

Результаты исследования подтверждают сформулированную гипотезу, что совпадает с выводами вышеуказанных ученых.

Следовательно, фитонцидные растения (репчатый лук, чеснок, лимон) можно использовать для увеличения сроков годности продуктов питания.

ВЫВОДЫ

1. В результате анкетирования было выявлено, что учащиеся МАОУ СОШ № 9 знают о влиянии фитонцидов.

2. Полученные результаты исследования действия фитонцидов лимона на культуру инфузорий доказывают, что фитонциды убивают или замедляют действие микроорганизмов.

3. В результате исследования влияния фитонцидов растений (лимон, чеснок, репчатый лук) на рост и развитие бактерий и плесневых грибов было установлено, что присутствие чеснока, лука и лимона дольше сохраняют продукты.

4. Фитонцидные растения (репчатый лук, чеснок, лимон) можно использовать для увеличения сроков годности продуктов питания.

5. Фитонциды оказывают положительное влияние на здоровье человека благодаря своим антимикробным, противогрибковым и антиоксидантным свойствам. Они способствуют укреплению иммунитета, очищению воздуха от болезнетворных микроорганизмов, улучшению работы пищеварительной системы и общему оздоровлению организма

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Голышенков, П.П. Лекарственные растения и их использование : монография / П.П. Голышенков. – Саранск : Мордовское книжное издательство, 1990. – 304 с.
2. Гаммерман, А.Ф. Антимикробные свойства лекарственных растений Тибетской медицины / А.Ф. Гаммерман, К.Ф. Блинова, А.Н. Бадмаев // Тезисы докладов V совещания по проблеме фитонцидов. – Киев : Наукова думка, 1967. – С. 45-48.
3. Вердеревский, Д.Д. Иммуитет растений к паразитарным болезням / Д.Д. Вердеревский. – Москва : Учебная литература, 2012. – 234 с.
4. Токин, Б.П. Губители микробов - фитонциды : [Текст] / Б.П. Токин. – Москва : Советская Россия, 1960. – 195 с. – Библиогр.: с. 197.
5. Раич-Щербо, Ю.А. Использование некоторых химических антисептиков и фитонцидов для сохранения свежей рыбы : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук : специальность 03.00.04 / Ю.А. Раич-Щербо ; Московский государственный университет. – Москва, 1950. – 7 с.

Сведения об авторах

К.О. Овчинникова* – обучающийся

Н.Г. Козлова - учитель

Information about the authors

K.O. Ovchinnikova* – Student

N.G. Kozlova - Teacher

* Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

ovch.ksusha2007.ru@gmail.com

УДК 575.112:577.29

ПОИСК ОБЪЕКТОВ ДЛЯ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ ПРОТИВОРАКОВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ МАЛЫХ МОЛЕКУЛ ИНГИБИТОРОВ КИНАЗ ЧЕЛОВЕКА

Окшин Глеб Юрьевич^{1,2}

Научный руководитель: Киселева Ольга Анатольевна³

¹ МАОУ гимназия №40

² Фонд «Золотое сечение»

³ Уральский государственный медицинский университет

Екатеринбург, Россия

Аннотация

Цели нашего исследования: средствами биоинформатики определить, какие общие киназы-мишени есть у человека и некоторых животных и могут быть интересны с точки зрения разработки препаратов и методик лечения онкозаболеваний; провести анализ существующих фармпрепаратов на основе ингибиторов изученных киназ. В работе использовались международные базы данных NCBI BLAST, OMIM, NCBI PubChem, а также

отечественное программное обеспечение Unipro UGENE 50.0. Актуализированы данные о таргетных препаратах – малых молекулах ингибиторах белков киназ. Рассчитан коэффициент сходства этих белков у человека и некоторых животных. В результате проделанной работы проанализировано действие для следующих вовлеченных в канцерогенез киназ человека и животных: CAM, ROCK1, JAK1, CDK4, PIK3CA, ACT-B, NTRK3, MET, RET, VEGFR2. В частности, нами указаны случаи высокого (выше 90%) сходства киназ, показано, абсолютное (100%) сходство по аминокислотному составу следующих белков: ACT-B у человека, приматов, грызунов (мышь, крыса), коровы, свиньи, овцы и курицы, для CAM у человека, мыши, для PIK3CA у человека и коровы. На основе сравнения данных о строении белков и имеющихся результатов применения ингибиторов киназ, можно определить наиболее подходящие объекты для проведения доклинических испытаний противораковых препаратов, а также снизить стоимость и повысить эффективность их проведения.

Ключевые слова: Таргетная терапия, онкологическое заболевание, молекулы-мишени, ингибиторы киназ, биоинформатика.

SEARCH FOR OBJECTS FOR PRECLINICAL TRIALS OF ANTI-CANCER DRUGS BASED ON SMALL MOLECULES OF HUMAN KINASE INHIBITORS

Okshin Gleb Yu.^{1,2}

Scientific supervisor: Kiseleva Olga Anatolyevna³

¹ Lyceum 110, Yekaterinburg, Russia

² Fund «Zolotoe sechenie»

³ Ural State Medical University

Yekaterinburg, Russia

Abstract

The objectives of our study are to use bioinformatics to determine which common target kinases humans and some animals have and may be of interest from the point of view of developing drugs and cancer treatment techniques; to analyze existing pharmaceutical preparations based on inhibitors of the studied kinases. The work used the international databases NCBI BLAST, OMIM, NCBI PubChem, as well as the domestic software Unipro UGENE 50.0. Data on targeted drugs – small molecule protein kinase inhibitors – were updated. The coefficient of similarity of these proteins in humans and some animals has been calculated. As a result of the work done, the effects for the following human and animal kinases involved in carcinogenesis were analyzed: CAM, ROCK1, JAK1, CDK4, PIK3CA, ACT-B, NTRK3, MET, RET, VEGFR2. In particular, we have identified cases of high (above 90%) kinase similarity, showing absolute (100%) similarity in the amino acid composition of the following proteins: ACT-B in humans, primates, rodents (mouse, rat), cows, pigs, sheep and chicken, for CAM in humans, mice, for PIK3CA in humans and cows. Based on a comparison of data on the structure of proteins and the available results of the use of kinase inhibitors, it is possible to determine the most suitable facilities for conducting preclinical trials of anti-cancer drugs, as well as reduce the cost and increase the effectiveness of their implementation.

Keywords: Targeted therapy, cancer, target molecules, kinase inhibitors, bioinformatics

ВВЕДЕНИЕ

Одним из перспективных новых направлений лечения является таргетная терапия онкологических заболеваний, где ключевую роль играет воздействие на молекулы (как правило, белки) для достижения терапевтического эффекта [1,2]. Для разработки таргетных препаратов используют вычислительные методы, позволяющие как можно надежнее повысить объективность отбора молекул [3]. В современной ветеринарии используются некоторые методы лечения и диагностики, которые могут с высокой эффективностью использоваться и для лечения людей [7]. За счет сравнения молекул-мишеней препаратов у человека и животных можно прогнозировать эффекты таргетных препаратов *in silico* [7]. Белки киназы – один из классов молекул-мишеней, так как они вовлечены в формирование раковых клеток [2]. Цели исследования: средствами биоинформатики определить, какие общие киназы-мишени есть у человека и некоторых животных, и какие могут быть интересны с точки зрения лечения онкозаболеваний [7].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали открытые источники, которые являются хранилищами информации о строении геномов и протеомов [4-6]. Поиск информации проведен для следующих вовлеченных в канцерогенез киназ человека и животных: CAM2, ROCK1, JAK1,

CDK4, PIK3CA, ACT-B, NTRK3, MET, RET, VEGFR2. В сравнении участвовали следующие виды: Homo sapiens, Macaca mulatta, Pan troglodytes, Papio anubis, Mus musculus, Rattus norvegicus, Bos taurus, Sus domesticus, Ovis aries, Gallus gallus. Для расчета коэффициентов сходства киназ у разных видов использовали Unipro UGENE 50.0 [5]. Для сравнения существующих препаратов использовали NCBI PubChem [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Используя методы биоинформатики, была проверена схожесть киназ различных животных и человека по аминокислотному составу (Табл.1).

Таблица 1.

Сравнение киназ различных животных и человека*

Название кодирующего гена	ВИД							
	Человек	Корова	Курица	Мышь	Крыса	Свинья	Овца	Приматы
ACTB	100	100	100	100	100	100	100	100
CAM	100	99,81		100	99,81			
PIK3CA	100	100		98,69	98,78			
CDK4	100	97,03		94,72			97,03	
JAK1	100					94,7		
ROCK1	100	97,84			96,47	97,77		
NTRK3	100			97,62		97,74		
MET	100							94,81
RET	100							91,5
VEGFR2	100	94,81				90,57	90,17	

Примечание: * указаны случаи, где схожесть по аминокислотному составу выше 90%

В качестве сравнения выбран белок АСТ-В, он широко использовался в качестве эталонного при количественном определении уровней экспрессии в опухолях, тесно связан с различными видами рака [7]. Было показано абсолютное (100%) сходство по аминокислотному составу всех изученных видов (Табл. 1). Ортологичность генов, кодирующих АСТ-В у человека, мыши и крысы хорошо подтверждена в литературе [7]. Киназа CAM у человека имеет высокое сходство с аналогичной киназой у коров, мышей, крыс (Табл. 1). Этот белок вовлечен в прогрессирование рака [7]. Для PIK3CA, высоко сходство у человека, коровы, мыши, крысы (Табл. 1). Ген PIK3CA в случае мутаций индуцирует онкогенез в молочной железе, мыши являются модельным объектом для его изучения [7]. Киназа CDK4 схожа у человека, мыши, овцы и коровы (Табл. 1), ген контролирует клеточный цикл, его мутации приводят к усилению пролиферации [7]. Аминокислотный состав JAK1 похож у человека и свиньи (Табл. 1). Янус-киназы (в т.ч. JAK1) участвуют в патогенезе воспалительных реакций, способствует развитию новообразований [7]. Киназа ROCK1 имеет высокое сходство с человеческой у коровы, крысы, свиньи (Табл. 1), ген плеiotропно модулирует множество клеточных механизмов, встречается при разных типах рака, участвует в таргетном переключении его стадий [7]. Ген NTRK3 экспрессируется в нормальных клетках; при разных типах рака возможны десятки транслокаций NTRK3, ген способен активировать сигнальные пути, связанные с пролиферацией опухолевых клеток и уходом клеток от апоптоза [7]. Киназа NTRK3 имеет высокое сходство с человеческой у мыши и свиньи (Табл. 1). Протоонкоген MET, кодирует тирозинкиназный рецептор, в норме экспрессируемый эпителиальными клетками; мутации гена, его амплификация, гиперэкспрессия стимулируют онкогенез, ведут к лекарственной устойчивости рака [7]. MET киназа у некоторых приматов ортологична человеческой (Табл. 1). Аналогично с рецепторной протеинтирозинкиназой RET, которая имеет высокое сходство у человека и приматов (Табл. 1). Описаны опухоли толерантные к ингибитору RET; мутации RET чаще всего обнаруживаются при немелкоклеточном раке легкого и раке щитовидной железы [7]. Ген VEGFR2 кодирует рецептор 2 типа к VEGF [34]. Показана ортологичность VEGFR2 у человека, коровы, свиньи,

овцы (Табл. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

К настоящему моменту разработаны препараты для таргетной терапии, которые могут отличаться по механизму действия (Табл. 2). Ингибиторы киназ могут представлять собой блокаторы лиганда (например, бевацизумаб), блокаторы экстраклеточного фрагмента рецептора (например, рамуцирумаб) и ингибиторы каталитической активности внутриклеточного фрагмента рецептора (например, сунитиниб, сорафениб) [6].

Таблица 2.

Киназы в онкологии и их ингибиторы

Киназа (белок-мишень)	Основные процессы	Роль в канцерогенезе	Препараты-ингибиторы
CAM	Клеточный сигналинг, подвижность клеток	Миграция раковых клеток, внедрение в нормальные ткани, их системное распространение	Trifluoperazine, Calmidazolium, W-7/W-13
ROCK1	Регуляция цитоскелета	Мобильность раковых клеток	Fasudil, Netarsudil
JAK1	Клеточный сигналинг	Доброкачественные и злокачественные новообразования	Ruxolitinib *
CDK4	Регуляция клеточной пролиферации	Меланома кожи злокачественная	Palbociclib, Ribociclib
PIK3CA	Клеточный сигналинг, участвуют в иммунном ответе	Рак молочной железы	Alpelisib (Piqray)
ACT-B	Изменение цитоскелета, подвижность и сокращение клеток	Рак органов желудочно-кишечного тракта, почек, легких, молочной железы, простаты, яичников, колоректальный рак, меланома, лейкоциты и лимфома	
NTRK3	Регуляция выживания и дифференцировки клеток	Солидные опухоли	Larotrectinib*, Entrectinib*
MET	Рост гепатоцитов	Гепатоцеллюлярный рак, почечно-клеточный рак	Selpercatinib, Pralsetinib
RET	Перестройка рецептора тирозинкиназы	Рак щитовидной железы, рак легких	Sunitinib*, Sorafenib*, Cabometyx*
VEGFR2	Рост эндотелия сосудов	Рак толстой кишки, глиобластома, солидные опухоли	Sunitinib*, Sorafenib* Bevacizumab, Ramucirumab

Примечание: * отмечены препараты, которые являются мультикиназными ингибиторами

В настоящее время доклинические комбинированные исследования безопасности препаратов и методик их применения проводят на моделях животных. Например, препарат кабозантиниб прошел доклинические испытания на мышах, крысах, собаках, обезьянах и кроликах [7].

Исходя из данных Таблицы 1, которая показывает сходство белков-киназ у человека и некоторых животных, ингибиторы изученных киназ могут оказаться эффективными не только при лечении рака у животных, но и при лечении аналогичных заболеваний у человека. Так же очевидно, что грамотный выбор модели, с учетом данных приведенных в Таблице 1, может помочь определить наиболее подходящие объекты для проведения доклинических испытаний противораковых препаратов, а также снизить стоимость и повысить эффективность их проведения. А более активное внедрение в практику лечения онкозаболеваний животных таргетных препаратов позволит не только существенно расширить клиническую картину, но и выявить пролонгированные побочные эффекты применения указанных выше препаратов. В любом случае необходимы дополнительные исследования, которые могут проверить эффективность такого подхода.

ВЫВОДЫ

1. Процессы создания таргетных препаратов для лечения онкозаболеваний у человека и

животных можно оптимизировать за счет использования методов биоинформатики.

2. Сравнительный анализ показал ортологичность десяти киназ, важных с точки зрения лечения рака, у человека и некоторых животных.

3. Был определен спектр существующих малых молекул - ингибиторов изученных киназ, обсужден опыт применения мультикиназных ингибиторов при лечении онкозаболеваний человека с использованием таргентных препаратов, прошедших доклинические испытания на мишенях животных. Такие лекарства будут особо актуальны при лечении опухолей устойчивых к воздействию лекарства, направленных только на одну мишень.

4. На основе сравнения данных о строении белков и имеющихся результатов применения ингибиторов киназ, показана возможность подбора наиболее подходящих объектов для проведения доклинических испытаний противораковых препаратов.

Список источников

1. Attwood M. Trends in kinase drug discovery: targets, indications and inhibitor design / M. Attwood [и др.] // Nature Reviews Drug Discovery. – 2021. – Vol. 20. – P. 839-861.
2. Cicenas J. Kinases and Cancer / J. Cicenas [и др.] // Cancers. – 2018. – Vol. 10, № 3. – P. 63. – DOI: 10.3390/cancers10030063.
3. Schneider G. Automating drug discovery / G. Schneider // Nature Reviews Drug Discovery. – 2018. – Vol. 17. – P. 97–113.
4. Boratyn G. BLAST: a more efficient report with usability improvements / G. Boratyn [и др.] // Nucleic Acids Research. – 2013. – Vol. 41. – Текст : электронный. – DOI: 10.1093/nar/gkt282.
5. Okonechnikov K. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit / K. Okonechnikov [и др.] // Bioinformatics. – 2012. – Vol. 28. – P. 1166-1167.
6. Kim S. PubChem 2023 update / S. Kim [и др.] // Nucleic Acids Research. – 2023. – Vol. 51. – Текст : электронный. – DOI: 10.1093/nar/gkac956.
7. Охтин Г.Ю. Сравнительный анализ молекул целевых цитотоксических киназ человека, пригодных для лечения онкозаболеваний животных / Г.Ю. Охтин, П.Н. Абрамов, О.А. Киселева, А.Д. Поспелов // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2024. – № 11, Т. 2. – С. 13–21. – DOI: 10.36871/[vet.zoo.bio.202411202](https://doi.org/10.36871/vet.zoo.bio.202411202).

Сведения об авторах

*Г.Ю. Окшин - учащийся

О.А. Киселева, кандидат биологических наук, доцент

Information about the authors

*Y. Okshin - student

O.A. Kiseleva - Candidate of Biological Sciences, Associate Professor

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

gleboksina@gmail.com

УДК: 577.21

РАЗРАБОТКА МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ПЦР ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ АНАЛИЗА УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ПРОТООНКОГЕНОВ MUC16 И HE4

Погосян Мариам Артаковна¹, Бехтер Алексей Андреевич²

¹МАОУ Гимназия №108 им В.Н. Татищева

²Педиатрический факультет

ФГБОУ ВО «Уральский Государственный Медицинский Университет» Минздрава России
Екатеринбург, Россия

Аннотация

Введение. Метод ПЦР применяется в медицинской диагностике для выявления инфекционных и наследственных заболеваний. Мультиплексная ПЦР анализирует несколько участков ДНК одновременно. В онкологии она позволяет диагностировать рак на ранних стадиях, облегчая лечение. Гены MUC16 и HE4, чья повышенная экспрессия коррелирует с раком яичников, выявляются с помощью ПЦР на ранних стадиях, повышая эффективность лечения. **Цель исследования.** Разработка in silico ПЦР тест-системы для выявления уровня экспрессии генов MUC16 и HE4. **Материалы и методы.** В in silico разработке ПЦР тест-системы использованы FASTA-последовательности генов MUC16 и HE4 из базы NCBI Nucleotide. В Geneious Prime 2024.0.7 проведена структурная аннотация генов с определением открытых рамок считывания и экзонов, разработаны праймеры, соответствующие требованиям. Аналогично разработаны зонды, соответствующие основным требованиям. **Результаты.** В результате разработки in silico ПЦР тест-системы в программе Geneious Prime были установлены рамки считывания искомым генов, определены последовательности экзонов и разработаны праймеры и зонды для генов HE4 и MUC16. **Выводы.** Синтезированы праймеры и зонды для двух генов, соответствующие требованиям ПЦР-тест-системы. Выбраны гены-нормализаторы для корректной работы. Система, разработанная