

4. Анализ мягких лекарственных форм / Мельникова О. А., Брынских В. А., Барсукова Ю. Н. и др. – 2020.
5. Heavner J. E. Local anesthetics // Current opinion in anesthesiology. – 2007. – Т. 20. – №. 4. – С. 336-342.
6. Хишова О. М. Технология получения противоаллергической мази с дифенгидрамином и прокаином // Вестник фармации. – 2020. – №. 1 (87). – С. 81–86.
7. Государственная фармакопея Российской Федерации, XIV издание, том III. [Электронный ресурс]. – URL: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol3/>

Сведения об авторах

Е.О. Тесленко – студент

К.А. Киселева – студент

А.О. Бирюков – студент

О.А. Мельникова – доктор фармацевтических наук, доцент

Information about the authors

E.O. Teslenko – student

K.A. Kiseleva – student

A.O. Biryukov – student

O.A. Melnikova – Doctor of Science (Pharmacy), Associate professor

УДК: 618.146-006.6:612.017.1

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПЕПТИДОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ФАБРИЦИЕВОЙ СУМКИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ, НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Мария Сергеевна Тихонова¹, Мария Николаевна Добринская², Наталья Александровна Кольберг³, Сергей Леонидович Тихонов⁴

^{1,2}ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет»

Минздрава России, Екатеринбург, Россия

^{3,4}ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет»

Минобрнауки России, Екатеринбург, Россия

¹maria_tih13.02@icloud.com

Аннотация

Введение. Особую актуальность для изучения представляют пептиды, обладающие противоопухолевыми свойствами. **Цель исследования** – оценка влияния пептидов, выделенных из фабрициевой сумки цыплят-бройлеров на жизнеспособность опухолевых клеток. **Материалы и методы.** Материалами для исследований служили мышинные фибробласты L929, макрофагоподобная мышинная клеточная линия J774.1A, культура клетки шейки матки HeLaS3, человеческая линия опухолевых клеток молочной железы MCF-7. Изменения метаболического состояния клеток оценивали по снижению суммарной активности митохондриальных дегидрогеназ в микротетразолиевом тесте. **Результаты.** Показано отрицательное влияние пептидов на жизнеспособность опухолевых клеток шейки матки HeLaS3 и молочной железы MCF-7.

Обсуждение. Полученные данные свидетельствуют о том, что пептиды обладают противоопухолевой способностью останавливать клеточный цикл в фазе G1 и вызывать ER-стресс/митохондриально-опосредованный каспазозависимый апоптоз в опухолевых клетках. **Выводы.** Доказано отрицательное влияние пептидов с молекулярной массой 27-18 кДа, выделенных из фабрициевой сумки, на жизнеспособность опухолевых клеток молочной железы и шейки матки человека. С увеличением концентрации пептидов, процент жизнеспособности раковых клеток достоверно снижается, что свидетельствует о противоопухолевой способности указанных пептидов. **Ключевые слова:** пептиды, фабрициева сумка, ферментативный гидролиз, жизнеспособность опухолевых клеток

EVALUATION OF THE EFFECT OF PEPTIDES ISOLATED FROM THE FABRICIUM POUCH OF BROILER CHICKENS ON THE VIABILITY OF TUMOR CELLS

Maria Sergeevna Tikhonova¹, Maria Nikolaevna Dobrinskaya², Natalia Alexandrovna Kolberg³, Sergey Leonidovich Tikhonov⁴

^{1,2}Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia

^{3,4}Ural State University of Economics, Yekaterinburg, Russia

¹maria_tih13.02@icloud.com

Abstract

Introduction. Of particular relevance to the study are peptides with antitumor properties. **The aim of the study** – to evaluate the effect of peptides isolated from the broiler chicken pouch of Fabricius on the viability of tumor cells. **Materials and methods.** L929 mouse fibroblasts, J774.1A macrophage-like mouse cell line, HeLaS3 cervical cell culture, and MCF-7 human mammary tumor cell line served as research materials. **Results.** The negative effect of peptides on the viability of tumor cells of the cervix HeLaS3 and mammary gland MCF-7 was shown. **Discussion.** The data obtained indicate that the peptides have an antitumor ability to stop the cell cycle in the G1 phase and induce ER-stress/mitochondria-mediated caspase-dependent apoptosis in tumor cells. **Conclusions.** The negative effect of peptides with a molecular weight of 27-18 kDa, isolated from the fabricium bag, on the viability of tumor cells of the human breast and cervix has been proven. With an increase in the concentration of peptides, the percentage of viability of cancer cells significantly decreases, which indicates the antitumor ability of these peptides.

Keywords: peptides, bursa of Fabricius, enzymatic hydrolysis, viability of tumor cells

ВВЕДЕНИЕ

Пептиды, выделенные из тканей животных и растений, обладают различной фармакологической активностью [1]. Авторами [2] установлено, что пептид Т8 обладает антиоксидантной активностью. Это выражается увеличением активности супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионредуктазы (ГР) при снижении содержания малонового диальдегида (МДА) и АФК клеток HUVES в модели повреждения, индуцированного

H₂O₂. Анализы проточной цитометрии показали, что пептид Т8 снижает H₂O₂-индуцированный окислительный стресс через путь Nrf2 в клетках HUVEC.

Пептид, полученный ферментативным перевариванием белка периллы, ослабляет аденин-индуцированное апоптотическое повреждение почек и окислительный стресс. Кроме того, пептиды периллы поддерживают целостность барьерной функции кишечника у мышей, увеличивают экспрессию белков кишечника и уменьшают размножение множественных патогенных бактерий в кишечнике, тем самым снижают накопление эндотоксинов в крови [3].

Авторами [4] выделено 76 пептидов из экстрактов яда азиатских жаб. Установлено, что выделенные пептиды обладают противоопухолевым свойством *in vitro*.

Одним из перспективных источников биологически активных пептидов считается сумка Фабрициуса (фабрициева сумка или бурса) - центральный орган иммунной системы у птиц. Из бурсы получен иммунологически активный препарат пептидной природы. Установлено, что в системе *in vivo* и *in vitro* биологическая активность препарата направлена на усиление иммунологической реактивности [5].

Установлено, что пептид ВР5, выделенный из бурсы, эффективно подавляет маркеры окислительного стресса, включая оксид азота (NO), активные формы кислорода (АФК), перекисное окисление липидов и окисление белков и снижает экспрессию и активность индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS) и способствует защитному антиоксидантному состоянию [5].

Сегодня выделено и изучено фармакологическое действие более тысячи пептидов. Особую актуальность для изучения представляют пептиды, обладающие противоопухолевыми свойствами. Нами методом ферментативного гидролиза фабрициевой сумки цыплят-бройлеров с последующей ультрафильтрацией гидролизата выделены пептиды с молекулярной массой 27-18 кДа.

Цель исследования – оценка влияния пептидов, выделенных из фабрициевой сумки цыплят-бройлеров на жизнеспособность опухолевых клеток.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалами для исследований служили мышинные фибробласты L929, макрофагоподобная мышинная клеточная линия J774.1A, культура клетки шейки матки HeLaS3, человеческая линия опухолевых клеток молочной железы MCF-7.

Изменения метаболического состояния клеток оценивали по снижению суммарной активности митохондриальных дегидрогеназ в микротетразолиевом тесте (МТТ). Для эксперимента пептиды от 0,01 до 10 мг/мл добавляли к кондиционированным клеткам и инкубировали в течение 48 ч. После окончания периода инкубации с тестируемым препаратом в лунки добавляли раствор МТТ до конечной концентрации 500 мкг/мл и инкубировали еще 4 ч в стандартных условиях. Убирали питательную среду и растворяли клеточный монослой в 10% растворе додецилсульфата натрия в 0,01 М соляной кислоте.

После полного растворения клеток измеряли оптическую плотность растворов при длине волны 570 нм на многоканальном спектрофотометре (Пикон, Россия). Оптическая плотность раствора в контрольных лунках, содержащих клетки без добавления пептидов, принималась за 100%.

Анализ данных выполнен в пакете статистических программ STATISTICA 9.0. Данные представлены в виде среднего арифметического (M) \pm стандартная ошибка среднего (m). При проверке статистических гипотез использовали 5% уровень значимости.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В таблице 1 представлен процент жизнеспособных клеток после 48 часовой инкубации с пептидами в различных концентрациях.

Из данных таблицы 1 следует, что пептиды независимо от концентрации, не оказали влияния на жизнеспособность клеточных линий L929 и J774.1A. Показано отрицательное влияние пептидов на жизнеспособность опухолевых клеток шейки матки HeLaS3 и молочной железы MCF-7. Так, при концентрации пептидов 10 мг/мл, доля жизнеспособных клеток HeLaS3 составляет 90,2% ($p \leq 0,01$) и клеток MCF-7 – 23,8 % ($p \leq 0,01$). Следует отметить, что с увеличением дозировки пептидов отмечается снижение жизнеспособности опухолевых клеток.

Таблица 1

Доля жизнеспособных клеток после 48 часовой инкубации с пептидами в различных концентрациях ($M \pm m$), %

Линия клеток	Концентрация пептидов, мг/мл									
	0,02	0,04	0,08	0,16	0,31	0,63	1,25	2,5	5,0	10,0
L929	99,3 $\pm 8,1$	101,9 $\pm 1,9^*$	99,2 $\pm 4,1$	101,3 $\pm 9,7$	101,8 $\pm 4,8$	101,3 $\pm 11,3$	102,8 $\pm 5,2$	101,1 $\pm 5,9^*$	100,2 $\pm 11,6$	99,7 $\pm 4,4$
J774. 1A	111,2 $\pm 8,8$	106,9 $\pm 2,7$	103,0 $\pm 3,6$	108,6 $\pm 12,4$	108,1 $\pm 13,2$	108,9 $\pm 7,6$	107,5 $\pm 12,6$	112,7 $\pm 12,3$	98,1 $\pm 13,7$	103,0 $\pm 16,5$
HeLa S3	104,2 $\pm 4,4$	103,4 $\pm 8,6$	100,0 $\pm 11,2$	100,7 $\pm 11,7$	97,1 $\pm 13,0$	96,6 $\pm 11,3$	97,7 $\pm 11,5$	96,4 $\pm 4,9$	94,3 $\pm 6,0^*$	90,2 $\pm 7,2^{**}$
MCF- 7	100,8 $\pm 2,1$	100,1 $\pm 3,7$	100,1 $\pm 5,2$	100,0 $\pm 4,3$	99,8 $\pm 5,1$	99,7 $\pm 6,8$	100,2 $\pm 7,2$	92,3 $\pm 2,4$	81,5 $\pm 3,7^{**}$	76,2 $\pm 3,5^{**}$

*различия, в сравнении с отсутствием пептидов в культуре клеток (жизнеспособность 100) достоверны при $p \leq 0,05$; **при $p \leq 0,01$.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные согласуются с исследованиями [7], в которых установлено, что пептиды, выделенные из фабрициевой сумки стимулирует экспрессию белка p53 в опухолевых клетках. Пептиды обладают противоопухолевой способностью останавливать клеточный цикл в фазе G1 и вызывать ER-стресс/митохондриально-опосредованный каспазозависимый апоптоз в опухолевых клетках.

ВЫВОДЫ

Доказано отрицательное влияние пептидов с молекулярной массой 27-18 кДа, выделенных из фабрициевой сумки, на жизнеспособность опухолевых клеток молочной железы и шейки матки человека. С увеличением концентрации пептидов, процент жизнеспособности раковых клеток достоверно снижается, что свидетельствует о противоопухолевой способности указанных пептидов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Roflumilast protects from cisplatin-induced testicular toxicity in male rats and enhances its cytotoxicity in prostate cancer cell line. Role of NF- κ B-p65, cAMP/PKA and Nrf2/HO-1, NQO1 signaling / Abdel-Wahab BA, Walbi IA, Albarqi HA, et al. // Food Chem Toxicol. 2021;151:112133. DOI:10.1016/j.fct.2021.112133.
2. Dandan Qin, Feiyan Yang, Zuomin Hu, Jinliang Liu, Qiang Wu, Yi Luo, Lifang Yang, Shuai Han, Feijun Luo, Peptide T8 isolated from yak milk residue ameliorates H₂O₂-induced oxidative stress through Nrf2 signaling pathway in HUVEC cells, Food Bioscience, Volume 44, Part A, 2021, 101408, ISSN 2212-4292, <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101408>.
3. Mingliang Li, Ying Wei, MuiyCai, RuizengGu, Xingchang Pan, Jinmin Du, Perilla peptides delay the progression of kidney disease by improving kidney apoptotic injury and oxidative stress and maintaining intestinal barrier function, Food Bioscience, Volume 43, 2021, 101333, ISSN 2212-4292, <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101333>.
4. Jiaojiao Wang, HongboGuo, Dihui Xu, Chengli Yu, Ruoxian Xv, Qinan Wu, Liuqing Di, Haibo Cheng, JinaoDuan, Jing Zhou, Edyta Marcon, Hongyue Ma, Cell affinity screening combined with nanoLC-MS/MS based peptidomics for identifying cancer cell binding peptides from BufoBufogargarizans, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, Volume 206, 2021, 114354, ISSN 0731-7085, <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.114354>.
5. Травникова Н.А. Сравнительная морфология фабрициевой сумки цыплят-бройлеров в возрастном аспекте при разных способах содержания: автореф. дис... канд. вет. наук: 16.00.02/Травникова Наталья Александровна.- Екатеринбург, 2004.- 24с.
6. De, L. The Suppressive Effects of Bursopentine (BP5) on Oxidative Stress and NF- κ B / L. De [et al.]. // Activation in Lipopolysaccharide-activated Murine Peritoneal Macrophages Cell PhysiolBiochem. – 2012. – 29:09-20 Accepted. – November 28, 2011. – P. 9 – 18.

7. Li. Bursopentin (BP5) induces G1 phase cell cycle arrest and endoplasmic reticulum stress/mitochondria-mediated caspase-dependent apoptosis in human colon cancer HCT116 cells / Li [et al.]. // Cancer Cell Int. – 2019. – 19:130.

Сведения об авторах

М.С. Тихонова – студент

М. Н. Добринская– кандидат медицинских наук, доцент

Н.А. Кольберг– кандидат ветеринарных наук, доцент

С.Л. Тихонов – доктор технических наук, профессор

Information about the authors

M.S. Tikhonova - student

M.N. Dobrinskaya- Candidate of Sciences (Medicine), associate professor

N.A. Kolberg - Candidate of Sciences (Veterinary), Associate Professor

S.L. Tikhonov - Doctor of Sciences (Technology), Professor

УДК: 615.252.349.7, 615.322, 615.453.64

ПОДСЛАСТИТЕЛЬ НА РАСТИТЕЛЬНОЙ ОСНОВЕ

Елена Сергеевна Топорова¹, Елена Александровна Беренштейн², Алина Сергеевна Городских³, Дарья Владимировна Серко⁴, Андрей Станиславович Гаврилов⁵

¹⁻⁵ ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет»

Минздрава России, Екатеринбург, Россия

¹lenka.toporova.23@mail.ru

Аннотация

Введение. Сахар - самый распространенный в пищевом рационе сладкий продукт. Он повышает риск возникновения различных заболеваний. Альтернативой сахару являются объемные и интенсивные подсластители. **Цель исследования** - на основе анализа данных литературы и интернет ресурсов выявить наиболее безопасный объемный подсластитель для последующего конструирования состава и внедрения в производство. **Материалы и методы.** Был проведен контент-анализ 5 подсластителей натурального происхождения, с целью выявить плюсы и минусы каждого. **Результаты.** В настоящее время на рынке широко представлены две группы объемных заменителей сахара: на основе глюкозы/фруктозы и на основе полиолов. Отдельную группу составляют полимеры глюкозы разного молекулярного веса. **Обсуждение.** Анализ интернет ресурсов показал, что в последнее время на торговых площадках таких как Ozon и Wildberries, большое место занимает финиковый сахар. **Выводы.** Проведен анализ поиска оптимального подсластителя. Установлено, что наибольшей привлекательностью для розничной торговли обладает финиковый сахар. Предложен поставщик, упаковка, разработаны проекты ТУ и ТИ.

Ключевые слова: подсластители, фруктоза, сорбит, кленовый сироп, финиковый сахар.