

редактировался методом CRISPR/Cas9. В результате исследователям удалось получить генно-модифицированных свиней. Такие животные, по прогнозам исследователей, приведут к росту качества животноводческого комплекса [5].

Выводы:

1. Появление методов управления генетическим материалом клеток можно считать действительно важным открытием в области молекулярной биологии, которое имеет огромные перспективы использования на практике в будущем.
2. Представленные в статье генетические манипуляции сегодня активно используются при решении таких биотехнологических задач, как создание модифицированных видов бактерий, растений, животных, обладающих ценными свойствами, и клеточных моделей.
3. Перспективным направлением в данной области является использование существующих и разработка новых методов редактирования генома, которые позволят исправлять врождённые генетические нарушения у человека.

Список литературы:

1. Горяев А. А., Савкин М. В., Мефед К. М. Редактирование генома и биомедицинские клеточные продукты: современное состояние, безопасность и эффективность. – М.: Изд-во «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения, 2018. – С.140 –149.
2. Малахова А. А., Сорокин М. А., Сорокина А. Е.. Использование методов редактирования генома для создания изогенных клеточных линий, моделирующих болезнь хантингтона *in vitro*. – М.: Изд-во ООО «Гены и Клетки», 2016. – С.106 – 113.
3. Немудрый А. А., Валетдинова К. Р., Медведев С. П.. Системы редактирования геномов TALEN и CRISPR/Cas. Инструменты открытий. *Acta naturae* – М.: Изд-во Парк-медиа, 2014. – С.20 – 42.
4. Ветчинова А. С., Коновалова Е. В., Лунев Е. А.. Технология редактирования генома и возможности ее применения в клеточной нейробиологии. – М.: Изд-во ЗАО «РКИ Соверо пресс», 2015. – С.59 – 64.
5. Власов В. В., Медведев С. П., Закиян С. М.. "Редакторы" Геномов. От Цинковых пальцев до Crispr. – Новосибирск: Изд-во ООО «Инфолио». – С.44-53
6. Ребриков Д. В. Редактирование генома человека. – М.: Изд-во РНИМУ им. Н. И. Пирогова, 2016. – С. 4 –15.
7. Ларкина Т. А., Крутикова А. А., Козикова Л. В. Редактирование генома сельскохозяйственных животных с помощью технологии CRISPR/CAS9. – Вологда: Изд-во ВГМХА им. Н. В. Верещагина, 2018. – С.24 –35.

УДК 612.67

**Варлашов Е.М., Щербаков Д.Л., Гаврилов И.В., Мещанинов В.Н.
КЛЕТОЧНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ
ГЕРОПРОТЕКТОРОВ ОЛИГОПЕПТИДНОГО ТИПА**

Кафедра биохимии

Уральский государственный медицинский университет
Екатеринбург, Российская Федерация
Институт медицинских клеточных технологий
Екатеринбург, Российская Федерация

**Varlashov E.M., Shcherbakov D.L., Gavrolov I.V., Meshchaninov V.N.,
CELL-METABOLIC MECHANISM OF ACTION OF GEROPROTECTORS
OF OLYPEPTID TYPE**

Department of biochemistry
Ural state medical university
Yekaterinburg, Russian Federation
Institute Medical Cell Technologies
Yekaterinburg, Russian Federation

E-mail: varlash@mail.ru

Аннотация. В статье представлен анализ влияния некоторых олигопептидов на клеточный и биохимический состав донорской крови, а также рассмотрено их влияние на биохимические и функционально-психологические показатели пациентов.

Annotation. The article presents an analysis of the effect of some oligopeptides on the cellular and biochemical composition of donated blood, and also their influence on the biochemical, functional and psychological indicators of patients.

Ключевые слова: олигопептиды, метаболизм, биологический возраст.

Key words: oligopeptides, metabolism, biological age.

Введение

Исследования, позволяющие затормозить процессы старения клеток крови после её забора, влияющие на эффективное функционирование крови, крайне важны для прикладной медицины и особенно для гемотрансфузиологии. Короткие пептиды, обладают протекторными свойствами, которая основана на изменении клеточного метаболизма [1, 6, 7]. В качестве вероятного способа замедления процессов старения заготовленной для гемотрансфузий крови возможно их применение.

Гетерогенность процессов старения весьма ограничивает современные возможности антивозрастной терапии человека [2]. Наибольшее значение в реализации процессов старения организма имеет изменение различных функциональных и клеточно-метаболических показателей организма, зависящие от множества внешних и внутренних этиологических факторов [1]. Через клеточно-ориентированные воздействия олигопептиды способны изменять экспрессию отдельных генов и изменять работу клеток [5, 6]. Кроме

влияния олигопептидов на геном недостаточно изучено клеточно-метаболические процессы происходящие при этом в организме.

Цель исследования – выявление механизмов действия геропротекторов олигопептидного действия посредством сопоставления результатов применения олигопептидов *in vitro* и *in vivo*.

Материалы и методы исследования

В исследовании влияния олигопептидов *in vivo* приняли участие 59 пациентов с паспортным возрастом от 41 до 75 лет, имеющих полиморбидную патологию. Для геропротективной терапии применялись олигопептиды, каждый из которых состоял из трёх аминокислот, в виде препаратов «Везуген» (лиз-глу-асп) и «Пинеалон» (глу-асп-арг) (Изготовитель: химикобиологическое объединение при РАН «Фирма Вита», Санкт-Петербург, Россия). Обследуемые были разделены на три группы. Первая группа, состоявшая из 17 (средний паспортный возраст 62 года) человек, принимала препарат «Везуген» по 20 мкг внутрь во время приёма пищи 2 раза в сутки в течение 20 дней. Вторая группа пациентов состояла из 19 человек (средний паспортный возраст 50 лет) и получала препарат «Пинеалон» по 20 мкг внутрь во время приёма пищи 2 раза в сутки в течение 20 дней. Третья исследуемая группа состояла из 23 пациентов (средний паспортный возраст 55 лет) и получала оба олигопептида в дозировке по 20 мкг внутрь во время еды 2 раза в сутки в чередующемся режиме. Количество женщин и мужчин в каждой исследуемой группе стремилось к соотношению 1 к 1.

Были проанализированы образцы крови, полученные от 47 практически здоровых доноров в возрасте 30-59 лет для оценки гематологических показателей. Соотношение мужчин и женщин стремилось к соотношению 1 к 1. Образцы крови были стабилизированы ЭДТА, с концентрацией пинеалона, везугена и кристагена (про-глу-асп) 20 мкг/мл (химико-биологическое объединение при РАН «Фирма Вита», Санкт-Петербург, Россия). В качестве группы контроля использовали образцы крови, стабилизированные ЭДТА без добавки олигопептидов. Образцы крови выдерживались в холодильнике при 4 градусах Цельсия и относительной влажности 70% в стерильных условиях без доступа воздуха в течение 72 часов. Оценивалась динамика изменений форменных элементов при помощи 18-параметрового гематологического анализатора «PCE – 90Vet» HTI (США).

Биологический возраст определяли с использованием психологических и функциональных тестов в модификации лаборатории антивозрастных технологий ГАУЗ СО ИМКТ. В данной работе использовался патентованный метод ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий (ИМКТ) г. Екатеринбурга определения биологического возраста на основе исследования возраст-зависимых показателей основных систем организма [3, 4].

Результаты обрабатывались статистически по непараметрическим и параметрическим критериям.

Результаты исследования и их обсуждение

При хранении *in vitro* крови без добавления олигопептидов наблюдалось уменьшение количества эритроцитов на 30% ($p < 0,05$) и тромбоцитов на 80% ($p < 0,05$). При этом в крови увеличивалось содержание деформированных эритроцитов на 30% ($p < 0,05$).

Добавление *in vitro* везугена увеличивало содержание эритроцитов на 10% ($p < 0,05$) и тромбоцитов на 20% ($p < 0,05$) по сравнению с образцами крови, в которые не добавляли олигопептиды, что возможно связано с повышением их резистентности.

Пинеалон и, особенно, кристаген в условиях хранения крови *in vitro* замедлили уменьшение количества лейкоцитов по сравнению с образцами крови, в которые не добавляли олигопептиды. При использовании кристагена лейкоцитов сохранилось на 7% больше ($p < 0,05$), чем в образцах крови, в которые не добавляли олигопептиды. Вероятно, это связано с тем, что за счет эпигенетического взаимодействия, олигопептиды увеличивали резистентность клеток к факторам, вызывающим их разрушение при хранении крови, в том числе к перекисному окислению липидов *in vitro* [1, 5, 6]. Также было выявлено увеличение показателя Mid (*10⁹/л), (суммарно моноциты, эозинофилы, базофилы и прогениторные клетки крови). Кристаген вызывал увеличение данного показателя на 90% ($p < 0,05$), что, вероятно, связано с усилением пролиферации прогениторных клеток.

В исследовании было установлено, что оба олигопептида *in vivo* проявляли анаболические эффекты, что хорошо согласуется с результатами, полученными нами *in vitro*. Метаболические изменения периферической крови пациентов, получавших курс пинеалона, характеризовалась повышением белкового и липидного анаболизма, гиполактацидемией, что может свидетельствовать об усилении аэробного катаболизма и могло стимулировать увеличение энергообеспечения синтетических процессов. Повышение содержания белка и его фракций, которое скорее всего, объясняется стимуляцией его синтеза, являлось основным проявлением после применения олигопептидов и была наиболее выражена у везугена [1, 6].

Влияние везугена и пинеалона на метаболизм организма и ЦНС, проявляющееся в уменьшении стато-координационных нарушений, повышении концентрации, понижении тревожно-ипохондрического аффекта приводили к замедлению темпа старения по показателям биологического возраста, наиболее выраженному после приёма пинеалона (на -10,7%, $p < 0,001$). Однако, чередование применения обоих олигопептидов приводило к наибольшему снижению биовозраста после терапии (на -20,3% $p < 0,001$), что значимо превышало описанный в литературе эффект ранее исследованных геропротективных средств [1]. Данные явления свидетельствовали о серьезных функционально-метаболических изменениях в организме. Данные изменения выражались в приросте в крови содержания мочевой кислоты, повышении концентрации холестерина с увеличением коэффициента

атерогенности. Однако, эти изменения в основном не выходили за пределы референсных значений и имели транзиторный характер, что свидетельствовало об усилении в организме пациентов метаболической мобилизации.

Выводы:

1. Везуген и пинеалон увеличивали *ин витро* резистентность эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов к факторам, вызывающим уменьшение количества клеток крови при её хранении, что связано с регуляторным влиянием олигопептидов и, возможно, с активацией пролиферации и созревания их прогениторных клеток-предшественников.

2. Пинеалон и Везуген обладают выраженным анаболическим эффектом *ин vivo* – метаболический механизм, реализующийся через цитопротекторные механизмы и проявляющийся адаптивными перестройками в организме, что приводит к уменьшению биологического возраста на более высоком уровне *ин vivo*.

3. Наибольшую геропротекторную эффективность *ин vivo* выявило комплексное использование одновременно обоих олигопептидов, а в качестве одного из механизмов действия этих веществ, лежащих в основе этого мы видим их выраженный цитопротекторный эффект, обнаруженный нами *ин витро* и – анаболический – обнаруженный нами *ин vivo*.

Список литературы:

1. Мещанинов В.Н. Влияние синтетических пептидов на темпы старения пациентов с хроническими полиморбидными и психоорганическими нарушениями центральной нервной системы в стадии ремиссии. / В.Н. Мещанинов, Е.Л. Ткаченко, и др. // Успехи геронтологии. 2015; 1(28): 62 – 67.

2. Мещанинов В.Н. Метаболизм клеточных структур при старении и стрессе. Монография / В.Н. Мещанинов, Д.Л. Щербаков, В.А. Лукаш – Екатеринбург: Изд-во УГМУ, 2017. – 308 с.

3. Способ определения биологического возраста у женщин: пат. 2617801 Рос. Федерация. № 2016129651 / Гаврилов И.В., Мещанинов В.Н., и др.; заявл. 19.07.16; опубл. 26.04.17, Бюл. № 12. 6 с.

4. Способ определения биологического возраста у мужчин: пат. 2617313 Рос. Федерация. № 2016129302 / Гаврилов И.В., Мещанинов В.Н., и др.; заявл. 18.07.16; опубл. 24.04.17, Бюл. № 12. 6 с.

6. Brunet A. Epigenetics of aging and aging-related disease. / A. Brunet, S.L. Berger. // J Gerontol A Biol Sci Med Sci. – 2014. – №1. – С. 17-20.

5. Хавинсон В.Х. Единый механизм пептидной регуляции физиологических функций в живой природе / В.Х. Хавинсон, Н.С. Линькова // Материалы XXIII съезда физиологического общества им. И.П. Павлова с международным участием. – СПб.: 2017. – С. 1696 – 1698.

6. Ashapkin V.V. Aging as an Epigenetic Phenomenon. / V.V. Ashapkin, L.I. Kutueva, и др. // Успехи геронтологии. 2008; 1 (21): 116-122.

7. Dauber K. Enumeration of viable CD34(+) cells by flow cytometry in blood, bone marrow and cord blood: results of a study of the novel BD™ stem cell enumeration kit. / K. Dauber, D. Becker, M. Odendahl // *Cytotherapy*. – 2011. – №2. – С. 449-458.

8. Zhang L. Short Bio-Active Peptides for Promoting Wound Healing / L. Zhang, R. Carmichael // *Helix biomedix*. – 2017. – С. 11-16.

УДК 577.3,32/.36; 577.334

**Гармаза Ю.М., Белевич Е.И., Тамашевский А.В.
ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ МЕТАЛЛОТИОНЕИНОВ И АКТИВНОСТИ
КАСПАЗЫ-3 В ЛИМФОЦИТАХ ПАЦИЕНТОВ С В-ХРОНИЧЕСКИМ
ЛИМФОЦИТАРНЫМ ЛЕЙКОЗОМ ДО И ПОСЛЕ МОДИФИКАЦИИ
РЕДОКС-БАЛАНСА**

ГНУ “Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси”,
г. Минск, Республика Беларусь

**Harmaza Y.M., Bialevich K.I., Tamashevski A.V.
STUDY OF METALLOTIONEINES EXPRESSION AND CASPASE-3
ACTIVITY IN LYMPHOCYTES OF PATIENTS WITH B-CHRONIC
LYMPHOCYTIC LEUKEMIA BEFORE AND AFTER REDOX-STATE
MODIFICATION**

Institute of Biophysics and Cell Engineering of National Academy of Sciences,
Minsk, Republic of Belarus

Аннотация. Проведена оценка активности цистеиновой протеазы – каспазы-3 и уровня экспрессии цистеин-содержащих низкомолекулярных белков металлотioneинов в лимфоцитах пациентов с В-хроническим лимфоцитарным лейкозом (В-ХЛЛ) до и после модификации их редокс-статуса. В лимфоцитах пациентов при В-ХЛЛ обнаружена повышенная активность каспазы-3 по сравнению с нормальными клетками. H₂O₂-индуцированный окислительный стресс в лейкоэмических клетках приводил к запуску апоптотических процессов по каспазо-зависимому механизму. Установлено, что основным триггером в этом процессе могут выступать металлотioneины, которые играют значительную роль в поддержании гомеостаза ионов цинка в лимфоцитах человека, в том числе и при В-ХЛЛ.

Annotation. The activity of cysteine protease – caspase-3 and the expression of cysteine-containing low molecular weight proteins – metallothioneins in lymphocytes of patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL) were evaluated before and after modification of their redox status. An increased caspase-3 activity was detected in lymphocytes of patients with B-CLL compared to normal cells. H₂O₂-induced oxidative stress in leukemic cells led to the activation of caspase-dependent apoptotic processes. It has been established that metallothioneins are the