

фалов: в возрасте 20 – 30 лет – 9 %, 31 – 40 лет – 23 %, 41 – 50 лет – 11 %, 51 – 60 лет – 41%, 61 – 70 лет – 45 %, 71 – 80 лет – 50%. Среднестатистическое значение поперечного размера мозжечка в возрасте от 20 до 60 лет у мезоцефалов – $116,5 \pm 2,3$ мм., брахиоцефалов – $117,0 \pm 2,2$ мм. Количество мозжечков с поперечным размером меньше среднестатистических значений у мезоцефалов и брахиоцефалов: в возрасте 20 – 30 лет 18 %, 31 – 40 лет – 23 %, 41 – 50 лет – 15%, 51 – 60 лет – 54 %, 61 – 70 лет – 47 %, 71 – 80 лет – 50 %. Среднестатистическое значение продольного размера мозжечка в возрасте от 20 до 60 лет у мезоцефалов – $67,0 \pm 0,5$ мм.(правое полушарие), $66,9 \pm 0,6$ мм. (левое полушарие), у брахиоцефалов $65,6 \pm 0,5$ мм. (правое полушарие), $65,7 \pm 0,6$ мм. (левое полушарие). Количество мозжечков с продольным размером меньше среднестатистических значений у мезоцефалов и брахиоцефалов: в возрасте 20 – 30 лет – 18 %, 31 – 40 лет – 29 %, 41 – 50 лет – 13 %, 61 – 70 лет – 42 % и 71 – 80 лет – 50 %. Вертикальный размер на изолированных препаратах мозжечка человека с возрастом не изменялся.

Выводы:

- 1) На изолированных препаратах мозжечка человека регистрируются изменения его массы, поперечного размера и продольного размера в зависимости от возраста
- 2) В возрасте от 20 до 50 лет отмечается некоторое количество мозжечков с параметрами меньше среднестатистических значений
- 3) После 50 лет количество мозжечков с параметрами меньше среднестатистических значений резко увеличивается и достигает 50%.

ПОИСК ПЕРСПЕКТИВНЫХ ШТАММОВ ЛАКТО- И БИФИДОБАКТЕРИЙ ДЛЯ КОНСТРУИРОВАНИЯ НОВЫХ ПРОБИОТИКОВ

Тимербаева Р.Х., Туйгунов М.М.,
Назырова Н.Р., Байрамгулова Г.Б.
ФГУП «НПО «Микроген» МЗ и СР РФ,
филиал в г. Уфа «Иммунопрепарат»

Успешное развитие сферы производства препаратов и продуктов функционального питания с пробиотическими свойствами сопряжено с актуальной проблемой получения эффективных ключевых составляющих – высокоактивных штаммов лакто- и бифидобактерий. Микроорганизмы-пробионты, перспективные для последующего включения в состав индигенной микрофлоры биотопов, должны обладать рядом свойств, позволяющих конкурировать с условно-патогенными и патогенными микроорганизмами и колонизировать определенный биотоп макроорганизма. Одним из важных факторов эффективной колонизации макроорганизма является контактное воздействие микрофлоры, связанное с адгезией бактериальных клеток к эпителию, так как адгезивная активность (АА) штаммов-пробионтов является ключевым признаком, обеспечивающим пролонгирование лекарственного действия пробиотика.

Целью нашего исследования явилось изучение адгезивного потенциала лакто- и бифидобактерий в

смоделированной *in vitro* системе «микроорганизмы-пробионты – кишечные энтероциты» с последующим отбором перспективных адгезивно-активных штаммов.

В качестве объектов исследований были выбраны производственные штаммы родов *Lactobacterium* и *Bifidobacterium*: *L. fermentum* 90Т-С4, *L. plantarum* 8Р-А3, *L. acidophilum* КЗ-Ш24, *L. acidophilum* 100 АШ, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricum* 8-79 и *B. bifidum* 1, *B. bifidum* ЛВА-3, *B. bifidum* 791, *B. adolescentis* МС-42. Адгезивную активность микроорганизмов - пробионтов определяли методом цитадгезии на энтероцитах кишечника аутбредных крыс [Горская Е. М. и др., 1989, 1990]. Для выделения лакто- и бифидобактерий, прочно зафиксированных на эпителиальных клетках тонкого кишечника крыс, использовали оригинальный верографин-фикколовый тест [Махрова Т.В., 2004].

Оценка использованного нами метода определения адгезивности лакто- и бифидобактерий показала, что для успешной реализации репродуктивного колонизационного процесса в полостях макроорганизма необходима селекция промышленных штаммов с целью отбора адгезивно-активных бактерий, так как механизм колонизационной резистентности макроорганизма связан с селективным преимуществом в эпитопах способных к адгезии мукозоассоциированных бактерий-пробионтов.

В результате проведенных исследований адгезивных свойств лакто- и бифидобактерий установлено, что исследуемые штаммы обладают разным исходным уровнем адгезивности. Анализ результатов среднего показателя адгезии (СПА), коэффициента участия энтероцитов в адгезивном процессе (КУЭ) и индекса адгезивности микроорганизмов (ИАМ) позволил отнести промышленные штаммы лактобактерий *L. fermentum* 90Т-С4, *L. plantarum* 8Р-А3 и бифидобактерий *B. adolescentis* МС-42, *B. bifidum* 1 к среднеадгезивным, остальные изученные нами штаммы лакто- и бифидобактерий в опытах *in vitro* обладают низкой АА в отношении энтероцитов аутбредных крыс.

Так как в основе биотехнологии препаратов с пробиотическими свойствами лежат процессы направленного использования жизнедеятельности микроорганизмов, мы на основании изучения производственно-ценных свойств исследуемых штаммов провели исследования по селективному отбору адгезивно-активных бактерий из культур *L. fermentum* 90Т-С4, *L. plantarum* 8Р-А3, *B. adolescentis* МС-42 и *B. bifidum* 1. После наслаивания клеточно-бактериальных суспензий на фиккол-верографин и центрифугирования получили клеточный осадок, состоящий из прошедших сквозь градиент концентрации энтероцитов с прочноадгезированными микроорганизмами. При сравнительной оценке результатов показателей АА бактерий клеточного осадка и бактерий, находящихся на верхних уровнях градиента, установлена статистическая значимость различий адгезивных свойств лакто- и бифидобактерий, полученных в смоделированной *in vitro* системе «микроорганизмы-пробионты – кишечные энтероциты» ($p < 0,01$). С целью отработки метода и стандартизации учета результатов тестиро-

вания уровня адгезивной активности штаммов установлен оптимальный режим экспериментов. Полученные результаты исследований легли в основу разработки метода селекции промышленных штаммов лакто- и бифидобактерий с предварительным выявлением высокоадгезивных бактерий (СПА выше 10), многократным пассированием высокоадгезивных штаммов в селективных питательных средах и последующим изучением стабильности адгезивных свойств и необходимой репродукционной дозы полученных культур лакто- и бифидобактерий.

Таким образом, применяемая нами модель выделения адгезивно-активных штаммов лакто- и бифидобактерий модифицированным верографин - фиколовым методом является перспективной для разработки методологии получения производственно-ценных штаммов-пробионтов. Терапевтическая программа лечения дисбактериозов, основанная на применении пробиотиков с высоким содержанием консорции высокоадгезивных лакто- и бифидобактерий, позволит быстрее сформировать необходимый уровень индигенной микрофлоры в кишечном микробиоценозе.

БЕССЫВОРОТОЧНАЯ ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК VERO

Трошкова Г.П., Маргынец Л.Д.,
Кирова Е.В., Сумкина Т.П., Юдин А.В.
*Государственный научный центр
вирусологии и биотехнологии «Вектор»,
Кольцово*

В настоящее время производство многих биотехнологических продуктов (вакцины, факторы роста, гормоны, ферменты, интерфероны и др.), получаемых с помощью перевиваемых клеточных линий, все еще основано на питательных средах, содержащих сыворотку крови (СК) животных. Сыворотка крови содержит комплекс разнообразных компонентов, влияющих на рост клеток: питательные вещества, факторы роста, факторы прикрепления (способствующие прикреплению субстратзависимых клеток), белки, связывающие тяжелые металлы, ингибиторы протеаз и др. Однако использование СК для процесса клеточной пролиферации имеет и некоторые недостатки, такие как вариация качества и высокая цена сыворотки, постоянная потенциальная возможность ее контаминации вирусами, микоплазмами, бактериями и т.д. Существует реальная опасность инфицирования препаратов, полученных на тест-культурах с использованием СК животных, прионами. Поэтому конструирование эффективных бессывороточных питательных сред является на сегодняшний день одной из актуальных проблем клеточной биотехнологии.

Использование бессывороточной питательных сред для культивирования клеток позволяет существенно уменьшить риск контаминации, а также сделать биопроцесс более контролируемым. При этом повышается воспроизводимость результатов на пассируемых культурах вследствие большей стабильности состава среды (свойства сыворотки могут меняться от партии к партии), снижается стоимость среды (осо-

бенно в случае эмбриональной сыворотки КРС), отсутствуют специфические антитела и цитотоксичность, которую иногда проявляет СК.

Состав используемой культуральной питательной среды является фактором, оказывающим огромное влияние на клеточный метаболизм. Обычно рецепты бессывороточных сред являются предметом интеллектуальной собственности компаний и недоступны для широкого использования. Однако требования чистоты и безопасности, предъявляемые в настоящее время к медицинским иммунобиологическим препаратам, могут быть эффективно достигнуты только при использовании бессывороточных технологий. Поэтому в последние два десятилетия ведутся интенсивные исследования по разработке бессывороточных питательных сред, при этом все более широкое применение в качестве аминокислотно-пептидной основы вирусологических сред находят ферментативные белковые гидролизаты.

Учитывая тот факт, что в состав ферментативных гидролизатов входят низкомолекулярные пептиды, микроэлементы и другие биологически активные соединения, усиливающие обменные процессы в клетках, нами была совершенствована технология получения гидролизатов растений и оптимизирован состав питательной среды для культур клеток млекопитающих. Для культивирования клеток предложена питательная среда на основе сбалансированного солевого раствора Хенкса, содержащая ферментативный гидролизат обезжиренной соевой муки (5,0 г/л) и ростовые белки (3,0 г/л), выделенные из сыворотки крови КРС. Кроме этого в состав среды дополнительно были включены витамины (тиамин, пиридоксаль, мезоинозит, пантотенат кальция, никотинамид, фолиевая кислота, рибофлавин), а также некоторые микроэлементы (ионы железа, цинка, селена, кобальта и молибдена). Проведенные исследования показали пригодность питательной среды на основе ферментативного гидролизата сои для культивирования клеток Vero. Индексы пролиферации клеточной культуры Vero в бессывороточной питательной среде на основе гидролизата сои и в контрольной среде, содержащей 5 % сыворотки КРС, были сопоставимы ($4,7 \pm 0,2$) и ($4,9 \pm 0,3$) соответственно.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ СРАВНЕНИЕ НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ ФЕНИЛЬНОГО, ИМИДАЗОЛЬНОГО И ПИРИДИНОВОГО ПРОИЗВОДНЫХ ГАММА-АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ ПОСЛЕ ОСТРОГО СТРЕССОРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Тюренков И.Н., Бородкина Л.Е., Епишина В.В.
*Волгоградский государственный
медицинский университет,
Волгоград*

Цель данного исследования – сравнительное изучение нейропротекторных свойств фенильного (фенибута), имидазольного (РГПУ-196) и пиридинового (РГПУ-201) производных гамма-аминомасляной ки-