

- Разработано устройство, идеально подходящее для практического применения его в научных исследованиях при минимальных затратах.
- Устройство проверено и запущено в эксплуатацию в научных исследованиях лаборатории физики.
- Далее планируется развитие устройства до абсолютно нового уровня светорегистрирующих приборов и запуск его в эксплуатацию в промышленных научно-исследовательских центрах

Список литературы / References:

1. Harun R., Singh M., Forde, G.M., Danquah M.K. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. *Renew. Sust. Energ. Rev.*, 2010, vol. 14, pp. 1037-1047.
2. Perez-Garcia O., Escalante F.M.E., de-Bashan L.E., Bashan Y. Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products. *Water Res.*, 2011, vol. 45, pp. 11-36.
3. Wiltshire K., Boersma M., Möller A., Buhtz H. Extraction of pigments and fatty acids from the green alga *scenedesmus obliquus* (chlorophyceae). *Aquat. Ecol.*, 2000, vol. 34, pp. 119-126.
4. Barclay W.R., Meager K.M., Abril J.R. Heterotrophic production of long chain omega-3 fatty acids utilizing algae and algae-like microorganisms. *J. Appl. Phycol.*, 1994, vol. 6, pp. 123-129.
5. Chisti Y. Biodiesel from microalgae. *Biotechnol. Adv.*, 2007, vol. 25, pp. 294-306.
6. Mata T.M., Martins A.A., Caetano N.S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renew. Sust. Energ. Rev.*, 2010, vol. 14, pp. 217-232.
7. Radakovits R., Jinkerson R.E., Darzins A., Posewitz M.C. Genetic engineering of algae for enhanced biofuel production. *Eukaryot. Cell*, 2010, vol. 9, pp. 486-501.
8. Richmond A., Zhang C.W. Optimization of a flat plate glass reactor for mass production of *nannochloropsis* sp. outdoors. *J. Biotechnol.*, 2001, vol. 85, pp. 259-269.
9. Lee S., Yoon B., Oh H. Rapid method for the determination of lipid from the green alga *botryococcus braunii*. *Biotechnol. Tech.*, 1998, vol. 12, pp. 553-556.

СОВМЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ФУЛЛЕРЕНА C₆₀ И АНТИБИТИКА НОВАТРОНА НА КЛЕТКИ БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ ЧЕЛОВЕКА

Сало В.А., Папкина А.С., Рубакина В.А., Лантушенко А.О.
ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет»
ул. Университетская, 33, г. Севастополь, 299053, РФ
e-mail: lantushenko@mail.ru

Аннотация. Исследовано комбинированное воздействие противоопухолевого антибиотика новатрона и немодифицированного фуллерена на клетки буккального эпителия человека. Состояние хроматина в клетках оценивалось по количеству гранул гетерохроматина (КГГ) в ядрах клеток после окрашивания орсеином. Клеточная суспензия обрабатывалась растворами с постоянной концентрацией новатрона и переменной концентрацией фуллерена. При комбинированном воздействии ДНК-интеркалятора новатрона на непродлиферирующие клетки буккального эпителия выявлено концентрационно-зависимое восстановление функциональной активности клеточного ядра при введении немодифицированного C₆₀ фуллерена.

Ключевые слова: фуллерен C₆₀, клетки буккального эпителия человека, новатрон.

THE COMBINED EFFECT OF THE C₆₀ FULLERENE AND ANTIBIOTIC NOVATRONE ON HUMAN BUCCAL EPITHELIAL CELLS

Salo V.A., Papkova A.S., Rubakina V.A., Lantushenko A.O.
Sevastopol State University
Universitetskaya St., 33, Sevastopol, 299053, Russia
e-mail: lantushenko@mail.ru

Summary. The combined effect of the antitumor antibiotic NOV and pristine fullerene on human buccal epithelial cells was studied. Assessment of the chromatin in the cells was evaluated by the number of heterochromatin granules (KGG) in the nuclei of cells after orsein staining. The cell suspension was treated with a solution of NOV at constant concentration and variable fullerene concentration. Under the combined action of DNA-intercalator novatrone on non-proliferating buccal epithelium cells a concentration-dependent restoration of the functional activity of the cell nucleus was observed on addition of pristine C₆₀ fullerene.

Key words: C₆₀ fullerene, human buccal epithelial cells, novatrone.

Введение. Фуллерен C_{60} (см. рис. 1а) представляет собой сферическую молекулу, полностью состоящую из атомов углерода. В последние годы немодифицированный фуллерен широко используют в медицине и нанобиотехнологии. В работе [1] было показано, что фуллерен проявляет антиоксидантные свойства, способен подавлять рост злокачественных опухолей [2].

Антибиотик митоксантрон (новатрон, NOV) (см. рис. 1б) является типичным представителем цитостатических препаратов, используемых в химиотерапии. По структуре молекула новатрона является модифицированным аналогом антибиотиков антрациклинового семейства и в целом проявляет несколько меньшую, чем антрациклины, противоопухолевую активность. Однако побочные эффекты кардиотоксичности NOV существенно снижены по сравнению, например, с дауномицином, что предполагает перспективность более широкого применения антибиотика в клинической практике.

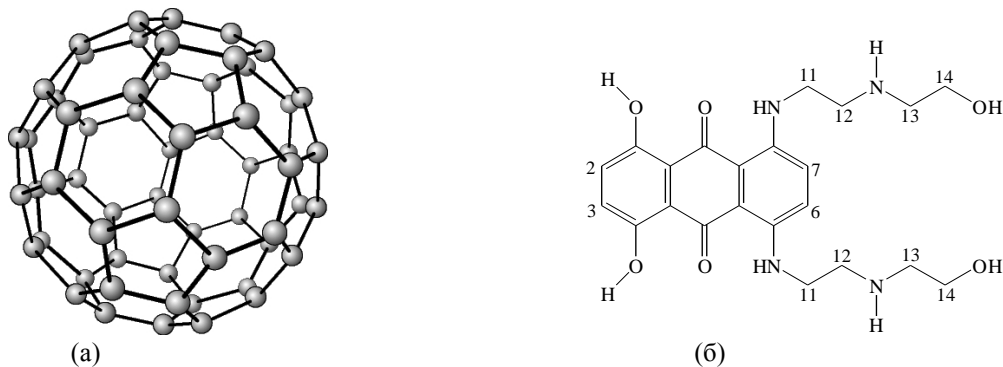


Рисунок 1 – Структуры фуллерена (а), новатрона (б)

В работе [3] было показано, что введение в организм больных раком мышей растворенного в воде фуллерена совместно с противоопухолевым препаратом доксорубицином усиливает действие последнего и приводит к торможению роста метастаз, увеличению продолжительности жизни животных и усилению защитных эффектов на различных клеточных уровнях. В работе [4] было предположено, что ключевым механизмом, обуславливающим данный медико-биологический синергизм, является нековалентное комплексообразование (гетероассоциация) фуллерена с антибиотиком. Можно предположить, что комбинации фуллерена с другими ароматическими БАС будут проявлять схожий синергизм на клеточном уровне. В настоящей работе исследовано действие на клетки буккального эпителия человека антибиотика новатрона в смеси с фуллереном.

Материалы и методы. В качестве экспериментального материала использовались клетки буккального эпителия человека. Соскоб клеток буккального эпителия делался с внутренней поверхности щеки донора с помощью тупого стерильного шпателя. Затем клетки помещались в 3.03 ммоль/л фосфатный буфер (pH=7.0) с добавлением 2.89 ммоль/л хлорида кальция. Состояние хроматина в клетках буккального эпителия человека оценивалось по количеству гранул гетерохроматина (КГГ) в ядрах клеток после окрашивания орсеином в соответствии с методикой, описанной в [5]. Исследование процесса гетерохроматинизации позволяет оценить изменения функциональной активности клеточного ядра [6]. Величина КГГ в каждом варианте эксперимента определялась в 30 ядрах. Фотографии ядер клеток буккального эпителия после окрашивания орсеином (увеличение 400) представлены на рисунке 2. Для проведения эксперимента производился отбор клеток у трех доноров 1, 2, 3. Доноры некурящие, женского и мужского пола 20 и 22 лет.

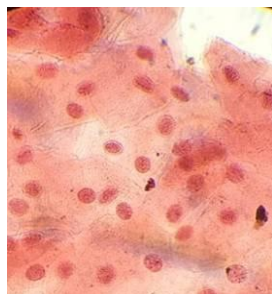


Рисунок 2 – Клетки буккального эпителия человека, окрашенные орсеином

Результаты и обсуждение. В эппендорфы, содержащие по 0.5 мл клеточной суспензии, добавляли по 0.5 мл смешанных растворов, содержащих постоянную концентрацию NOV ($C_{NOV}=5.9 \cdot 10^{-8}$ М) и различные концентрации фуллерена. Таким образом, действующая концентрация новатрона составила $C_{NOV}=2.95 \cdot 10^{-8}$ М, а фуллерена от $6.6 \cdot 10^{-5}$ до $4.1 \cdot 10^{-6}$ М. Время экспозиции составляло 1.5 часа. В качестве негативного контроля рассматривались значения КГГ клеток в буфере без препаратов, в качестве позитивного контроля – КГГ клеток в растворе новатрона без добавления фуллерена.

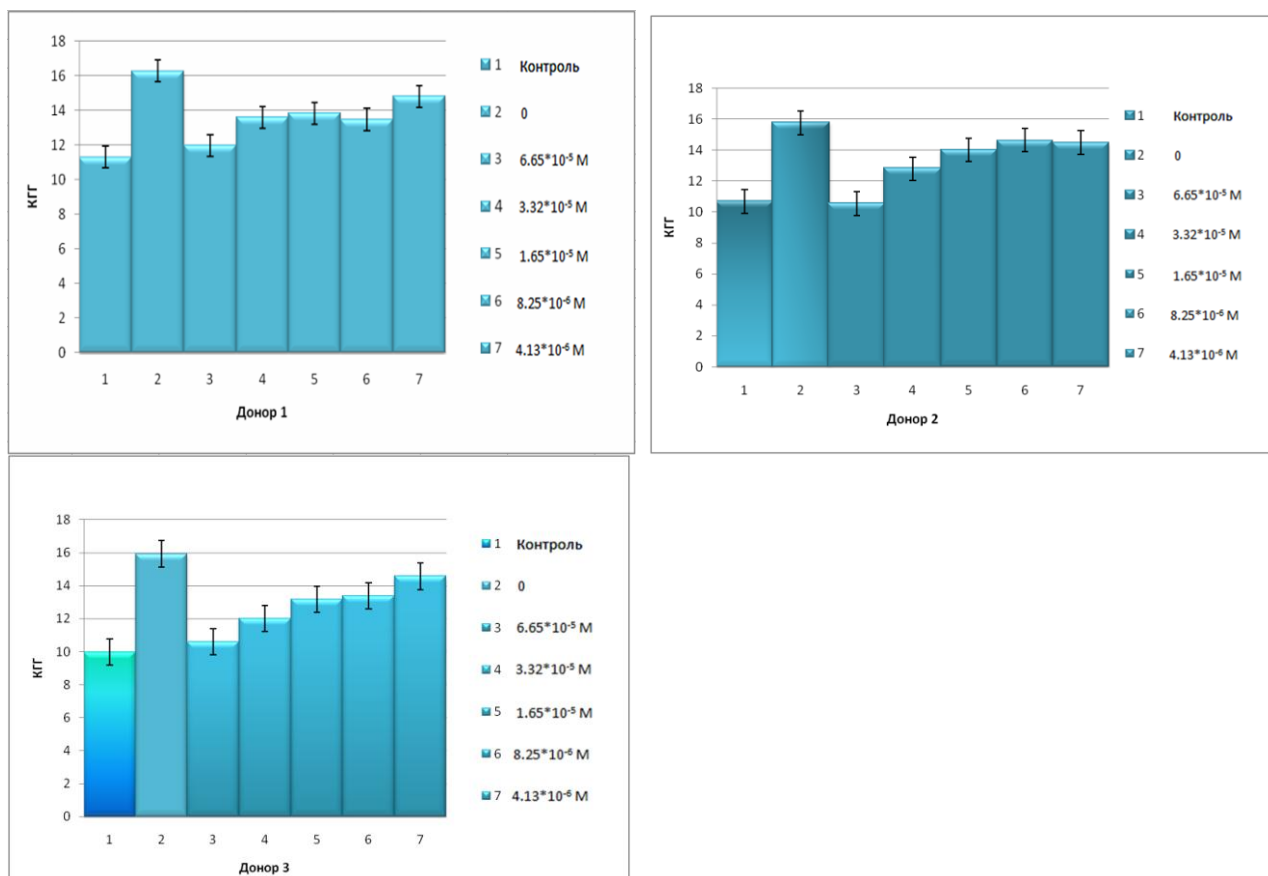


Рисунок 3 – Временная зависимость показателя КГГ при постоянной концентрации NOV равной $2.95 \cdot 10^{-8}$ М и переменной концентрации фуллерена для трех доноров

Результаты экспериментов для трех доноров представлены на рисунке 3. Видно, что для всех доноров с ростом концентрации фуллерена наблюдалось снижение показателя КГГ по отношению к позитивному контролю и при концентрации $6.6 \cdot 10^{-5}$ М оно в пределах погрешности совпадало с КГГ для негативного контроля (клеточная суспензия без препаратов). Следовательно, можно предположить, что существует непосредственное взаимодействие молекул новатрона с молекулами C_{60} , которое снижает биологический эффект, производимый NOV на ядра клеток, что косвенно согласуется теорией интерцепторно-протекторного действия, т.е. интерцепторно-протекторный механизм взаимодействия в системах «NOV- C_{60} -ДНК» проявляется на клеточном уровне.

Список литературы / References:

1. Prylutska S., Grynyuk I., Matyshevska O., Prylutsky Y.I., Ritter U., Scharff P. Anti-oxidant properties of C_{60} fullerenes in vitro. *Fuller nanotub Carbon nanostr.*, 2008, vol. 16 (5-6), pp. 698-705.
2. Prylutska S., Burlaka A., Prylutsky Y.I., Ritter U., Scharff P. Pristine C_{60} fullerenes inhibit the rate of tumor growth and metastasis. *Exp Oncol.*, 2011, vol. 33, pp. 162-164.
3. Prylutska S., Burlaka A., Prylutsky Y.I. Comparative study of antitumor effect of pristine C_{60} fullerenes and doxorubicin. *Biotechnol.*, 2011, vol. 4 (6), pp. 82-87.
4. Evstigneev M.P., Buchelnikov A.S., Voronin D.P., Rubin Y.V., Belous L.F., Prylutsky Y., Ritter U. Complexation of C_{60} Fullerene with Aromatic Drugs. *ChemPhysChem*, 2013, vol. 14, pp. 568-578.
5. Shckorbatov Y.G. He-Ne laser light induced changes in the state of chromatin in human cells. *Naturwissenschaften*, 1999, vol. 86, no. 9, pp. 452-453.
6. Shckorbatov Y.G., Shakhbazov V.G., Grigoryeva N.N., Grabina V.A. Microwave irradiation influences on the state of human cell nuclei. *Bioelectromagnetics*, 1998, vol. 19, no. 7, pp. 414-419.