

раторной посуды, повысить эффективность обнаружения картофельной палочки.

Библиографический список

1. Галкина, Т.А. Выделение протеолитических ферментов из *Bacillus mesentericus* и изучение их свойств / Т.А. Галкина, А.А. Бондарчук, М.М. Пасечник // *Mikrobiol. Zh.* - № 9. - 1977. - С. 286.

2. Золотухин, С.Н. Смешанная кишечная инфекция телят и поросят, вызываемая патогенными энтеробактериями / С.Н. Золотухин, Л.С. Каврук, Д.А. Васильев // *Ульяновск*, 2005. - С.20-25.

3. Малофеева, Н.И. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов *Escherichia coli O157* и их применение в диагностике / Н.И. Малофеева // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. - Саратов, 2004. - 20 с.

4. Тимаков, В.Д. Реакция нарастания

титра фага (РНФ) / В.Д. Тимаков, Гольдфарб Д.М. // *М.*, 1962. - С. 65-71.

5. Феоктистова, Н.А. Разработка фаговых препаратов индикации и идентификации бактерий рода *Bacillus* в пищевом сырье и продуктах питания / Д.А. Васильев, А.Х. Мустафин, А.И. Калдыркаев // Материалы Всероссийского симпозиума с международным участием «Биологически активные вещества микроорганизмов прошлое, настоящее, будущее», посвященного 90-летию Заслуженного профессора Московского университета Н.С. Егорова 27-29 января 2011 года. - Москва, 2011. - 86 с.

6. Gordon, R. The genus *Bacillus* / R. Gordon // In: *Handb. Microbiol. Cleveland (Ohio)*, 1973. - V.1. - P.71-88.

7. Boeye, A. Numerical taxonomy of *Bacillus* isolates from North Sea sediments / A. Boeye // *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1976. - 26. - N 4. - P.427-441.

УДК 579.22: 53.047

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ *SACCHAROMICES CEREVISAE* ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ФЕМТОСЕКУНДНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Генинг Татьяна Петровна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой «Физиология и патофизиология»

Долгова Динара Ришатовна, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры «Физиология и патофизиология»

Абакумова Татьяна Владимировна, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры «Физиология и патофизиология»

Генинг Снежанна Олеговна, студентка 4 курса медицинского факультета, стажер-исследователь лаборатории молекулярной и клеточной биологии.

ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет»,
432017, г.Ульяновск, ул.Л.Толстого, 42, (8422)327071, Naum-53@yandex.ru;

Ключевые слова: фемтосекундное лазерное излучение, *Saccharomices cerevisae*, система «перекисное окисление липидов-антиоксиданты».

С целью оценки влияния фемтосекундного лазерного излучения на микроорганизмы оценивали в культуральной среде *Saccharomices cerevisae* уровень малонового диальдегида, глутатиона восстановленного и окисленного, активности каталазы, а также ригидность мембраны и жизнеспособность исследуемых клеток.

Введение

Изучение влияния различных физических факторов на биологическую активность ценных микроорганизмов, таких как

дрожжи, имеет большое теоретическое и практическое значение. Дрожжевые клетки (*Saccharomices cerevisae*) используются как модельные клеточные системы при оценке

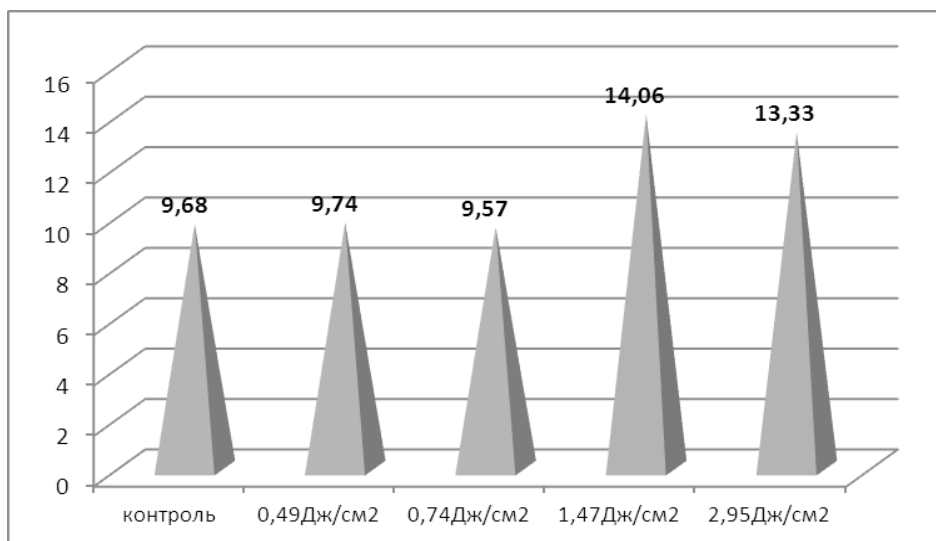


Рис.1. - Уровень МДА в культуральной среде дрожжевых клеток в зависимости от плотности потока энергии ФСЛИ

влияния различных экзогенных факторов [1,2].

В настоящее время известно множество различных способов активации дрожжей, которые можно разделить на две большие группы:

А. *Химическая активация дрожжей*, включающая использование: антимикробных препаратов, ферментных препаратов, специальных подкормок для дрожжей, минеральных веществ (Zn, Fe, Cu, Se), витаминов.

Б. *Физическая активация дрожжей*, включающая такие виды обработок, как

температура, оптическое излучение, ультрафиолет, ультразвук, комплексная обработка дрожжей молекулярным кислородом и магнитным полем, постоянный электрический ток, аэроионизация и др.

В ряде экспериментальных работ установлена возможность изменения биохимических свойств хлебопекарных дрожжей под действием лазерного излучения [3-6].

Доказано, что величина эффекта зависит от дозы излучения, режима обработки, времени последствия и состояния культуры в момент обработки.

Целью исследования явилась оценка морфофункционального состояния *Saccharomyces cerevisiae* после воздействия фемтосекундного лазерного излучения.

Материалы и методы исследования:

Использована суточная культура хлебопекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Жидкая питательная среда для культивирования клеток состояла из 2% сахарозы,

2% пептона и 1% дрожжевого экстракта. Облучение проводилось в пластиковых чашках Петри диаметром 35 мм на расстоянии 7 см от световода лазера в течение 10, 15, 30, 60 минут. Интенсивность облучения составила 0,82 Вт/см². Плотность потока энергии при этом составила: 0,49, 0,74, 1,47, 2,95 Дж/см² при экспозиции 10,15,30,60 минут.

Таблица 1
Активность каталазы в культуральной среде дрожжевых клеток в зависимости от плотности потока энергии ФСЛИ

	Контроль	0,49 Дж/см ²	0,74 ж/см ²	1,47 Дж/см ²	2,95 Дж/см ²
Каталаза, ммоль/с/л	0,56±0,061	0,48±0,043	0,45±0,047	0,37±0,041*	0,39±0,044*

* - данные статистически значимо отличаются от контрольных (p≤0,05)

Таблица 2
Соотношение почкующихся и мертвых дрожжевых клеток после воздействия ФСЛИ

	Почкующиеся клетки, %	Мертвые, %
контроль	11,5±1,08	1,98±0,33
0,49 Дж/см ²	16,5±1,55*	1,66±0,27
0,74 Дж/см ²	15,7±1,26*	1,92±0,35
1,47 Дж/см ²	4,78±0,42*	6,19±0,85*
2,9 Дж/см ²	3,08±0,35*	4,52±0,72*

* - данные статистически значимо отличаются от контрольных (p≤0,05)

Изучение параметров системы «перекисное окисление липидов - антиоксиданты» (ПОЛ-АО) проводилось в культуральной среде. Интенсивность ПОЛ оценивали по уровню вторичного продукта – МДА в тесте с тиобарбитуровой кислотой спектрофотометрически при 535 нм [7]. Для определения соотношения глутатиона окисленного и восстановленного использовали спектрофотометрический метод, основанный на окислении GSH 2-нитро-5 тиобензойной кислотой [8]. Активность каталазы определяли по Карпищенко А.И. [9].

Жизнеспособность дрожжевых клеток после воздействия ФСЛИ определяли в тесте с трипановым синим. Подсчет производился в камере Горяева. Для оценки топологии и ригидности мембраны *S.cerevisiae* использован метод сканирующей зондовой микроскопии (СЗМ) (SolverPro NT-MDT, Россия). Ригидность мембран оценивалась по модулю Юнга, который рассчитывали согласно теории Герца [10].

В исследовании использован волоконный эрбиевый фемтосекундный лазер, разработанный совместно Научным центром волоконной оптики РАН и Ульяновским государственным университетом, со следующими характеристиками: длительность импульса — $82 \cdot 10^{-15}$; частота следования импульсов — $200-250 \cdot 10^{-15}$; средняя мощность — 1,26 мВт; пиковая мощность — 6кВт; длина волны — 1,55 мкм.

Статистическая значимость полученных результатов оценивалась с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни (Stata 6.0).

Результаты исследования: Нами было показано изменение уровня МДА в культуральной среде *Saccharomyces cerevisiae* после ФСЛИ.

Данные, представленные на рис.1, свидетельствуют о до-

зозависимом увеличении содержания продукта ПОЛ – МДА, которое наблюдается только при 1,47 и 2,95 Дж/см². При меньших значениях плотности потока энергии (0,49 и 0,74 Дж/см²) данные статистически значимо от контроля не отличаются. Таким образом, ФСЛИ повышает уровень МДА только при накоплении определенной дозы световой энергии.

Изучение активности фермента эндогенной антиоксидантной системы - каталазы в культуральной среде *S.cerevisiae* после воздействия ФСЛИ показало, что наблюдается незначительное снижение активности исследуемого фермента, наиболее выраженное при 1,47 Дж/см² (табл.1).

Морфологический анализ показал, что после облучения фемтосекундным лазером жизнеспособность *S.cerevisiae* статистически значимо снижается при 1,47 Дж/см² и 2,9 Дж/см². При 10 и 15-минутной экспозиции отличий от необлученных клеток не наблюдается (табл.2). Число клеток, вступающих в деление, также изменяется. Отмечено достоверное повышение почкующихся клеток при 0,49 Дж/см² и 0,74 Дж/см². Однако при дальнейшем увеличении плотности потока энергии число почкующихся клеток снижается, составляя $4,78 \pm 0,42$ % при 1,47 Дж/см² и $3,08 \pm 0,35$ % при 2,9 Дж/см². Таким образом, ФСЛИ при краткой экспозиции стимулирует процессы деления *S.cerevisiae*;

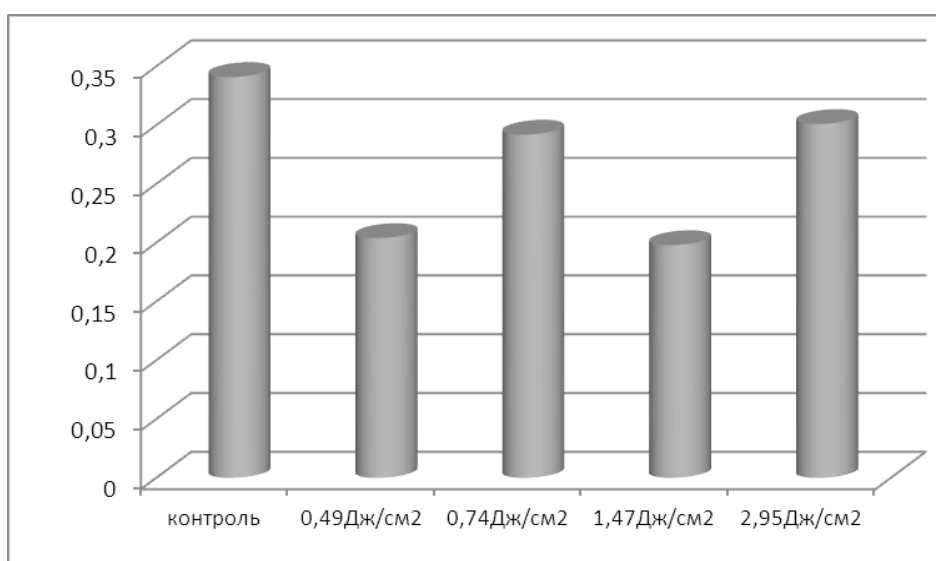


Рис.2. - Уровень GSSG/GSH в лизате дрожжевых клеток после воздействия ФСЛИ.

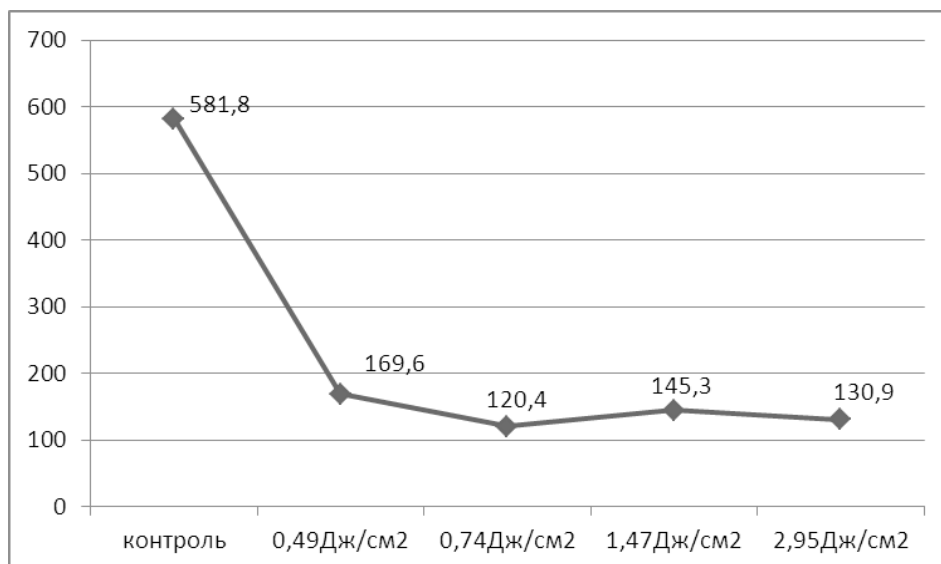


Рис. 3. - Ригидность мембраны *S.cerevisiae* после различных доз ФСЛИ.

повышением световой дозы, напротив, вызывает гибель клеток.

Данные, представленные на рис.2, свидетельствуют о волнообразном изменении редокс-потенциала при увеличении плотности потока энергии. Наиболее выраженные изменения наблюдаются при 0,49 Дж/см² - 0,204±0,058 и при 1,47 Дж/см² - 0,198±0,070, что статистически значимо ниже контрольных данных - 0,341±0,090. Таким образом, изменение окислительно-восстановительного потенциала *S.cerevisiae* после воздействия ФСЛИ свидетельствует о снижении уровня восстановленного глутатиона, что ряд авторов связывает с развитием оксидативного стресса [11].

Данные, изображенные на рис.3, свидетельствуют о снижении ригидности и, соответственно, об увеличении упругих свойств мембраны клеток. Изменения имеют выраженный характер и наблюдаются на всех изученных плотностях потока энергии.

Выводы:

1. Установлено возрастание в культуральной среде *S.cerevisiae* уровня МДА - терминального продукта ПОЛ - при действии высоких доз (1,47 Дж/см² и 2,95 Дж/см²) при одновременном значимом снижении активности каталазы. Подобная динамика компонентов системы «ПОЛ-АО» может свидетельствовать о возникновении оксидативного стресса.

2. При оценке окислительно-восстановительного потенциала *S.cerevisiae* после ФСЛИ показано накопление глутатиона окисленного при одновременном снижении GSH, коррелирующее со снижением пролиферативной активности дрожжевых клеток.

3. Установлено снижение жесткости мембраны дрожжевых клеток

4. На основании результатов исследований можно предпо-

лагать возможность изменения морфофункционального состояния дрожжевых клеток при воздействии ФСЛИ в диапазоне использованных доз.

Работа поддержана грантами гос. задания МИНОБРНАУКИ РФ, ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009-2013 гг.».

Библиографический список:

1. Федорова, Н.Н. Лазерная активация хлебопекарных дрожжей / Н.Н.Федорова, Ж.К.Усембаева, А.Н.Нусупкулова // Электронная обработка материалов. - 1970. - №3(33). - С.31-32.
2. Глуценко, Л.Ф. К вопросу об управлении жизнедеятельностью микроорганизмов (на примере дрожжей) / Л.Ф.Глуценко, Н.А.Глуценко. М.: Издательство «Академия Естествознания», 2010. - 54с.
3. Исмаилов, Э.Ш. Действие лазерного излучения на биотехнологические свойства дрожжей / Э.Ш.Исмаилов, Э.И.Шахмарданова, Г.А.Рабаданов, З.Г. Сулейманова // Вестник Дагестанского научного центра.- 2007. - №29. - С.44-46.
4. Tashiro, H. Yeast, a convenient model system to study the biological effects of laser irradiation / H.Tashiro, G.Lazarova // Focused on Microbial Diversity. 1993.-№3. - P.37-38.
5. Bakeeva, L.E. Effect of He-Ne laser ra-

diation of *torulopsis sphaerica* yeast cells on the ultrastucture of mitochondrial apparatus incells-descendants / L.E. Bakeeva, V.M Manteuffel', T.I. Karu // *Tsitologiya*. - 1999. - Vol. 41, №11. - P.966–974.

6. Manteuffel' V.M. He-Ne-Laser Irradiation Affects the Structure of Mitochondria in the Sub-sequent Yeast Cells / V.M. Manteuffel', Bakeeva, L.E., Karu, T.I.// *Dokl.Akad. Nauk*. 1999. - Vol. 366, №5.- P.702–704.

7. Андреева, Л.И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой /Л.И.Андреева, Л.А.Кожемякин, А.А.Кишкун // *Лаб.дело*.-1988.-№11.- С.41-43.

8. Khramtsov, V.V. ESR study of proton transport across phospholipid vesicle membranes / V.V.Khramtsov, M.V.Panteleyev, L.M.Weiner // *J. Bioch. Biophys. Methods*. 1989.–Vol.18.–P.237-246.

9. Карпищенко, А.И. Медицинские лабораторные технологии и диагностика: Справочник: в 2 т. – СПб.: Интермедика, 1999. – С. 27-28.

10. Shackelford, R.E. Oxidative stress and cell cycle checkpoint function / R.E.Shackelford, W.K.Kaufmann, R.S.Paules // *Free Radic Biol Med.* - 2000. - 28(9). - P.1387-404.

УДК 616-091

ВЛИЯНИЕ ДИМЕФОСФОНА НА МАКРОМОРФОЛОГИЮ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫСЫ

Ипастова Ирина Дмитриевна, аспирантка

Перфильева Наталья Петровна, доктор биологических наук, профессор кафедры «Анатомия, физиология и гигиена человека»

ФГБОУ ВПО «УлГПУ им. И.Н. Ульянова»

432700 г. Ульяновск, пл. 100-летия со дня рождения В.И. Ленина, дом 4.

Тел.: 8(917) 6143484 e-mail: rector@ulspu.ru

Ключевые слова: димефосфон, макроморфология, головной мозг, мозжечок крысы.

Приведены данные макроморфологического исследования мозжечка и головного мозга в целом у интактных крыс. Выявлены закономерности между терапевтической и летально-токсической дозами введения димефосфона крысам внутрибрюшинным методом и их воздействием на некоторые морфометрические показатели нервной системы. Определены коэффициенты влияния формалина на вес и объем головного мозга у крыс.

Димефосфон состоит в регистре лекарственных средств России (РЛС) [1], согласно которому по МНН значится как диметилособутилфосфонилдиметилат.

В состав молекулы активного вещества входит атом фосфора, в результате чего димефосфон относится к классу фосфорорганических соединений, и, тем не менее, обладающих малой токсичностью [2],[3].

Препарат обладает мембранопротекторными свойствами; в этом причина его разнообразного фармакологического

эффекта [2],[3], (коллективный труд по его изучению принадлежит Б.А. Арбузову, А.О. Визелю, Р.С. Гараеву, К.М. Ивановской, И.С. Мокринской, Р.Х. Хафизьяновой, И.В. Заиконниковой, И.А. Студенцовой, Л.Е. Зиганшиной, В.Н. Цибулькиной, В.П. Булатову, А.В. Мазурину, В.П. Панковой, В.И. Данилову, М.Ф. Исмагилову, А.А. Муслинкину, Е.Г. Пряжникову [4]): нормализация КЩС, противовоспалительный, иммуномодулирующий, антигипоксический, радиопротективный, антисептический и др.; который объяс-