

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-

слоты (ГАМК) в условиях экспериментального стресса.

Материалы и методы исследования Острый эмоционально-болевого стресс у животных вызывали путем 12-часового подвешивания с помощью зажимов Кохера за кожную дорсальную шейную складку. Функциональное состояние ЦНС оценивалось в тестах: «Открытое поле» (ОП), «Условная реакция пассивного избегания» (УРПИ), «Тест экстраполяционного избегания» (ТЭИ). Эксперименты выполнялись на крысах самцах линии Vistar массой 180-210 г, разделенных на 5 групп (по 8 животных) – по количеству исследуемых соединений и групп контроля: контроль1 (стрессорируемые) и контроль2 (интактные животные). Фенибут, РГПУ-196 и РГПУ-201 вводились внутривентриально в дозе, составляющей 1/30 от LD<sub>50</sub>: 25, 27, 24 мг/кг соответственно, за 30 минут до начала стрессирования. Животным контрольных групп вводился физиологический раствор в эквивалентном объеме. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием t-критерия Стьюдента, U-критерия Мана-Уитни (Вилкоксона).

Результаты и их обсуждение. Острый стресс вызывал у контрольных животных характерные для стрессорного повреждения изменения поведения: снижение локомоторной и ориентировочно-исследовательской активности в ОП, подавление функции памяти (укорочение латентного периода первого захода в темный отсек в тесте УРПИ и удлинение латентного периода подныривания в тесте ТЭИ). В тесте ОП при введении соединений РГПУ-196, РГПУ-201 и фенибута отмечалось сохранение двигательной и ориентировочно-исследовательской активности в постстрессорном периоде, поскольку изменения их не были достоверны по отношению к интактному контролю. В тесте УРПИ у животных получавших РГПУ-196, РГПУ-201 и фенибут латентный период первого захода в темный отсек и число заходов после стресса практически не изменились по сравнению с воспроизведением до стресса, что говорит об их положительном мнемотропном действии в условиях стресса. Указанные параметры носили достоверные различия с контролем1. Анализ результатов теста ТЭИ подтвердил антиамнестическое действие данных соединений и фенибута, так как было отмечено сохранение способности к решению экстраполяционной задачи и уменьшение времени, затрачиваемого на него у животных после стрессирования по сравнению с исходными данными.

#### **Выводы.**

Соединения РГПУ-196, РГПУ-201 и фенибут предотвращают стрессобусловленное снижение спонтанной двигательной и исследовательской активности животных в ОП, а также нарушение когнитивной функции животных результатам тестов УРПИ и ТЭИ, что указывает на наличие у них нейропротекторной активности.

Наиболее выраженной нейропротекторной активностью при стрессорном повреждении обладает пиридиновое производное ГАМК - РГПУ-201. Незначительно уступают пиридиновому фенильное и метилбензимидазолное производные ГАМК – фенибут и РГПУ-196.

## **ВЛИЯНИЕ ФЕНОТРОПИЛА И ЕГО НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО НА СТЕПЕНЬ НЕВРОЛОГИЧЕСКОГО ДЕФИЦИТА И ВЫЖИВАЕМОСТЬ ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ МОЗГА У КРЫС**

Тюренок И.Н., Бородкина Л.Е., Багметов М.Н.  
*Волгоградский государственный  
медицинский университет,  
Волгоград*

#### **Цель исследования.**

Сравнительная оценка эффективности препарата фенотропила и его нового производного соединения РГПУ – 138 при моделировании ишемии головного мозга.

#### **Материалы и методы исследования.**

Эксперимент выполнялся на крысах – самцах линии Vistar, массой 180-210 г., разделенных на 4 группы по 10 животных в каждой: группа контроля, группа фенотропила, группа РГПУ – 138, группа ложноперируемых животных. Фенотропил и соединение РГПУ – 138 вводились интраперитонеально 10-дневным курсом в дозе 25 мг/кг, что составляет 1/30 от LD<sub>50</sub>. Контрольной группе животных вводился физиологический раствор в том же объеме. Для моделирования ишемии головного мозга была использована модель билатеральной окклюзии общих сонных артерий (Мирзоян Р.С. и др. 2000 г.) Через 3,5 часа после моделирования ишемии оценивалась степень неврологического дефицита с использованием бальной системы по шкале Mc Graw. При наличии у животных нескольких симптомов неврологического дефицита баллы суммировались. Также регистрировалось количество выживших животных.

#### **Результаты и их обсуждение.**

После ишемии, вызванной двухсторонней перевязкой общих сонных артерий практически у всех животных контрольной группы возникали такие признаки неврологического дефицита, как вялость, птоз, экстрапирамидальные расстройства (тремор), изменение поведения (угнетение оборонительных реакций), наблюдалось резкое ограничение подвижности. В тяжелых случаях (у 20% животных) отмечалась полная адинамия, отсутствие чувствительности угнетение рефлексов, с быстрым развитием комы и гибелью животных. При суммировании средний неврологический балл у животных контрольной группы составил 8,4±1. В группе фенотропила тяжелая неврологическая симптоматика (нарушение чувствительности и реакции, насильственные движения) наблюдалась только у 40% животных, средний неврологический балл составил 4,9±1,09. У животных, получавших соединение РГПУ – 138 симптомы тяжелого неврологического дефицита проявились только у 20% крыс, средний неврологический балл по группе в целом составил 4,4±0,7. Через трое суток после моделирования ишемического повреждения гибель животных в группе контроля достигла 80%. В экспериментальных группах, получавших фенотропил и соединение РГПУ – 138 гибель животных составила 50% и 40% соответственно. В группе ложноперируемых гибели животных не отмечалось.