы, финнов, южных азиатов. Показано наличие значимых различий по данным распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs657152 гена АВ0 между популяциями багаулинцев, лезгин, чамалинцев и популяциями Латинской Америки и Восточной Азии.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-74-00104.

Участие углеводородокисляющих микроорганизмов в деградации нефти

Хафизова Г.А.

Башкирский государственный университет

Нефть и нефтепродукты на сегодняшний день являются одними из самых распространённых загрязнителей окружающей среды. Её разливы вызывают гибель организмов, изменение свойств экосистем и их деградацию.

В почве существует огромное количество разных эколого-физиологических групп микроорганизмов, способных выполнять определенные экологические функции. Среди них есть и узкоспециализированные, например, способные к разрушению сложных многокомпонентных органических загрязнителей.

Разнообразие углеводородокисляющих микроорганизмов, объясняется высокой конкуренцией и большим количеством путей деградации различных фракций нефти (Брянская, 2014).

Микроорганизмы обладают свойством избирательного отношения к различным нефтепродуктам. Эта способность объясняется различием в структуре углеводородов, а также количеством углеродных атомов, входящих в эту структуру. В природных условиях микроорганизмы образуют консорциумы, составляя единую цепь окисления углеводородов нефти. Каждый из микроорганизмов консорциума, обладая специфичными ферментными системами, направленными на использование определенного субстрата (как самих углеводородов, так и их производных) использует данный субстрат в своем метаболизме (Тимергазина, 2012). Поэтому при совместном воздействии микроорганизмов консорциума происходит извлечение как большего количества, так и более широкого спектра нефтяных углеводородов.

Из почвенных экосистем были выделены микроорганизмы, способные к окислению нефтяных углеводородов. К самым распространенным бактериям, способных развиваться на углеводородах нефти, относятся виды р. *Pseudomonas* – грамотрицательные палочковидные бактерии с полярно расположенными жгутиками, не образующие спор. К ним относятся *Ps. longa*, *Ps. putida*, *Ps. paucimobilis*, *Ps. desmolytica*, *Ps. vesicularis*, *Ps. dacunae*, *Ps. Pelliculosa* и другие (Пунтус, 2008). Виды *Pseudomonadaceae*, распространенные в основном шахтных водах или в источниках озокеритового карьера, преимущественно используют керосин и лигроин.

Активными окислителями углеводородов являются также нокардиоподобные бактерии, объединяемые в род *Rhodococcus*. Они участвуют в ассимиляции жидких n-алканов, газообразных, ароматических углеводородов. Способность разрушать алканы имеют следующие виды рода *Rhodococcus*: *R. rubber*, *R. erithripolis*, *R. Luteus*, *R. Maris* (Нестеренко, 1985).

До 80% всех исследованных культур родов *Mortierella*, *Cunninghamella*, *Absidia* и *Mucor* проявили способность активно разрушать различные углеводороды. У видов рода *Absidia* отчетливо видна тенденция к усвоению гексадекана и жидких парафинов. Свойство окислять парафины и дизельное топливо, а также углеводороды характерно для видов *A. Corymbifera*, *A. butleri*, *A. ramosae*, *A. blakeesleana*. Штамм *A. Cylindrospora*, выделенный из почв, заливаемых нефтепродуктами, оказался наиболее активным среди всех испытанных видов разных таксонов по отношению к кристаллическому нафталину.

Доказано участие в деструкции нефтепродуктов и топлив ряда видов аспергиллов: *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. versicolor*, *A. candidus*, *A. amstelodami*, *A. repens*, *A. japonicus*, *A. Terreus*. Особенностью аспергиллов считается способность расти на средах с твердыми парафинами, чем они отличаются от различных микроорганизмов, обычно лучше усваивающих жидкие парафины. Также активно окисляется аспергиллами вторичный синтетический спирт и гексадекан.

Интересной особенностью аспергиллов является редкая способность использовать углерод циклических соединений: бензола, нафталина, ксилола. Хотя это свойственно лишь

отдельным штаммам, очень узкоспецифичным, но по сравнению со штаммами видов других родов они заметно выделяются своей активностью (Кузнецов,2006).

Способность к деструкции углеводов нефти разными штаммами дрожжей может служить характеристикой единства вида. Функция окисления алканов характерна для представителей родов *Torulopsis* и *Candida*. Виды рода *Candida*– самые распространенные деструкторы полусинтетических и синтетических смазывающе-охлаждающих жидкостей (Кошелева,2000).

Таким образом, можно сделать вывод, что почва обладает сильнейшим естественным потенциалом в области детоксикации нефтяных углеводов.

Литература

1. Брянская А.В., Ю.Е. Уварова, Н.М. Слынько, Е.А. Демидов, А.С. Розанов, С.Е. Пельтек Теоретические и практические аспекты проблемы биологического окисления углеводов микроорганизмами//Вавиловский журнал генетики и селекции. 2014. Т.18, № 4.-С.1003
2. Кошелева И.А., Балашова Н.В., ИзмалковаТ.Ю. и др. Деградация фенантрена мутантными штаммами–деструкция нафталина // Микробиология. 2000. № 6. С. 783–789.
3. Кузнецов А. Е., Градова Н. Б. Научные основы экобиотехнологии. – М.: Мир,2006. – 309 - 417 с.
4. Нестеренко О.А., Квасников Е.И., Ногина Т.М. Нокардиоподобные и коринеподобные бактерии. Киев: Наукова Думка, 1985. – 334 с.
5. Пунтус И.Ф., Филонов А.Е., Ахметов Л.И., Карпов А.В., Боронин А.М.Деградация фенантрена бактериями родов *Pseudomonasi* *Burkholderia* в модельных почвенных системах // Микробиология, 2008. - №1. – С. 11-20.
6. Тимергазина И.Ф., Переходова Л.С. К проблеме биологического окисления нефти и нефтепродуктов углеводородокисляющими микроорганизмами // Нефтегазовая геология. Теория и практика. 2012. Т. 7. № 1.С. 35–39.

Скрининг мутаций 185delAG/3875del4 в гене BRCA1 у больных с раком желудка

Шаехова Н.Р.

Башкирский государственный университет

Рак желудка остается распространенным заболеванием с очень плохим прогнозом. В глобальном масштабе более 700 000 человек ежегодно умирают от РЖ (Torre L.A., 2012). Большинство больных раком желудка умирают, несмотря на агрессивное мультимодальное лечение. В целом это объясняется тем, что большинство случаев рака желудка выявляются на поздней стадии. Это диктует необходимость разработки мер, направленных на профилактику и раннюю диагностику заболевания (Arnold M., 2014).

Рак желудка развивается в результате взаимного действия факторов окружающей среды и накоплением специфических генетических изменений. Несмотря на устойчивую тенденцию снижения смертности от рака желудка во всем мире, профилактика должна оставаться приоритетной задачей. Первичная профилактика включает здоровую диету, отсутствие инфекции *H. pylori*, химиопрофилактику и скрининг для раннего выявления злокачественных опухолей желудка (Massarrat S., 2014).

На сегодняшний день ведется активная работа по выявлению генетических маркеров предрасположенности к раку желудка. Существует много исследований, в которых была изучена роль высокой вероятности развития РЖ с полиморфными локусами и мутациями многих генов, среди которых ген BRCA1.

Гены BRCA1 участвуют в процессах репарации ДНК клетки, регуляции клеточного цикла и защищают ее от злокачественного перерождения. Наличие мутаций в генах BRCA1 вызывает потерю функций, кодируемых этими генами, следствием чего является повышенный риск возникновения некоторых злокачественных новообразований, включая и рак желудка (Szwieć M., 2015).

BRCA1 имеет множество мутантных аллелей. Мутация 185delAG заключающаяся в делеции (утрате) двух нуклеотидов (аденина и гуанина в позиции 185), обозначается как 185delAG. Мутация 3875del4 заключается в делеции (выпадении) четырех нуклеотидов GTCT (гуанина, двух тиминов и цитозина) в позиции 3875, в результате этих мутация синтезируется белок BRCA1 с нарушенной функцией, что в итоге может увеличивать вероятность развития рака желудка, рака молочной железы и других злокачественных новообразований.

В связи с этим, было проведено исследование, цель которого заключалась в поиске мутаций 185delAG и 3875del4 в гене BRCA1 у больных РЖ из Республики Башкортостан.

Материалом для исследования послужили образцы ДНК 379 пациентов с диагнозом «рак желудка». Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической венозной крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Детекцию патогенных мутаций проводили методом ПЦР в режиме реального времени с использованием технологии TaqMan зондов на приборе Bio-Rad CFX96 в соответствии с протоколом производителя.

В результате скрининга мутация 185delAG в гене BRCA1 не была обнаружена среди пациентов с РЖ из Республики Башкортостан. Делеция 4153del4 в гене BRCA1 также не была выявлена ни у одного пациента с данной формой онкопатологии. Полученные результаты свидетельствуют о низкой частоте встречаемости мутаций 185delAG и 4153del4 в гене BRCA1 среди больных РЖ из Республики Башкортостан.

Полученные нами результаты согласуются с данными, полученными Małgorzata Ławniczak (Małgorzata L., 2016) с коллегами при исследовании мутаций в генах BRCA1 в польской популяции. Протестированные рецидивирующие мутаций BRCA1 не были обнаружены у пациентов с РЖ, что может свидетельствовать о том, что они редко встречаются у пациентов с РЖ в польской популяции.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о низкой частоте встречаемости мутаций 185delAG и 4153del4 в гене BRCA1 среди больных РЖ из Республики Башкортостан.

Литература

1. Arnold M., Moore S.P., Hassler S., Ellison-Loschmann L., Forman D., Bray F. The burden of stomach cancer in indigenous populations: a systematic review and global assessment. *Gut*. 2014; 63:64–71.
2. Torre L.A., Bray F., Siegel R.L., Ferlay J., Lortet-Tieulent J., Jemal A. *Global Cancer Statistic*, 2012.
3. Massarrat S., Stolte M. Development of gastric cancer and its prevention // *Archives of Iranian medicine*. 2014; 11:664-674.
4. Małgorzata L., Jakubowska A., Białek A., Lubiński J., Jaworska-Bieniek K., Kaczmarek K., Starzyńska T. BRCA1 founder mutations do not contribute to increased risk of gastric cancer in the Polish population // *Hered Cancer Clin Pract*. 2016.
5. Szwiec M., Jakubowska A., Górski B., Huzarski T. Tomiczek-Szwiec, Gronwald J, et al. Recurrent mutations of BRCA1 and BRCA2 in Poland: an update. *Clin Genet*. 2015; 87:288–92.

Сравнительный анализ содержания инулина в культурах волосовидных корней цикория *Cichorium intybus* L.

Швец Д.Ю.¹, Баймухаметова Э.А.², Кулуев Б.Р.^{1,2}

¹ Башкирский государственный университет

² Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН

Исследовалось содержание инулина в волосовидных корнях дикого цикория и сорта Кофеек, полученных путем трансформации штаммом А4 *Agrobacterium rhizogenes* с конструкциями pCambia 1301 и pHairyRed. В ходе проделанной работы выявлены инулин-продуцирующие линии волосовидных корней: №3 дикого цикория содержащих 2,86%, а также №6, 7, 12 цикория сорта Кофеек – содержащих 1,7% инулина на сырую массу.

Инулин – высокомолекулярный полисахарид, используемый в медицине для лечения болезни Крона, атеросклероза, а также для профилактики зоба и поддержания нормальной микрофлоры кишечника, обладая повышенной антибактериальной и противовирусной активностью к инфекциям пищеварительной системы (Roberfroid, 2007; Сербасева и др., 2020).

К основным инулин-продуцирующим растениям относятся: топинамбур, цикорий, девясил, однако на сегодняшний день производство данного сырья в России не организовано (Яницкая и др., 2012а; Nazarenko, 2013; Сербасева и др., 2020). В связи с этим интересным представляется создание культур волосовидных корней цикория и определение в них содержания инулина.

Целью работы было создание культуры волосовидных корней цикория при помощи штамма А4 *A. rhizogenes* с конструкциями pCambia, pHairyRed и анализ содержания в них инулина.

Объектом исследования служила культура hairy roots дикого цикория и сорта Кофеек, полученная трансформацией растений, выращенных в условиях *in vitro*. Количественное содержание полисахарида определяли спектрофотометрическим методом.

В результате проделанной работы методом агробактериальной трансформации листовых эксплантов с эффективностью 50 и 35,5% соответственно получены волосовидные корни цикория с генетическими конструкциями pCambia 1301 и pHairyRed. Культуры волосовидных корней характеризовались быстрым ростом на безгормональных средах, накоплением биомассы, а также отсутствием апикального доминирования. Методом количественного определения содержания инулина по разнице фруктозидов и фруктозанов (Яницкая и др., 2012б) выявлены инулин-продуцирующие линии: №3 дикого цикория – 2,86%, а также №6, 7, 12 цикория сорта Кофеек – 1,7% инулина на сырую массу. Волосовидные корни содержали в 11 раз меньше инулина, по сравнению с нативными корнями, выращенными в естественных условиях и в 3 раза меньше, чем адвентивные корни, выращенные в условиях *in vitro*. Хотя полученные результаты свидетельствуют о сниженном накоплении инулина волосовидными корнями цикория, представляется интересным проведение дальнейших работ по изучению влияния состава питательных сред и условий культивирования на содержание вторичных метаболитов.

Литература

1. Сербасева Э.Р., Якупова А.Б., Магасумова Ю.Р., Фархутдинова К.А., Ахметова Г.Р., Кулуев Б.Р. Инулин: природные источники, особенности метаболизма в растениях и практическое применение. Биомика. 2020. Т. 12. № 1. С. 57-79.
2. Яницкая А.В., Митрофанова И.Ю. Девясил высокий – перспективный источник новых лекарственных средств. Вестник ВолгГМУ. 2012а. Т. 3. № 43. С. 24-27.
3. Яницкая А.В., Митрофанова И.Ю. Исследования по стандартизации инулинсодержащего лекарственного растительного сырья и противодиабетических комплексов. Вестник ВолгГМУ. 2012б. Т. 4. № 44. С. 80-82.

4. Nazarenko M.N., Barkhatova T.V., Kozhukhova M.A., Khripko I.A., Burlakova E.V. Inulin changes in Jerusalem artichoke tubers during storage. *Scientific Journal of KubSAU*. 2013. V. 10. No. 94. P. 13-22.

5. Roberfroid M.B. Inulin-type fructans: functional food ingredients. *Journal of Nutrition*. 2007. V. 137. No. 11. P. 2493–2502.

Влияние фолликулостимулирующего гормона на поведение крыс линии Wistar в тесте «Открытое поле»

Шамсутдинова Дилара А., Шамсутдинова Динара А., Буянова А.А., Садрутдинова И.И.
Башкирский государственный университет

На формирование поведенческих реакций оказывает влияние как нервная, так и эндокринная системы. На это указывает наличие рецепторов половых гормонов в различных структурах мозга (Демидова, 2013). Половые стероиды изменяют скорость формирования нейрональных сетей, которые отвечают за развитие элементарных двигательных процессов (Сашков, 2009). Изменение в организме уровня половых гормонов может привести к нарушению работы регуляторных областей мозга и в дальнейшем к изменению поведенческих реакций. В настоящее время влияние половых гормонов на двигательную и исследовательскую активность, эмоциональное состояние изучено недостаточно.

Целью данной работы явилась оценка влияния фолликулостимулирующего гормона на поведенческие реакции крыс в тесте «Открытое поле». Опыты проводились на самках половозрелых крыс линии Wistar в возрасте 6 месяцев ($n=10$, $m=180-220$ г). Всех используемых в работе животных содержали в стандартных условиях вивария кафедры физиологии и общей биологии БашГУ. При работе с крысами полностью соблюдались международные принципы Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным (2000 год). Моделирование функциональных кист проводили путём введения препарата ГОНАЛ-ф в качестве рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (1,5 МЕ). Поведенческую активность животных оценивали на 7-е сутки эксперимента в тесте «Открытое поле» в течение 10 мин. В дальнейшем полученные данные обрабатывали с помощью пакета прикладных программ «Statistica» v.10.0 (StatSoft, США). Различия считали статистически значимыми при $p<0,05$.

В ходе эксперимента мы выявили, что число пересечённых квадратов на периферии и в центре открытого поля было больше на 43,3 % и 31,58 %, соответственно, чем в контрольной группе ($p<0,05$). В показателях латентного периода первого перемещения и времени неподвижности статистически значимых изменений не было выявлено. Число вертикальных стоек на периферии на 7-е сутки эксперимента составляло $19,5\pm 1,73$, что на 42,06 % больше, чем у контрольных крыс ($p<0,05$). Количество стоек в центре в опытной группе было на 30,77 % больше контрольного значения ($p<0,05$). Число обследованных отверстий на 7-е сутки опыта составляло $5,9\pm 0,43$, что на 38,39 % больше, чем в контрольной группе. Также нами было обнаружено изменение эмоционального статуса крыс линии Wistar. В ходе опыта мы наблюдали уменьшение как количества актов груминга, так и их длительности на 88,47 % и 61,54 %, соответственно ($p<0,05$). Также обращало на себя внимание уменьшение дефекации – её значение было на 36,37 % меньше, чем у крыс контрольной группы.

Таким образом, введение фолликулостимулирующего гормона самкам крыс линии Wistar сопровождалось достоверным увеличением двигательной и исследовательской активности при снижении эмоциональности по сравнению с контролем.

Литература

1. Демидова О.В., Рыжавский Б.Я. Влияние половых стероидов на развитие головного мозга. Дальневосточный медицинский журнал. 2013. № 2. С. 100-104.
2. Сашков В.А. Взаимосвязь уровня половых стероидов в мозге с поведением и тревожностью у самок крыс с разным гормональным статусом. Вестник новых медицинских технологий. 2009. Т. 16. № 3. С. 21-25.

Влияние холодого фактора на поведенческие параметры крыс линии Wistar
Шамсутдинова Динара А., Шамсутдинова Дилара А., Буянова А.А., Садртдинова И.И.
Башкирский государственный университет

Стресс является физиологической реакцией организма, возникающей при воздействии на него различных факторов. Одним из таких распространённых стрессоров являются низкие температуры окружающей среды, с которыми мы можем столкнуться в нашей повседневной жизни и трудовой деятельности. Большинство исследований показало возможность воздействия холодого стресса на исследовательское поведение и когнитивные функции, как у животных, так и у людей (Боуман, 2004). В последнее время многими исследователями отмечается зависимость увеличения тревожных расстройств от наличия стрессового фактора. Но, необходимо отметить, что проявление тревожного состояния зависит от продолжительности воздействия тех или иных условий среды. Как показывают многие научные работы, существуют различия в реагировании на стресс у самцов и самок. В первую очередь, эти половые различия относятся к поведенческим и физиологическим параметрам (Хаджар Эль Марзуки, 2021).

Для изучения половых особенностей поведения крыс в условиях стресса применяют тест «Открытое поле». Для данного теста используют специальную установку, представляющую собой арену белого цвета с бортом высотой 50 см и диаметром дна 1 м. Дно конструкции разделено на 3 части: центральную, промежуточную и периферическую, состоящих из нескольких секторов. Также, дно арены включает в себя небольшие отверстия, предназначенные для изучения исследовательской активности лабораторных животных. Для изучения поведенческих реакций крыс используют систему видеотрекинга и регистрируют следующие параметры: эмоциональность, ориентировочно-исследовательскую активность, двигательную активность, латентность (Бессалова, 2011).

Как показывают результаты научных исследований, влияние низких температур у самцов крыс сопровождается уменьшением числа заходов в центральную зону, увеличением времени нахождения на периферии, что объясняет уменьшение исследовательской активности животных. Заметного влияния холодого стресса на исследовательское поведение самок крыс не было выявлено, что может быть связано с сильными приспособительными возможностями женского организма (Геворкян, 2017).

По данным другой научной работы ясно, что поведенческие реакции самцов характеризуются простотой проявления из-за отсутствия у них циклических изменений в организме. Для самок же свойственны колебания уровня гормонов в ходе эстрального цикла, что может отражаться на исследовательской активности и уровне тревожности (Бессалова, 2011). В отличие от диэструс, в стадии эструс (течки) самки отличаются более выраженной двигательной активностью, большим количеством вертикальных стоек, обследованных отверстий (Ломтева, 2003).

При изучении воздействия холодого фактора на поведенческие показатели учёными было обнаружено уменьшение ориентировочно-исследовательской и двигательной активности крыс опытной группы по сравнению с контрольной группой. Но, при этом, показатели эмоциональности были значительно увеличены (Глинник, 2010).

Таким образом, изменения поведенческих параметров самцов и самок крыс линии Wistar при воздействии холодого фактора отличаются друг от друга. Если для самцов характерно резкое уменьшение исследовательской активности, то у самок значительного влияния низких температур не выявляется из-за высокого адаптационного потенциала. К тому же, уровень исследовательской активности и тревожности у самок зависит от присутствия эстрального цикла.

Литература

1. Бессалова Е.Ю. Половые и сезонные отличия поведения крыс в «Открытое поле». Свет медицины в биологии. 2011. №4. С. 12 – 16.

2. Боуман Р.Э., Макласки Н. Дж. Сексуально диморфные эффекты пренатального стресса на когнитивные, гормональные и центральные нейротрансмиттеры. Эндокринология. 2004. Т. 145. № 8. С. 3778 – 3787.

3. Геворкян В.С., Геворкян И.С. Современные исследования воздействия различных стресс-факторов на крыс и мышей. Электронной научное издание Альманах Пространство и время. Т. 15. № 1. 2017.

4. Глинник С.В., Ринейская О.Н., Романовский И.В., Прокопчик К.Г. Характеристика поведенческих реакций и гормонального статуса крыс при тепловом и холодном стрессах в сравнительном аспекте. Вестник НАН Беларуси. Сер. мед. наук. 2010. № 2. С. 1 – 12.

5. Ломтева Н.А. Влияние стресс-индуцирующих факторов и а-токоферола на поведение и свободнорадикальные процессы у самок белых крыс в разные фазы эстрального цикла: Дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13. Астрахань. 2003. 123 с.

6. Хаджар Эль Марзуки, Юсеф Абуссале, Мохаммед Наджими, Фатиха Чигр, Ахмед Ахами Влияние холодного стресса на нейроповеденческие и физиологические параметры крыс. Физиология. 2021.

