



Научно-образовательный медицинский кластер ЮФО «Южный»



# Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины

Материалы 76-й международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов



25-28 апреля 2018 г.  
ВОЛГОГРАД

Министерство здравоохранения Российской Федерации  
Волгоградский государственный медицинский университет  
Федерация представителей молодежных научных обществ медвузов  
Научно-образовательный медицинский кластер ЮФО «Южный»  
Научное общество молодых ученых и студентов ВолгГМУ

**«Актуальные проблемы  
экспериментальной  
и клинической медицины»  
Материалы 76-й международной  
научно-практической конференции  
молодых ученых и студентов**

**25-28 апреля 2018 г.**



**Волгоград – 2018**

УДК 61 (06)

ББК 53

*Под редакцией ЗДН РФ, академика РАН В. И. Петрова*

**Редакционная коллегия:**

д.м.н., проф. М. Е. Стаценко

д.м.н., проф. А. В. Смирнов

к.м.н., доц. В. Л. Загребин

А 437      Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины: Материалы 76-й международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов – Волгоград: Изд-во ВолгГМУ, 2018. – 676 с.

**ISBN 978-5-9652-0536-3**

В сборнике изложены материалы докладов молодых ученых (ординаторов, аспирантов, преподавателей, практических врачей) и студентов медицинских вузов России, стран ближнего и дальнего зарубежья, а также учащихся и школьников.

Представленные материалы будут интересны студентам, научным сотрудникам и преподавателям медицинских и фармацевтических вузов, врачам и экологам.

**УДК 61 (06)**

**ББК 53**

ISBN 978-5-9652-0536-3

© Волгоградский государственный  
медицинский университет, 2018

© Издательство ВолгГМУ, 2018

УДК 615.013+57.088.6

И. С. Аникеев, Н. А. Осадченко,  
П. С. Басаргина, Ю. А. Жуковская, Ю. С. Милеева  
**РАЗРАБОТКА ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНОГО  
ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОГО  
МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВАНКОМИЦИНА  
И ПИПЕРАЦИЛЛИНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ**

Волгоградский государственный  
медицинский университет,  
кафедра фундаментальной медицины и биологии  
Научные руководители: доц. кафедры фундаментальной  
медицины и биологии ВолгГМУ, к.м.н. Б. Е. Толкачёв;  
доц. кафедры фундаментальной медицины и биологии  
ВолгГМУ, к.м.н. Е. И. Морковин

**Введение.** Проведение терапевтического лекарственного мониторинга (ТЛМ) представляет собой перспективную стратегию индивидуализации и повышения эффективности антибиотикотерапии. Особое значение данный подход приобретает в клинических ситуациях, требующих назначения антибиотиков с узким терапевтическим диапазоном (ванкомицин, пиперациллин). Применение ТЛМ данной категории препаратов невозможно без использования высокочувствительных аналитических методов, наиболее востребованным из которых является высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрической детекцией (ВЭЖХ-МС/МС).

**Цель исследования.** Определить оптимальные условия одновременного количественного ВЭЖХ-МС/МС определения ванкомицина и пиперациллина в целевой биологической матрице – плазме крови человека.

**Материалы и методы.** Маточные растворы готовили из сухих навесок препаратов в высокоочищенной воде (Milli-Q). Затем растворы препаратов вносили в целевую матрицу для получения калибровочных целевого концентрационного диапазона. Дальнейшую пробоподготовку осуществляли, добавляя к образцам ацетонитрил в отношении 1:3, преципитаты центрифугировали при 14000 об/мин в течение 15 мин, после чего отбирали 500 мкл супернатанта и переносили его в хроматографические виалы. Хроматографическое разделение компонентов проводили на колонке Poroshell 120 C18 (4,6 x 50 мм, 2,7 мкм) с использованием ВЭЖХ системы Agilent 1260 с бинарным насосом и термостатируемым автосамплером. Аналиты определяли с помощью гибридной масс-спектрометрической системы Sciex QTRAP 5500 [1, 2].

**Результаты и обсуждение.** Разработка метода количественного ВЭЖХ-МС/МС определения ванкомицина и пиперациллина включала определения оптимальных параметров хроматографического разделения, а также последующей масс-спектрометрической детекции. Ионизацию веществ проводили методом электроспрея в режиме положительной полярности. Ионы-«предшественники» ванкомицина и пиперациллина соответствовали частицам  $m/z$  725,3 и  $m/z$  518,2 соответственно. Наиболее интенсивными ионами-«продуктами», зарегистрированными при фрагментации протонированных молекул в ячейке соударений, были частицы  $m/z$  88,1 и  $m/z$  387,9 для ванкомицина и  $m/z$  143,1,  $m/z$  115,0 для пиперациллина. В ходе оптимизации условий хроматографического разделения был выбран ионообменный режим элюирования. Мобильная фаза представляла собой смесь ацетонитрил/вода в соотношении 80/20 при скорости потока 0,3 мл/мин. Модификатором мобильной фазы служила 0.1% муравьиная кислота, которую добавляли как в водную, так и в органическую составляющую мобильной фазы. При этих условиях время удерживания ванкомицина составило 1,63 мин, время удерживания пиперациллина – 1,86 мин, что позволяло сократить суммарное время анализа каждой пробы до 4 мин.

**Выводы.** В ходе работы экспериментально установлены оптимальные условия

высокочувствительного и селективного количественного ВЭЖХ-МС/МС определения ванкомицина и пиперациллина в целевой биологической матрице – плазме крови человека.

**Литература:**

1. Толкачев Б. Е., Доценко А. М., Стрыгин А. О., Магницкая О. В. // Количественное хромато-масс-спектрометрическое определение валсартана и гидрохлортиазида в плазме крови // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2016. – № 4. – С.22-24.
2. Chahbouni A., den Dungen F. A., Vos R. M., den Burger J. C. et al. An UPLC-MS detection method for the quantification of five antibiotics in human plasma. // Bioanalysis. – 2015. – 7(18). – p.2321–2329.

УДК 575.113.12:681.3

В. О. Бородин

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОГРАММНОГО ПАКЕТА BLAST  
ДЛЯ ПОИСКА УНИКАЛЬНЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫХ  
ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ**

Волгоградский государственный  
медицинский университет, кафедра биологии  
Научный руководитель: ас. кафедры биологии ВолгГМУ  
С. С. Сурин

**Введение.**

Программный пакет BLAST – basic local alignment search tool применяется для сравнения белковых и нуклеотидных последовательностей [1]. Он представляет большой интерес для молекулярных биологов, а так же клиницистов, позволяя находить последовательности для создания специфичных праймеров для ПЦР или зондов для FISH. В последнее время это всё актуальнее ввиду развития и удешевления синтезаторов, позволяющих изготавливать нуклеотидные пробы, аналогичные дорогостоящим коммерческие аналоги. Будучи направленным на применение в области биоинформатики, данный пакет программ сложен в использовании для учёных, не имеющих экспертизы в данной дисциплине.

**Материалы и методы.**

Работа проводилась в программе BLAST Национального института биотехнической информации США, подпрограмме blastn, работающей с нуклеотидами [1,3]. Для проверки поиска использовалась уникальная последовательность длиной в 50 оснований, относящаяся к центральному району X хромосомы человека.

**Результаты и обсуждение.**

Были рассмотрены основные параметры поиска и их оптимизация для нахождения уникальных нуклеотидных последовательностей в геноме человека. В соответствии с целями данной статьи, были оговорены только значимые параметры поиска. Геному человека соответствовала база данных «human genome + transcript», но так же рекомендуется проведение сравнений потенциально уникальных последовательностей с базой «nucleotide collection nt/nt» с поиском по виду human (taxid:9606), так как в ней содержится крупная коллекция последовательностей, полученных из различных источников [4,5]. Вкладка «Program Selection» позволяла выбрать между параметрами для поиска высоко-, средне- и низко специфичных соответствий [2]. Оптимальным для нас являлось «Somewhat similar sequences». «Expect threshold» следует выставить  $1e-6$ , что удаляет из поиска соответствия с перекрытием меньше 80% [4]. «Word size» относится к алгоритмам сравнения, оптимальным является минимальное значение параметра (7). «Match/Mismatch Scores» позволяет регулировать точность соответствия сиквентов, и оптимальным параметром является 2,-3. Следует убрать маркер с «Low complexity regions» для включения в поиск регионов с высокой частотой повторов.

В окне результатов для нас представляло интерес два параметра: «query cover» и «ident». Первый

означал процент совпадений региона с нашей последовательностью, второй – процент совпадений нуклеотидов внутри этого региона. При поиске уникальной последовательности для FISH зонда оба параметра должны стремиться к 100% и в результатах поиска не должно находиться регионов с других хромосом.

#### Выводы.

Были выявлены оптимальные параметры запроса BLAST для точного нахождения уникальной последовательности с минимальным количеством шума, что делает данный метод применимым в научно-исследовательской работе.

#### Литература:

1. Altschul S. F., Gish W., Miller W., Myers E. W. & Lipman D. J. Basic local alignment search tool // J. Mol. Biol. 1990. Vol. 215. P. 403-410.
2. Chen Y. et al. High speed BLASTN: an accelerated MegaBLAST search tool // Nucleic acids research. 2015. Vol. 43. № 16. P. 7762-7768.
3. Madden T. The BLAST sequence analysis tool // ncbi.nlm.nih.gov. 2013.
4. Stover N. A., Cavalcanti A. R. O. Using NCBI BLAST // Current Protocols Essential Laboratory Techniques. 2017. P. 11.1.1-11.1.34.
5. Pevsner J. Bioinformatics and functional genomics // John Wiley & Sons. 2015.

УДК 575.113.12:681.3

О. В. Бударин, М. В. Бирюков, З. С. Ливашкина  
**ПОИСК УНИКАЛЬНЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ  
В ГЕНОМЕ HOMO SAPIENS  
С ПОМОЩЬЮ ГЕНОМНЫХ БРАУЗЕРОВ**

Волгоградский государственный  
медицинский университет,  
кафедра биологии

Научный руководитель: асс. кафедры биологии ВолГМУ  
С. С. Сурин

Научный консультант: зав. кафедрой биологии ВолГМУ,  
д.м.н., доц. Г. Л. Снигур

Введение. В основе персонифицированного подхода к диагностике и лечению различных заболеваний лежат индивидуальные особенности генома человека, от которых зависит не только побочные эффекты, но и исход. Внедрение в клиническую практику методов молекулярной биологии, в т. ч. FISH является неотъемлемой частью современной морфологической диагностики. В основе FISH-метода лежит использование олигонуклеотидных зондов к определенным участкам генов. [3] Однако к недостаткам коммерческих наборов следует отнести не только астрономическую стоимость расходных материалов, длительную доставку, но и охрану сведений об олигонуклеотидной последовательности зонда в режиме коммерческой тайны.

Цель работы. Разработать методику поиска уникальных нуклеотидных последовательностей в геноме человека.

Материалы и методы. Работа включала следующие этапы:

1. Поиск сиквенса гена в геномных браузерах.
2. Разделение сиквенса гена на экзонные и интронные участки.
3. Поиск уникальных последовательностей с помощью онлайн-приложения «Blast» в различных геномных браузерах.

Сиквенса гена находили в браузерах генома человека (NCBI, Ensemble и др.) [1] Определяли локализацию экзонов, ориентируясь на сплайсинг мРНК. [2] Разделяли сиквенса на интроны и экзоны. [5] Для поиска схожих нуклеотидных последовательностей (н. п.) использовали онлайн-приложение «Blast». Осуществляли поиск н. п., не имеющих соответствия относительно остального генома более чем в 50±5%. Поиск

производился по графику распределения последовательностей по геному в приложении «Blast». [4]

Результаты и обсуждение. Выяснили, что для удовлетворения данных условий самая оптимальная длина 40 н. п. В центромере X хромосомы длина уникального олигонуклеотида составляла 50 н. п. Найдено несколько уникальных олигонуклеотидов в гене TP53 длиной в 40 н. п. и один в центромере X хромосомы в 50 н. п., не имеющие повторов в геноме на 50±5%.

К преимуществам метода можно отнести возможность поиска уникальных нуклеотидных последовательностей с помощью бесплатных баз данных открытого доступа (например, NCBI).

Вывод. Разработана и апробирована методика поиска уникальных последовательностей, которая позволит создавать олигонуклеотиды для флуоресцентной гибридизации in situ.

#### Литература:

1. Леск. А. Введение в биоинформатику. Пер. с англ. – 2-е изд. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015.
2. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии / Под ред. Уилсона К. и Уолкера Дж; пер. с англ. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2013.
3. Ярыгин В. Н., Васильева В. И., Волков И. Н., Синельщикова В. В. Биология. Вкн. Кн.1: Учеб. Для медиц. спец. вузов / Под редакцией Ярыгина В. Н. – 8-е изд. – М.: Высш. шк., 2007.
4. Ensembl genome browser 91. Режим доступа: <http://www.ensembl.org/index.html>.
5. National Center for Biotechnology Information. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.

УДК 616.982.27–039

К. В. Васильева  
**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ IN SILICO АНАЛИЗ  
ИНТЕГРАЗ BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI**

Волгоградский государственный  
медицинский университет,  
кафедра молекулярной биологии и генетики

Научный руководитель: доц. кафедры молекулярной  
биологии и генетики ВолГМУ, к.б.н., доц. И. Б. Захарова

Введение. Мелиоидоз – тяжелая бактериальная инфекция, поражающая практически любые органы и ткани, в связи с чем заболевание не имеет характерных симптомов. Возбудителем является сапрофитная бета-протеобактерия *B. pseudomallei*, обитающая в почве и стоячих водоемах влажных тропических и субтропических регионов всех континентов. В странах умеренного климата регулярно регистрируются завозные случаи мелиоидоза [1].

Характерной особенностью возбудителя является его чрезвычайно высокая естественная устойчивость к широкому кругу антибиотиков. Известно, что у большинства бактерий гены антибиотикорезистентности часто локализованы на мобильных генетических элементах, а феномен полирезистентности связан с наличием интегративных, обеспечивающих аккумуляцию детерминант устойчивости и других адаптивных свойств. Однако, до настоящего времени интегроны известных классов у возбудителя мелиоидоза не обнаружены, но есть сообщения о наличии интегроноподобных структур [2].

Цель: поиск генов интегративных элементов методом in silico анализа полной геномной последовательности референтного штамма *B. pseudomallei* K96243

Материалы и методы: поиск генов потенциальных интегративных элементов осуществлялся методом in silico анализа в общедоступной базе данных GenBank NCBI; определение принадлежности белковых продуктов к семейству тирозинных рекомбиназ осуществляли с использованием инструментария программы Protein BLAST; поиск и анализ дополнительного домена найденных интегративных

Звонарева Д. А., Ан Е. Э., Конюхова С. И. НОВЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПОКРЫТИЯ БИЛИАРНЫХ СТЕНТОВ	512
Кузнецова Е. В., Арутюнян А. Г. ОЦЕНКА ГЕНОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО КСАНТИНА, ОБЛАДАЮЩЕГО АНТИАГРЕГАНТНЫМИ СВОЙСТВАМИ, МЕТОДОМ ДНК-КОМЕТ	513
Мартынова Д. О. ПОТЕНЦИАЛ И НАПРЯЖЕННОСТЬ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКОГО ПОЛЯ РАВНОМЕРНО ЗАРЯЖЕННОГО КОЛЬЦА	513
Марченко А. Ю., Омаров Р. Н. ВЫДЕЛЕНИЕ И АМПЛИФИКАЦИЯ ГЕНА GARDH МЯТЫ ПЕРЕЧНОЙ	514
Мишукова Т. А. УРОВЕНЬ СОДЕРЖАНИЯ ПИРОВИНОГРАДНОЙ КИСЛОТЫ В МОЧЕ ДЕТЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАРУШЕНИЙ ИХ НЕФРОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА	514
Насибуллина А. Р., Садртдинов Д. А. ВЛИЯНИЕ ДИХЛОРЕТАНА НА ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ	515
Овсянкина Н. В. КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ СООТНОШЕНИЯ. УРАВНЕНИЕ ГАММЕТА И УРАВНЕНИЕ ГАММЕТА-ТАФТА	515
Скороходова С. Ю. ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОТОКОЛА ВЫДЕЛЕНИЯ ПЕРВИЧНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ КРЫС	516
Смирнова А. О., Лебедева Ж. И., Федотова А. Ю. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ПРОТЕОМА ПОДВИЖНЫХ И НЕПОДВИЖНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА MYCOBACTERIACEAE ПОРЯДОК ACTINOMYCETALES	517
Чиркасов И. Д. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДОВ ОЦЕНКИ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОДЕЛИ ПЕРЕВИВАЕМЫХ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР	517
Чуенкова П. А. ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЖИРОВ И ИХ РОЛЬ В ЖИЗНИ ЧЕЛОВЕКА	518
<b>28. БИОМЕДИЦИНА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ</b>	
<b>Работы молодых ученых</b>	
Доценко А. М., Кнышова Л. П., Меликова С. А., Молчанова Н. А. КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА МЕТОДОВ ОСАЖДЕНИЯ БЕЛКОВЫХ ФРАКЦИЙ	519
Измайлов А. А., Фадеев Ф. О., Еремеев А. А., Маркосян В. А., Соколов М. Е., Кузнецов М. С., Гарифулин Р. Р., Лисюков А. Н. КОМБИНИРОВАННАЯ ГЕННАЯ И ЭЛЕКТРОТЕРАПИЯ СПИННОГО МОЗГА ПОСЛЕ КОНТУЗИОННОЙ ТРАВМЫ В МОДЕЛЯХ НА КРЫСАХ	519
Кнышова Л. П., Доценко А. М., Киндерова А. Г., Тарусова А. В. МЕТОД БРЕДФОРДА В ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА ВЫДЕЛЯЕМЫХ БЕЛКОВЫХ ФРАКЦИЙ	520
Соколов М. Е., Маркосян В. А., Фадеев Ф. О., Измайлов А. А., Кузнецов М. С., Хамитов А. Р., Мунасипов И. А., Салихов А. Т. ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА В МОДЕЛЯХ НА КРЫСАХ	520
<b>Работы студентов</b>	
Аверин М. И., Халгаев В. Б. ОПТИМИЗАЦИЯ НЕЙРОСЕТЕВОГО АЛГОРИТМА ДЛЯ АНАЛИЗА РЕЗУЛЬТАТОВ ДВУМЕРНОГО КАРТИРОВАНИЯ	521
Аникеев И. С., Осадченко Н. А., Басаргина П. С., Жуковская Ю. А., Милеева Ю. С. РАЗРАБОТКА ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНОГО ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВАНКОМИЦИНА И ПИПЕРАЦИЛЛИНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ	522
Бородин В. О. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОГРАММНОГО ПАКЕТА BLAST ДЛЯ ПОИСКА УНИКАЛЬНЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ	522
Бударин О. В., Бирюков М. В., Ливашкина З. С. ПОИСК УНИКАЛЬНЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ В ГЕНОМЕ НОМО SAPIENCE С ПОМОЩЬЮ ГЕНОМНЫХ БРАУЗЕРОВ	523
Васильева К. В. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ IN SILICO АНАЛИЗ ИНТЕГРАЗ BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI	523
Воронцов М. Ю., Саблина Л. А., Быкова А. С., Шевченко М. С. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКА В СЛИЗИ МОЛЛЮСКОВ ACHATINA FULICA	524
Дорофеев Н. А. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ H.PYLORI	524
Иванова Ю. Д., Буянова А. С., Хоменко А. Н., Синельникова В. А. ИММУНОТРОПНОЕ ДЕЙСТВИЕ СЛИЗИСТОГО СЕКРЕТА МОЛЛЮСКОВ ACHATINA FULICA В УСЛОВИЯХ IN VITRO	525
Иванова Ю. Д., Лебедева Ж. И., Колос А. В. ДЕЙСТВИЕ ДРОТАВЕРИНА ГИДРОХЛОРИДА НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ НОГИ МОЛЛЮСКОВ ACHATINA FULICA	526
Неволько В. О., Шматько И. А., Цымбалюк В. В. КУЛЬТИВИРОВАНИЕ GTC-КЛЕТОК – НОВЫЕ ПЕРСПЕКТИВЫ РЕГЕНЕРАЦИОННОЙ МЕДИЦИНЫ	526
Никитенко А. А., Косов В. А. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ БИОИНФОРМАТИКИ ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЗОНДОВ	527