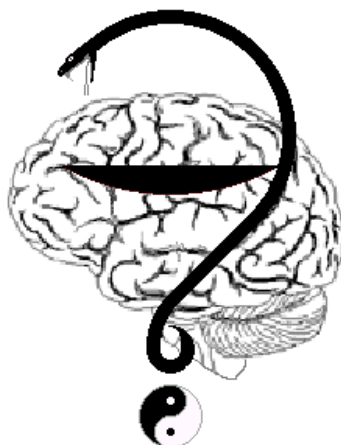


РОССИЙСКОЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО ИМ. И.П. ПАВЛОВА  
ФГБУН ИНСТИТУТ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ  
И НЕЙРОФИЗИОЛОГИИ РАН  
МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. М.В. ЛОМОНОСОВА  
ФГБНУ НИ ИНСТИТУТ НОРМАЛЬНОЙ ФИЗИОЛОГИИ ИМ. П.К. АНОХИНА  
ФГБНУ ИНСТИТУТ ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОФИЗИКИ РАН  
ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ И САНОКРЕАТОЛОГИИ АН МОЛДОВЫ  
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ



**XV международный междисциплинарный конгресс**

# **НЕЙРОНАУКА ДЛЯ МЕДИЦИНЫ И ПСИХОЛОГИИ**

**4-10 июня 2019 г.**

**Школа**

# **ДОСТИЖЕНИЯ МЕЖДИСЦИПЛИНАРНОЙ НЕЙРОНАУКИ В XXI ВЕКЕ**

**30 мая-3 июня 2019 г.**

**Судак, Крым, Россия, 30 мая – 10 июня 2019 года**

хлорофиллином. Исследование цитотоксического действия показало, что наибольшее количество погибших клеток асцитной карциномы Эрлиха (включивших пропидиум йодид) обнаружено после контакта с Хлорофиллом ОХУ и облучения. При цитологическом изучении препаратов отмечено значимое ( $P=0.01$ ) повышение количества AnV-позитивных клеток после контакта с Хлорофиллом ОХУ по сравнению с интактной культурой.

Выводы. Липосомальная форма хлорофилла – хлорофиллин, который является активным действующим компонентом Хлорофилла ОХУ, обладает выраженным прооксидантным и цитотоксическим эффектом и способен активно проникать в клетки-мишени. Полученные данные указывают на перспективность применения липосомальной формы хлорофилла в качестве системы доставки фотосенсибилизаторов в опухолевые образования.

#### **CELL-MOLECULAR MECHANISMS OF EFFECT CHLOROPHYLLIN DERIVATIVES IN PHOTODYNAMIC THERAPY CANCER**

**Plekhova Natalia G.<sup>1</sup>, Stepanyugina Alexandra K.<sup>1</sup>, Radkov Ivan V.<sup>1</sup>, Radkova Ludmila I.<sup>2</sup>**

Pacific State Medical University, Vladivostok; Company "Community Center Region", Moscow, Russia;  
[pl\\_nat@hotmail.com](mailto:pl_nat@hotmail.com)

In medicine in the field of oncology therapy of photosensitizers is widely used, the biological effect of which is based on the ability to penetrate cells. Under the influence of low-intensity radiation with wavelengths of the visible spectrum, such cells begin to produce cytotoxic active oxygen molecules (AMC). These molecules are influence the induction of apoptosis or necrosis of tumor cells. At present, metalloporphyrins and natural porphyrins, derivatives of chlorophyll, are widely used as photosensitizers. Aim: to conduct a comparative analysis of the prooxidant and cytotoxic activity of photosensitizers - chlorophyllin, chlorophyll OXY and chlorin E6.

Materials and methods. The pro-oxidant activity of photodynamic preparations was studied on a model of a primary neutrophil culture; the cytotoxic effect was evaluated on Ehrlich ascites carcinoma cells. As a compound that marks apoptotic cells, monoclonal antibodies to annexin V (AnV) conjugated with FITC were used and cells were stained with dihydrogen-rhodamine 123 to assess the intracellular production of ROS.

Results. Analysis of the accumulation of photosensitizers in the cellular cytoplasm at an excitation wavelength of 620 nm showed that the largest number of cells fluorescent in the specified range was observed after 2 hours of contact with OXY Chlorophyll and was 25.4%, whereas after contact with E6 chlorine - 17.6%. When studying the content of dihydrorhodamine 123 in cells (a specific probe for determining oxidative metabolism in neutrophils) under the influence of photosensitizers, it was found that the highest number of positive cells was determined after contact with chlorophyllin. A study of the cytotoxic effect showed that the highest number of dead Ehrlich ascites carcinoma cells (including propidium iodide) was detected after contact with OXY Chlorophyll and irradiation. The cytological study of slides, a significant ( $P = 0.01$ ) increase in the number of AnV-positive cells after contact with OXY Chlorophyll was observed compared with the intact culture.

In this way the liposomal form of chlorophyll – chlorophyllin, which is an active active ingredient of OXY Chlorophyll, has a pronounced prooxidant and cytotoxic effect and is able to actively penetrate into target cells. The data obtained indicate the promise of using the liposomal form of chlorophyll as a delivery system for photosensitizers in tumor formations.

#### **ПОДХОДЫ К ПРЕОДОЛЕНИЮ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА. НОВЫЕ СРЕДСТВА ДОСТАВКИ АКТИВНЫХ СУБСТАНЦИЙ**

**Покровская Л.А.<sup>1</sup>, Загулова Д.В.<sup>1</sup>, Ботвин В.В.<sup>1</sup>, Твердохлебов С.И.<sup>2</sup>, Большасов Е.Н.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия;

<sup>2</sup> Томский политехнический университет, Томск, Россия; [pokrovskaya@ect-center.com](mailto:pokrovskaya@ect-center.com)

<https://doi.org/10.29003/m516.sudak.ns2019-15/332-333>

Значительным препятствием для проникновения в мозг большинства готовых лекарственных форм (ГЛФ) и или активных фармацевтических субстанций (АФС). Так в настоящее время известно, что самостоятельно проникают лишь 2% из известных ГЛФ. Известно четыре механизма естественного транспорта биологически активных веществ через ГЭБ: простая и облегченная диффузия, транспорт опосредованный переносчиком и эффлюксный транспорт.

Появляется новый класс перспективных соединений белковой природы, для которых открыт вопрос транспортной доставки, так не удалось доставить в мозг пациентов фактор AGT-190 (лиганда к рецептору инсулина и белковый фактор GDNF, glial-cell-derived neurotrophic factor). Известны и другие рекомбинатные факторы с нейротропными свойствами, для которых идет поиск путей доставки. Известные и поисковые направления на сегодняшний день: прямое инвазивное интратекальное введение и введение с помощью специальных катетеров в головной мозг; исследование интраназальной доставки через обонятельную оболочку некоторых малых молекул; снижение барьерной функции ГЭБ (с помощью:  $H_2O_2$ , гиперосмотического раствора, рецепторных агонистов, например, Seroport (RMP-7), а также ультразвука; рецептор-лиганд доставка с рецепторами к инсулину, инсулиноподобным факторам роста, трансферрину, лептину и другим; использование молекулярных переносчиков (например, L-aminoacid transporter, нейротрофический фактор из глиальных, векторы-носители (в основном, антитела), аполипротеины и т.д.; липосомы, иммунолипосомы, способные, в том числе, транспортировать в мозг противоопухолевые антибиотики; клеточные транспортеры: периваскулярные макрофаги, мезенхимальные стволовые клетки, например, для доставки искусственного фактора транскрипции к нейронам в головном мозге для лечения генетических заболеваний грант Калифорнийского университета); и биodeградируемые полимерные микрокапсулы (МК) и наночастицы (НЧ) на основе PLGA. Использование полимерных носителей обусловлено их инертностью, стабильностью, достаточной устойчивостью к ферментам, высоким профилем безопасности при соответствующей технологии синтеза (одобрение FDA и EMA), 100 %

биоразлагаемостью и отсутствием токсичных продуктов биodeградации. Химическая структура (в зависимости технологии получения) обладает высокой способностью присоединять молекулы различной природы за счет свободных связей. Это дает возможность также создавать средства пролонгированного действия на их основе, в том числе средства доставки с нейропротективной активностью.

В тоже время есть сведения о роли заряда и стереохимии (D-форма предпочтительнее по имеющимся данным). Размер частиц определяется строением и свойствами ГЭБ. Установлено, что НЧ размером менее 100 нм (оптимально 30–50 нм) способны проходить через ГЭБ независимо от их поверхностного заряда, так как могут проникать за счет эндоцитоза.

Нами была разработана технология синтеза PLGA на основе *dl*-лактида и гликолида, который аморфный по структуре, что важно для технологии создания полимерных капсул.

Методом электроспиннинга были сформированы капсулы с фактором, обладающим остеогенной активностью на основе секрета МСК крыс. Далее, получен аналогичный фактор из линии мезенхимных стволовых клеток (МСК) – нетрансформированная линия FetMSC из Коллекции культур клеток позвоночных (Институт цитологии РАН) и подтверждена его активность. На следующем этапе будет получен фактор на основе МСК человека (донора- добровольца) и инкорпорирован в PLGA одной из технологий: с применением распылительной сушки, электроспиннинга или химической технологией формирования капсул.

Разрабатываемый подход применим и к созданию нового класса лекарственных средств на основе факторов с нейрогенной активностью и системы доставки с возможным преодолением ГЭБ.

Не исключено, то потребуются функционализация поверхности МК или НЧ на основе PLGA. Такие системы разрабатываются и существуют подходы: рисоединения полимерных цепей (илирование) полиэтиленгликоля (PEG), гибридизации типа ядро-оболочка, гибридизации клеток с PLGA, поверхностной дериватизации, использование функциональных возможностей бисфосфоната, лектина, сиаловой кислоты, биотина, фолата, трансферрина, пептидов, векторных антител, нуклеотидов, рецептор-специфической конъюгации и других конструкций для адресной доставки.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ, соглашение № 14.575.21.0164, идентификатор RFMEFI57517X0164.*

#### APPROACHES TO OVERCOMING THE BLOOD–BRAIN BARRIER. NEW MEANS OF DELIVERY OF ACTIVE SUBSTANCES

**Pokrovskaya Liubov A.<sup>1</sup>, Zagulova Diana V.<sup>1</sup>, Botvin Vladimir V.<sup>1</sup>, Tverdokhlebov Sergei I.<sup>2</sup>, Bolbasov Evgeny N.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia; <sup>2</sup> Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia; pokrovskayal@ect-center.com

#### СОСТОЯНИЕ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ И ТРАНСПОРТНЫХ СИСТЕМ ТОНКОЙ КИШКИ ПРИ ДИАБЕТЕ ТИПА 2

**Полозов А.С.<sup>1</sup>, Дмитриева Ю.В.<sup>1</sup>, Савочкина Е.В.<sup>1</sup>, Алексеева А.С.<sup>1</sup>, Грефнер Н.М.<sup>2</sup>, Груздков А.А.<sup>1</sup>, Громова Л.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, С.-Петербург, Россия; <sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии РАН, С.-Петербург, Россия; polozovalexandr20@gmail.com

Цель работы: в опытах на крысах исследовать изменения активности мембранных пищеварительных ферментов и всасывания моносахаридов (глюкоза, галактоза, фруктоза) в тонкой кишке при экспериментальном диабете 2 типа.

Материалы и методы. Экспериментальный диабет типа 2 у крыс вызывали введением стрептозотоцина (в/б, 30 мг/кг) после содержания животных в течение 2-х мес. на высоко жировой диете. Всасывание моносахаридов в тонкой кишке оценивалось по скорости свободного потребления голодавшими (18-20 ч) животными растворов глюкозы (20%), галактозы (10%) и фруктозы (10%). Морфометрические показатели тонкой кишки определяли с помощью световой микроскопии, а содержание транспортеров SGLT1 и GLUT2 в энтероцитах - методами иммуногистохимии.

Результаты. Через 6 и 9 недель после введения стрептозотоцина всасывание глюкозы в тонкой кишке крыс повысилось на 20-27%, галактозы - в 2 и 2,6 раз, а фруктозы достоверно не изменилось по сравнению с контролем (в отсутствие диабета). При диабете в тощей кишке крыс наблюдались тенденции к увеличению числа энтероцитов на ворсинках и содержания транспортеров SGLT1 (но не GLUT2) в апикальной мембране энтероцитов, а также активностей мальтазы, щелочной фосфатазы и аминоксипептидазы N.

Выводы. Повышение всасывания глюкозы в тонкой кишке при диабете типа 2 происходит за счёт увеличения в энтероцитах активного транспорта глюкозы с участием транспортера SGLT1 и численности энтероцитов на ворсинках (неспецифический механизм). Изменение всасывания различных моносахаридов при диабете типа 2 зависит от роли конкретного моносахарида в энергетическом обмене. Полученные результаты могут способствовать разработке новых оптимальных терапевтических подходов для снижения хронической гипергликемии при диабете типа 2.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 18-015-00248.*

#### CONDITIONS OF THE DIGESTIVE AND TRANSPORT SYSTEMS OF THE SMALL INTESTINE IN TYPE 2 DIABETES

**Polozov Alexandr S.<sup>1</sup>, Dmitrieva Yulia V.<sup>1</sup>, Savochkina Elizaveta V.<sup>1</sup>, Alekseeva Anna S.<sup>1</sup>, Grefner Nadezhda M.<sup>2</sup>, Gruzdkov Andrey A.<sup>1</sup>, Gromova Ludmila V.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia; <sup>2</sup>Institute of Cytology of the Russian Academy of Science St. Petersburg, Russia; polozovalexandr20@gmail.com