

РОССИЙСКАЯ  
АКАДЕМИЯ  
ЕСТЕСТВОЗНАНИЯ



# СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ НАУКИ И ОБРАЗОВАНИЯ

Том 13

**МАТЕРИАЛЫ  
МЕЖДУНАРОДНОГО СТУДЕНЧЕСКОГО НАУЧНОГО ФОРУМА**

**СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ НАУКИ И ОБРАЗОВАНИЯ**

**(продолжающееся издание)**

**ТОМ XIII**

Москва

2019



УДК 08 (45)  
ББК 95  
С 56

Редакционная коллегия

**Ледванов Михаил Юрьевич** – доктор медицинских наук, профессор, академик РАЕ, председатель оргкомитета. Президент Международной ассоциации ученых, преподавателей и специалистов;

**Стукова Наталья Юрьевна** – кандидат медицинских наук, профессор РАЕ, главный ученый секретарь;

**Нефедова Наталья Игоревна** – ответственный секретарь редакции;

**Шуровозова Татьяна Владимировна** – ответственный редактор.

Современные проблемы науки и образования. – М.: Евроазиатская научно-промышленная палата, 2019. – Том XIII. – 98 с.

ISBN 978-5-6042079-3-2

В книге (продолжающее издание, том XIII) опубликованы избранные материалы XI Международной студенческой научной конференции "СТУДЕНЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ 2019", проведенной Академией Естествознания (Международной ассоциацией ученых, преподавателей и специалистов) 1 декабря 2018 г. – 23 мая 2019 г. На форуме (сайт – <https://scienceforum.ru/>) была представлена 401 секция по 23 научным направлениям (6284 доклада). В обсуждении докладов приняли участие 3077 человек. Опубликовано на сайте более 14100 комментариев и вопросов. Лучшие доклады были заслушаны 23 мая на пленарном заседании (Москва, Научный Парк МГУ).

Книга представлена в научной электронной библиотеке (НЭБ) e-Library.

ISBN 978-5-6042079-3-2

## СОДЕРЖАНИЕ

*XI Международная студенческая научная конференция  
«СТУДЕНЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ 2019»*

*Биологические науки*

ИЗУЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ НА РАННЕМ ПЕРИОДЕ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ	9
<i>Абильхасен И.Т., Ильдербаев О.З., Ильдербаева Г.О.</i>	
ИВАН МИХАЙЛОВИЧ СЕЧЕНОВ В ИСТОРИИ РУССКОЙ ФИЗИОЛОГИИ	10
<i>Каранинский Е.В., Муртазина Л.С., Бикташева Э.Э., Паикова М.С.</i>	
ВЛИЯНИЕ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА НА СОСТОЯНИЕ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ	12
<i>Нурбек Н., Ильдербаев О.З.</i>	
<i>Секция «Актуальные вопросы биологических исследований», научный руководитель – Букатин М.В.</i>	
↓ ПРИМЕНЕНИЕ АНТИГЕНОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ИММУНОДИАГНОСТИЧЕСКИХ ТЕСТ-СИСТЕМ	14
<i>Колотова А.А., Вильд О.А., Полякова А.А., Мироненко И.В.</i>	
↓ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР ГЕПАТОЦИТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕТАБОЛИЗМА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПЕЧЕНИ ЧЕЛОВЕКА	14
<i>Проконченко И.С., Казакова М.С., Кубышкина Д.В.</i>	
<i>Секция «Актуальные вопросы в области биохимических и микробиологических исследований», научный руководитель – Барышева Е.С.</i>	
ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ НА ПРОЦЕСС ОБРАЗОВАНИЯ БИОПЛЕНОК	17
<i>Абдрахимова Р.А.</i>	
ЗОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ ПИТАТЕЛЬНОСТИ КОРМОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ НА ТЕРРИТОРИИ ОРЕНБУРГСКОЙ ОБЛАСТИ	18
<i>Ефремова А.В., Барышева Е.С., Лычагина К.И.</i>	
ИССЛЕДОВАНИЯ ПОЧВЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ	20
<i>Конельская А.А.</i>	
ИЗУЧЕНИЕ БАКТЕРИЦИДНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ	21
<i>Коралькова Д.С., Филиппова О.А., Сулов В.С., Миндолина Ю.В.</i>	
ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПЦР-АНАЛИЗА ПРИ ОЦЕНКЕ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ	24
<i>Леонтьева Д.В.</i>	
ИЗУЧЕНИЕ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ И УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕСТ-СИСТЕМ К В-ЛАКТАМНЫМ АНТИБИОТИКАМ	25
<i>Миндолина Ю.В., Клименко О.П., Мокина Е.С.</i>	
ВОЗМОЖНОСТИ И ОГРАНИЧЕНИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СРЕД РАЗЛИЧНОГО СОСТАВА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ НАКОПЛЕНИЯ АЛКИЛОКСИБЕНЗОЛОВ В КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ	27
<i>Роговая Ю.Л., Романенко Н.А.</i>	
ИЗУЧЕНИЕ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ПРОБИОТИЧЕСКИХ И ПАТОГЕННЫХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕСТ-СИСТЕМ	29
<i>Филиппова О.А., Сулов В.С., Антипова О.И.</i>	



**ПРИМЕНЕНИЕ АНТИГЕНОВ  
ДЛЯ СОЗДАНИЯ  
ИММУНОДИАГНОСТИЧЕСКИХ  
ТЕСТ-СИСТЕМ**Колотова А.А., Вильд О.А., Полякова А.А.,  
Мироненко И.В.*ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный  
медицинский университет», Волгоград,  
e-mail: anas.kolotowa2010@yandex.ru*

Генетически чужеродные вещества, попадающие в организм человека, способны вызывать специфические иммунологические реакции, направленные на их удаление из организма. В данных реакциях помимо чужеродных агентов – антигенов – принимают участие специфические белки крови – антитела, за синтез которых ответственна иммунная система. Наличие или отсутствие в крови человека антител является диагностическим признаком, позволяющим с точностью определить, болен ли человек тем или иным инфекционным заболеванием.

С целью диагностики различных заболеваний в лабораторной практике применяют иммуноферментный анализ – метод, в основе которого лежит специфическая реакция образования иммунного комплекса «антиген-антитело», при этом один из компонентов конъюгирован с ферментом-меткой, который реагирует с соответствующим хромогенным субстратом. В результате этой реакции синтезируется окрашенный продукт, количество которого можно определить с помощью спектрофотометрических, флуориметрических, электрохимических и других методов. ИФА является методом количественного и качественного определения веществ в биологических образцах. Для этих целей существуют специальные наборы – диагностикумы, содержащие все необходимые компоненты для проведения реакции.

Для определения антител в прямых иммунологических реакциях (либо антигенов в непрямых реакциях) существуют антигенные диагностикумы – препараты на основе бактерий, вирусов, токсинов и пр. Необходимым компонентом таких диагностических систем являются антигены тех или иных возбудителей. Это ставит необходимость их выделения из соответствующего возбудителя, а также обязательность их очистки.

Так, например, антигены возбудителя мелиоидоза получают в виде водно-солевых экстрактов путем добавления 60 мл 0,15 М раствора NaCl с фосфатным буфером (pH 7,2) и 0,05 % азида натрия. Затем взвесь помещают на магнитную мешалку и перемешивают в течение суток при 4°C с последующей гомогенизацией

и экстракцией антигенов с помощью дезинтегратора. Полученный материал центрифугируют при 15000 об/мин в течение 30 минут с охлаждением. Супернатант отделяют, концентрируют и диализуют, а затем спектрофотометрически определяют содержание белка. Полученные таким образом пробы можно хранить при -10°C.

Одним из методов выделения и очистки антигенов вируса-возбудителя бешенства является выделение их из 20% суспензии мозга крысы в 0,01 М фосфатно-буферном растворе. Мозговую ткань дезинтегрируют, осаждают низкоскоростным центрифугированием, а затем супернатант ультрацентрифугируют при 25000 g. Очистку проводят в ступенчатом градиенте сахарозы 15–50% с использованием ультрацентрифуги. Конечным этапом является определение концентрации на спектрофотометре.

Для выделения и очистки антигенов сибирезавяленного токсина, в частности, протективного антигена (ПА) и отечного фактора (ОФ), используют методику, схожую с описанной выше. Культуральный фильтрат концентрируют и сорбируют на гидроксиллапатите, после чего белки элюируют в нелинейном градиенте К-Иа-фосфатного буферного раствора с концентрацией фосфата от 0,005 до 0,3 М. При этом ПА элюируется со свободным объемом колонки, а ОФ – при концентрации фосфата 0,25 М.

Таким образом, антигены являются необходимым компонентом иммунодиагностических тест-систем. Их использование в ИФА сопряжено с необходимостью выделения и очистки, что в некоторых случаях может быть затруднено по разнообразным причинам. Но в большинстве случаев знание антигенного строения бактерий, вирусов и пр. и, соответственно, использование их антигенов в диагностикумах, позволяет с высокой точностью поставить диагноз в короткие сроки.

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛЕТОЧНЫХ  
КУЛЬТУР ГЕПАТОЦИТОВ ДЛЯ  
ИССЛЕДОВАНИЯ МЕТАБОЛИЗМА  
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ  
В ПЕЧЕНИ ЧЕЛОВЕКА**Прокопченко И.С., Казакова М.С.,  
Кубышкина Д.В.*ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный  
медицинский университет», Волгоград,  
e-mail: prokopchenko.inna2016@yandex.ru*

Доля разрабатываемых лекарственных веществ, прошедших стадии клинических испытаний и дошедших до регистрации в качестве лекарственных средств, крайне мала, что обусловлено рядом недостатков присущих методам



доклинических исследований. Причиной сложившейся ситуации явилась низкая эффективность методов выявления побочных эффектов в доклиническую стадию испытаний [1]. Все усилия, направленные на увеличение эффективности доклинических испытаний, привели к изменению методов по определению побочных эффектов лекарственных веществ: во время проведения фармакологических исследований для отбора оптимальных биологических моделей были внедрены сравнительные исследования на культурах клеток человека и лабораторных животных, позволяющие проводить экстраполяцию наблюдаемых эффектов тестируемых соединений на человека не только на основе данных, полученных в экспериментах на животных, но и в тестах, выполненных на клеточных культурах [2,3].

Центральный метаболизм большинства лекарственных препаратов, существующих на сегодняшний день, осуществляется в печени. Лекарственный метаболизм происходит в паренхиматозных клетках печени – гепатоцитах. На поверхности гепатоцитов находятся рецепторы и белки транспортёры лекарственных веществ. В микросомах гепатоцитов содержатся главные ферменты лекарственного метаболизма: цитохромы P450, уридинглутатионтрансферазы (UGT), некоторые глутатион-S-трансферазы (GST), флавин содержащие монооксигеназы (FMO).

В цитозоле гепатоцитов растворены такие ферменты как сульфотрансферазы (SULT), N-ацетил трансферазы (NAT), некоторые GST, альдегид оксидазы (AO), ксантин оксидазы (XO). Митохондриальная мембрана гепатоцитов содержит моноамин оксидазы (MAO) [4]. Непаренхиматозные клетки печени, к которым относят синусоидальные клетки печени, биллиарные эпителиальные клетки, клетки Купффера, стеллатовые клетки, а также макрофаги, нейтрофилы и натуральные киллеры крови приобретают большое значение при гепатотоксическом повреждении ткани печени, но при лекарственном метаболизме выполняют второстепенную, специфичную для каждого типа клеток задачу. Оптимальный режим жизнедеятельности клеток печени обеспечивает сложно-организованная структура паренхимы печени. Структурный каркас паренхимы печени сплетён главным образом из волокон фибронектина, коллагена, фибриллин/эластина. Важно отметить, что вне структуры печени гепатоциты быстро теряют свои свойства, происходит процесс, так называемой дедифференциации, который запускается при разрушении межклеточных контактов гепатоцитов в ходе выделения из ткани печени. Исследования метаболизма лекарственных веществ (ЛВ) на клеточном уровне проводят на срезах печёночной ткани, культуре первично выделенных гепатоцитов, перевиваемых культурах клеток

опухолевого и неопухолевого происхождения и гепатоцитах из плюрипотентных и стволовых клеток. Гистологические срезы и первичные гепатоциты получают из материала операционных вмешательств на печени. Различные линии перевиваемых клеток опухолевого происхождения выделены из гепатом человека.

Методами генной инженерии получают перевиваемые культуры гепатоцитов неопухолевого происхождения [5]. Толщина срезов (250–100 мкм) печеночной ткани ограничена доступностью питательных веществ и кислорода, для клеток внутри среза. Данная толщина среза не сохраняет минимальную структурную единицу печени – лобулу, размер которой 2 мм, но сохраняет 3-х мерный матрикс печеночной паренхимы.

Гепатоциты печёночного среза, размещённые в 3-х мерном матриксе паренхимы, длительно сохраняют активность ферментов и транспортных белков лекарственного обмена веществ, но теряют различия в спектре метаболических и анаболических функций вдоль оси лобулы [6]. После криоконсервации печёночный срез не сохраняет своих первоначальных свойств из-за разрушения межклеточных контактов гепатоцитов. Исследования динамики деградации гепатоцитов, выделенных коллагеназным методом и культивируемых в монослое на коллагене в срок до 168 часов показали, что до 24 часов экспрессия изоформ белков цитохрома P450 существенно не изменяется. Межиндивидуальные различия гепатоцитов определяются генетическими особенностями донора гепатоцитов и внешними факторами, такими как: питание, болезни, приём лекарств, вредные привычки, пол и т.д [7]. Деградация и межиндивидуальные различия выделенных гепатоцитов человека ограничивают экстраполяцию данных исследований метаболизма лекарственных веществ. Межиндивидуальное различие считается непреодолимым недостатком при использовании среза печёночной ткани, но преодолим при работе на культуре свежесыведенных гепатоцитов человека путём сливания культур от разных доноров в один мультидонорный пул. Деградация замедляется при размещении культуры гепатоцитов в каркасе, имитирующем структуру и состав печёночной паренхимы, а также добавлением в питательную среду нужного количества ингибиторов деградации. Доказано, что наиболее точным аналогом печеночной ткани при исследованиях метаболизма лекарственных веществ на клеточном уровне является мультидонорная культура свежесыведенных или криоконсервированных гепатоцитов человека.

Перевиваемые линии гепатоцитов человека, которые обладают рядом преимуществ, таких как доступность и стандартность являются отличной альтернативой культуре первичных гепатоцитов человека. Большинство исследователей



полагают, что наиболее подходящей моделью для исследования метаболизма лекарственных веществ является линия гепатомы человека. Было проведено сравнительное исследование метаболизма лекарственных веществ в культуре свежесыведенных гепатоцитов человека, культуре гепатоцитов человека после криоконсервации и линии НераRG после криоконсервации и показано, что различия в уровне экспрессии мРНКизоформцитохрома P450 и уридинглюта-тионтрансферазы (UGT) определяли различие временного профиля метаболитов тестовых лекарственных соединений между культурами свежесыведенных и размороженных гепатоцитов человека с одной стороны и культурой НераRG с другой.

Резко снижается в течение суток уровень экспрессии изоферментов цитохрома P450 и UGT в суспензии свежих гепатоцитов, но сохраняется на приемлемом уровне в течение недели в 3-х мерной культуре. Активность ферментов лекарственного метаболизма сохраняется в культуре НераRG в течение недели вне зависимости от способа культивирования.

Качественные и количественные различия, существующие в ферментах лекарственного метаболизма у лабораторных животных и человека обуславливают несовпадение метаболических путей биотрансформации лекарственного вещества в печени, которое является причиной видоспецифичной реакции организмов на то или иное ЛВ. Масштабные исследования причин видоспецифичности биотрансформации ЛВ стали возможными после полного секвенирования генома человека и описания большинства белков протеома человеческой клетки. Были проведены геном-масштабные реконструкции метаболической сети человеческой клетки, исходя из накопленной информации о продуктах нескольких тысяч генов, которые, в свою очередь, послужили отправной точкой для создания геном-масштабных реконструкций метаболической сети крысы и мыши. Таким образом была реконструирована геном-масштабная модель метаболической сети крысы (*Rattus norvegicus*), включающая 2324 гена и 8268 реакции, и был проведён её сравнительный анализ с геном-масштабной моделью метаболической сети человека, включающей 2315 гена и 8263 реакции. В результате обширного сравнительного анализа большинство метаболических подсистем показали нулевое видоспецифическое различие. Однако и было показано, что видоспецифичность некоторых ферментов лекарственного метаболизма является причиной, которая не всегда позволяет использовать в качестве животной модели крысу.

При исследованиях метаболизма ЛВ также используются первично выделенные гепатоциты крысы, в частности, чтобы сравнить соотношение доза-эффект (в отношении метаболитических потоков лекарственного метаболизма) на уровне клетки, с соотношением доза-эффект на уровне организма. Изменение метаболических потоков лекарственного метаболизма определяют по изменению уровня экспрессии мРНК и белков или по концентрации лекарственных метаболитов в гепатоцитах, из клеточной культуры после экспозиции определённой дозы ЛВ, и гепатоцитах, выделенных из печени после введения крысе определённой дозы ЛВ. Разница в соотношении доза-эффект между гепатоцитом из культуры и гепатоцитом из печени показывает, в какой степени в биотрансформации ЛВ в организме крысы, помимо метаболизма ЛВ в гепатоцитах, задействованы другие факторы, такие как среда желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), способность всасывания из ЖКТ в кровь, взаимодействие с белками и клетками крови, характер распределения по органам и тканям, выделение почками и лёгкими и др. Определение разницы в соотношениях доза-эффект для культуральных гепатоцитов человека и крысы, и гепатоцитов из ткани печени крысы делает возможным правильный подбор дозировок ЛВ для дальнейших более развёрнутых исследований на животных моделях. Данные, полученные при исследовании метаболизма ЛВ на клеточных культурах гепатоцитов, имеют определяющее значение при экстраполяции на организм человека, путём создания многоуровневых компьютерных моделей метаболизма лекарственных веществ на уровне организма человека.

#### Список литературы

1. Kola I. Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? / Ismail Kola and John Landis // *Nature Reviews, Drug Discovery*. – 2004. – V. 4. – P.711–715.
2. Bukatin M.V., Ovchinnikova O.Y., Krivitskaya A.N., Chernikov M.V., Samburov A.V., Sendrjakova V.N. Technique of the integral estimation the general condition of laboratory animals in medical and biologic experiments // *Международный журнал экспериментального образования*. – 2010. – № 6. – С. 40.
3. Dambach C. New Technologies and Screening Strategies for Hepatotoxicity: Use of In Vitro Models / Donna M. Dambach, Barbara A. Andrews, and Frederic Moulouin // *Toxicologic Pathology*. – 2005. – V. 33; №1. – P.17–26.
4. Roth A. Idiosyncratic Drug-Induced Liver Injury (IDILI): Potential Mechanisms and Predictive Assays / Alexander D. Roth and Moo-Yeal Lee // *BioMed Research International*. – 2017. – P. 1–23.
5. Ramboer, E. Immortalized human hepatic cell lines for in vitro testing and research purposes / Eva Ramboer, Tamara Vanhaecke, Vera Rogiers, and Mathieu Vinken // *Methods Mol Biol*. – 2015. – P. 1–21.
6. Godoy, P. Recent advances in 2D and 3D in vitro systems using primary hepatocytes, alternative hepatocyte sources and non-parenchymal liver cells and their use in investigating mechanisms of hepatotoxicity, cell signaling and ADME / Patricio Godoy, Nicola J. Hewitt, Ute Albrecht, Melvin E. Andersen, Nariman Ansari, Sudin Bhattacharya et al. // *Arch Toxicol*. – 2013. – 87. p. 1315–1530.
7. Heslop, J. Mechanistic evaluation of primary human hepatocyte culture using global proteomic analysis reveals a selective dedifferentiation profile / James A. Heslop, Cliff Rowe, Joanne Walsh, Rowena Sison Young, et al. // *Arch Toxicol*. – 2017. – 91. p. 439–452.