

## АННОТАЦИИ СТАТЕЙ

А. А. БОГДАНОВ, мл., И. Д. СОЛОВЬЕВ, А. П. САВИЦКИЙ  
**СЕНСОРЫ ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ  
ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ  
И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В МОДЕЛЯХ БОЛЕЗНИ ЧЕЛОВЕКА**

Разнообразные сенсоры для оптического и фото(опто)акустического имиджинга живых систем становятся важным инструментом в фундаментальных и прикладных биомедицинских исследованиях. Некоторые из них, направленные на определение ферментативной активности *in vivo*, становятся коммерчески-доступными препаратами. Такие сенсоры могут использоваться в различных методах регистрации флуоресценции – от глубинной томографии до эндоскопии с использованием микро-камер. Сенсорные молекулы, в том числе узнаваемые и «разрезаемые» ферментами и несущие множество затухающих ближнеинфракрасных флуорофоров, сохраняют свои оптические свойства и при этом длительно циркулируют *in vivo*, что позволяет детектировать ферментативную активность в течение продолжительных промежутков времени и при низких дозах сенсора. В будущем планируется получить более эффективные активируемые пробы со спектральными характеристиками, которые будут обладать большей чувствительностью к действию ферментов, необходимыми для оптической навигации при проведении хирургических операций, биосовместимостью и пониженным уровнем иммуногенности и токсичности. Новые методы оптической визуализации, например, измерение времени жизни флуоресценции и фото(опто)акустический имиджинг, способствуют ранней диагностике заболеваний человека. Использование сенсоров в рамках *in vivo* оптической визуализации будут включать более обширное применение экспериментальных методов в доклинической терапии. Разработка и совершенствование оптических детекторов, а также наличие биологически инертных и высокоспецифичных флуоресцентных зондов будут способствовать дальнейшему внедрению флуоресцентной визуализации в клинику.

Табл. 1, илл. 6, библиогр. 103 назв.

А. С. МИШИН, К. А. ЛУКЬЯНОВ  
**ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ МИКРОСКОПИЯ  
СВЕРХВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ ЖИВЫХ КЛЕТОК**

Флуоресцентная микроскопия сверхвысокого разрешения (наноскопия) позволяет получать изображения с пространственным разрешением, существенно лучшим, чем определяется дифракционным пределом оптической микроскопии. Вместе с тем, методы флуоресцентной наноскопии все еще мало применимы для изучения живых клеток. В этом обзоре мы рассмотрим некоторые яркие примеры исследований с использованием прижизненной

соблюдении неизменных параметров регистрации сигнала, таких как увеличение, мощность возбуждения, разрешение и коэффициент усиления регистрирующей среды, количественный анализ ГВГ изображений коллагена дает объективные показатели его состояния. В настоящее время существуют различные подходы к количественной оценке сигнала ГВГ, многие из которых адаптированы к конкретной задаче. В обзоре систематизировано разнообразие подходов, даны примеры биомедицинского применения каждого из методов количественной оценки, освещаются варианты комбинаций анализа сигнала ГВГ с оценкой автофлуоресценции тканей.

Табл. 1, илл. 5, библиогр. 128 назв.

Ю. В. КИСТЕНЕВ, Д. А. ВРАЖНОВ, В. В. НИКОЛАЕВ,  
Е. А. САНДЫКОВА, Н. А. КРИВОВА

#### **ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ КОЛЛАГЕНА С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕТОДОВ МНОГОФОТОННОЙ МИКРОСКОПИИ И МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ**

Изменение пространственной структуры коллагена сопровождается большим числом заболеваний. Традиционно исследование пространственной структуры коллагена в биологических тканях проводится с использованием гистохимии, иммуногистохимии, магнито-резонансной томографии, рентгенографии. В последнее время для исследования структуры биоткани все чаще применяют многофотонную лазерную микроскопию (МФМ). Данный метод имеет высокое пространственное разрешение, сравнимое с гистологическим анализом, является прямым методом наблюдения структуры коллагена. Высокое пространственное разрешение МФМ приводит к накоплению большого объема экспериментальных данных, что требует привлечения специальных аналитических методов выявления значимых признаков и развития подходов количественной оценки взаимосвязей патологических процессов, выражающихся в деструкции коллагеновой структуры, и характеристик многофотонных изображений.

Обзор посвящен анализу подходов и имеющихся результатов в области выявления информативных характеристик в экспериментальных данных многофотонной мультимодальной микроскопии коллагеновых структур в биоткани и разработке на этой основе алгоритмов компьютерной классификации коллагеновых структур с использованием машинного обучения – разновидности методов искусственного интеллекта.

Табл. 2, илл. 7, библиогр. 94 назв.

наноскопии. Особое внимание уделено развитию методов наноскопии и технологий флуоресцентного мечения, направленных на снижение повреждающего воздействия светового облучения на живые образцы.

Илл. 1, библиогр. 93 назв.

М. М. КАРАСЁВ, О. В. СТЕПАНЕНКО, К. А. РУМЯНЦЕВ,  
К. К. ТУРОВЕРОВ и В. В. ВЕРХУША

#### **БЛИЖНЕ-ИНФРАКРАСНЫЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ БЕЛКИ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ.**

Высокая прозрачность, низкий уровень светорассеяния и автофлуоресценции биологических тканей млекопитающих в ближне-инфракрасном спектральном диапазоне (~650 – 900 нм) открывает большие возможности для *in vivo* визуализации биологических процессов на микро- и макроуровнях для решения как фундаментальных, так и прикладных задач биологии и медицины. Биомаркеры, поглощающие и флуоресцирующие в ближне-инфракрасной области спектра, удалось получить на основе бактериальных фитохромов – природных фоторецепторов ближне-инфракрасного света, регулирующих метаболизм бактерий. Поскольку хромофором этих белков является биливердин – естественный продукт катаболизма гема, присутствующий в достаточных количествах в клетках млекопитающих, они могут применяться в качестве генетически кодируемых биомаркеров, аналогично GFP-подобным флуоресцентным белкам. В обзоре рассмотрены фотофизические свойства ближне-инфракрасных флуоресцентных белков, репортеров и биосенсоров, а также дан анализ их характеристик, существенных для экспрессии в клетках млекопитающих. Подчеркнуты структурные особенности и аспекты молекулярной инженерии этих белков. Показаны примеры успешного применения ближне-инфракрасных биомаркеров и репортеров при изучении молекулярно-биологических процессов в клетках и визуализации тканей и органов в целом организме. Особое внимание уделено рассмотрению вопроса об использовании этих белков в передовых технологиях *in vivo* визуализации, сочетающих методы флуоресценции, биолюминесценции и фотоакустики.

Табл. 1, илл. 7, библиогр. 126 назв.

В. И. ЩЕСЛАВСКИЙ, М. В. ШИРМАНОВА,  
А. ЕЛЬЦОВ и В. БЕККЕР

#### **ЛЮМИНЕСЦЕНТНАЯ МИКРОСКОПИЯ НА ОСНОВЕ МНОГОПАРАМЕТРИЧЕСКОГО ВРЕМЯ-КОРРЕЛИРОВАННОГО СЧЕТА ФОТОНОВ**

Классическая техника время-коррелированного счета фотонов (TCSPC) регистрирует количество одиночных фотонов, испускаемых образцом в результате воздействия на него периодического оптического излучения, определяет их времена относительно возбуждающего импульса и строит временную гистограмму их распределения. Данная техника позволяет

достичь сверхвысокого временного разрешения и почти идеальной эффективности детектирования. Современная TCSPC по своей сути является многопараметрической, то есть для каждого фотона определяется не только его время регистрации, но также другие параметры, такие, как пространственные координаты в пределах исследуемой области образца, длина волны, время относительно начала эксперимента и другие. Таким образом TCSPC в ее многопараметрическом варианте позволяет строить распределения фотонов относительно этих параметров. В обзоре представлено описание техники TCSPC и ее применение во флуоресцентной микроскопии с временным разрешением в различных областях биологии.

Илл. 7, библиогр. 145 назв.

Е. А. ШИРШИН, Б. П. ЯКИМОВ, М. Е. ДАРВИН,  
Н. П. ОМЕЛЬЯНЕНКО, С. А. РОДИОНОВ,  
Ю. И. ГУРФИНКЕЛЬ, Ю. ЛАДЕМАНН, В. В. ФАДЕЕВ,  
А. В. ПРИЕЗЖЕВ

#### **МНОГОФОТОННАЯ МИКРОСКОПИЯ С ЭНДОГЕННЫМ КОНТРАСТОМ: ПРИРОДА ФЛУОРОФОРОВ И ВОЗМОЖНОСТИ В ИССЛЕДОВАНИИ БИОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ**

Многофотонная микроскопия (МФМ) является методом молекулярного имиджинга, в том числе интравитального, который отличает высокое пространственное разрешение в совокупности с большей глубиной проникновения в ткань. МФМ является мультимодальным методом, основанным на детектировании нелинейно-оптических сигналов: многофотонной флуоресценции и оптических гармоник, а также позволяет проводить имиджинг с использованием параметров кинетики затухания флуоресценции. Данный обзор посвящен описанию и обсуждению фотофизических процессов в основных молекулах-репортерах, используемых в МФМ с эндогенным контрастом, а также изложению некоторых современных экспериментов, иллюстрирующих возможности label-free МФМ для молекулярного имиджинга биохимических процессов в соединительной ткани.

Табл. 1, илл. 3, библиогр. 147 назв.

В. В. ДУДЕНКОВА, М. В. ШИРМАНОВА, М. М. ЛУКИНА,  
Ф. И. ФЕЛЬДШТЕЙН, А. ВИТКИН, Е. В. ЗАГАЙНОВА

#### **ОЦЕНКА СТРУКТУРЫ И СОСТОЯНИЯ КОЛЛАГЕНА ПО СИГНАЛУ ГЕНЕРАЦИИ ВТОРОЙ ГАРМОНИКИ**

Коллаген является основным компонентом внеклеточного матрикса у млекопитающих, а его характеристики указывают на состояние соединительной ткани. Существует несколько способов визуализации коллагеновых волокон без дополнительной окраски, наиболее часто используемым из которых является микроскопия генерации второй гармоники (ГВГ). ГВГ-микроскопия зарекомендовала себя как перспективный высоко-специфичный неинвазивный метод оценки относительного содержания и структуры фибриллярного коллагена с высоким разрешением. При

О. А. СМОЛЯНСКАЯ, Е. Н. ЛАЗАРЕВА, С. С. НАЛЕГАЕВ,  
Н. В. ПЕТРОВ, К. И. ЗАЙЦЕВ, П. А. ТИМОШИНА,  
Д. К. ТУЧИНА, Я. Г. ТОРОПОВА, О. В. КОРНЮШИН,  
А. Ю. БАБЕНКО, Ж.-П. ГИЙЕ, В. В. ТУЧИН

#### **МУЛЬТИМОДАЛЬНАЯ ОПТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ГЛИКИРОВАННЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ**

Диабет является метаболическим расстройством, характеризующимся наличием хронической гипергликемии, сопровождающейся нарушением метаболизма углеводов, липидов и белков, а также развитием долгосрочных микрососудистых, макрососудистых и нейропатических изменений. В настоящем обзоре представлены результаты спектроскопических исследований в широком диапазоне ЭМ волн, от видимого до терагерцового, процесса гликирования белков тканей и клеток в организмах как с естественно развивающимся, так и модельным сахарным диабетом, а также в образцах, которые были гликированы в условиях *in vitro*. Представлены результаты рефрактометрических измерений растворов гликированной и оксигенированной форм гемоглобина в широком диапазоне длин волн при различных температурах и измерений с помощью цифровой голографической микроскопии и дифракционной томографии, предназначенных для диагностики диабета. На основе проведенного анализа релевантных исследований показано, что перспективным направлением развития методов диагностики заболевания является разработка и внедрение мультимодальных подходов на основе совмещения методов фазовой диагностики с другими методами. Также проанализированы возможности применения оптических просветляющих агентов для мониторинга затрудненной диффузии агентов в гликированных тканях и динамики кровотока в сосудах поджелудочной железы животных с привитой моделью диабета.

Табл. 2, илл. 6, библиогр. 161 назв.

А. Ю. СДОБНОВ, Ю. ЛАДЕМАНН, М. Е. ДАРВИН,  
В. В. ТУЧИН

#### **МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОПТИЧЕСКОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ В ДЕРМАТОЛОГИИ ПРИ ОПТИЧЕСКОМ ПРОСВЕТЛЕНИИ КОЖИ**

Представлен краткий обзор методов оптического просветления на примере кожи. Оптическое просветление рассмотрено как эффективный способ увеличения глубины зондирования и качества получаемых данных для многофотонной томографии и спектроскопии комбинационного рассеяния света. Описаны основные механизмы оптического просветления, его безопасность, преимущества и ограничения. Представлены данные по изучению влияния агентов оптического просветления на состав воды в коже в зависимости от силы водородных связей. Было показано что 70% раствор глицерина и 100% Omnipaque™(300) снижают концентрацию воды в коже. В частности, оба оптических просветляющих агента оказывают наибольшее влияние на сильно связанную и слабо связанную воду. Тем не менее, Omnipaque™(300) оказывает в значительной мере меньший дегидратационный эффект, чем

глицерин. Также приведены результаты исследования влияния оптического просветления на сигнал автофлуоресценции при двухфотонном возбуждении и на фоновую флуоресценцию спектров комбинационного рассеяния для различных глубин кожи. Было показано, что Omnipaque™(300) является перспективным агентом оптического просветления для спектроскопии комбинационного рассеяния за счет оказываемого им эффекта снижения фоновой флуоресценции в верхних слоях кожи. Обсуждены перспективы мультимодальной визуализации с использованием различных оптических методов в комбинации с техникой оптического просветления.

Илл. 4, библиогр. 171назв.

**А. А. КУДРЯЕВА, А. А. БЕЛОГУРОВ**  
**ПРОТЕАСОМА: НАНОМАШИНЕРИЯ**  
**СОЗИДАТЕЛЬНОГО РАЗРУШЕНИЯ**

В середине XX века постулировалось, что деградация внутриклеточных белков является стохастическим процессом. Более полувека масштабных исследований достоверно доказали, что разрушение белков – это очень сложный и жестко регулируемый во времени и пространстве процесс, который играет невероятно важную роль в подавляющем большинстве метаболических путей. Деградацию более чем половины внутриклеточных белков контролирует иерархически выстроенная и эволюционно совершенная система, состоящая из множества компонентов, основными из которых являются убиквитин-лигазы и протеасома, вместе именуемые убиквитин-протеасомная система (УПС). УПС насчитывает более 1000 индивидуальных представителей, при этом большинство из них имеют критическое значение для функционирования и выживаемости клеток. Помимо хорошо известных сигнальных функций убиквитинирования, таких как модификация субстратов для протеасомной деградации и репарации ДНК, полиубиквитиновые цепи также вовлечены в другие важнейшие клеточные процессы, например, участвуют в регуляции клеточного цикла, в работе иммунной системы, деградации белков в митохондриях и даже стабильности мРНК. Невероятное разнообразие функций убиквитинирования обусловлено способностью убиквитина образовывать цепи различного типа ветвления посредством  $\epsilon$ -аминогруппы любого из семи остатков лизина в его последовательности. Процесс, обратный убиквитинированию, осуществляется представительным семейством деубиквитирующих ферментов. Вторым основным компонентом УПС является протеасома – мультисубъединичный протеиназный комплекс, который, в дополнение к деградации завершивших свою функцию и поврежденных белков, регулирует многие важные клеточные процессы посредством контролируемой деградации белков, например, факторов транскрипции и циклинов. Кроме убиквитин-зависимой деградации протеасомой, существует также убиквитин-независимая деградация, в этом случае сигналом для протеолиза является либо последовательность внутри самого белка, либо некоторая вспомогательная молекула. Гидролиз белков является критически важной

клеточной функцией, нарушения в работе которого ведут к системному сбою в работе организма и, в конечном итоге, тяжелым заболеваниям. К таковым относят диабет и злокачественную трансформацию, а также ряд нейродегенеративных нарушений, таких как рассеянный склероз, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезнь Крейтцфельда-Якоба и болезнь Хантингтона. В настоящем обзоре рассмотрены механизмы работы всех компонентов УПС, а также множественность путей ее тонкой регуляции..

Илл. 7, библиогр. 318 назв.

О. С. КОСТАРЕВА, А. Г. ГАБДУЛХАКОВ, И. А. КОЛЯДЕНКО,  
М. Б. ГАРБЕР, С. В. ТИЩЕНКО

#### **ИНТЕРЛЕЙКИН-17:**

#### **ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ; ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В КАЧЕСТВЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ МИШЕНИ**

Цитокины семейства интерлейкинов IL-17 играют ключевую роль в защите организма от внеклеточных бактериальных и грибковых инфекций. Однако повышенный синтез этих белков ассоциирован с такими иммуновоспалительными и аутоиммунными заболеваниями как псориаз, ревматоидный артрит, системная красная волчанка и др. Представители этого семейства интерлейкинов являются важной терапевтической мишенью при лечении различных хронических воспалительных заболеваний человека.

Исследование сигнальных путей с участием белков семейства IL-17 и анализ структур комплексов цитокинов со специфическими антителами, ингибиторами и рецепторами является необходимым условием для разработки новых лекарственных препаратов при терапии иммуновоспалительных ревматических заболеваний.

Табл. 1, илл. 7, библиогр. 95 назв.

О. В. КОСМАЧЕВСКАЯ, К. Б. ШУМАЕВ, А. Ф. ТОПУНОВ

#### **ЭЛЕКТРОФИЛЬНАЯ СИГНАЛИЗАЦИЯ:**

#### **РОЛЬ АКТИВНЫХ КАРБОНИЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ**

Активные карбонильные соединения образуют группу веществ с ярко выраженными электрофильными свойствами, благодаря которым они спонтанно вступают в реакцию с многочисленными нуклеофильными реакционными центрами (в белках, липидах, нуклеиновых кислотах). Биологическое действие этих соединений определяется их концентрацией и подчиняется принципу гормезиса (двухфазной реакции). В низких концентрациях активные карбонильные соединения функционируют как сигнальные молекулы, активируя системы защиты от ксенобиотиков и окислителей, в высоких – оказывают цитотоксическое действие. В формировании адапционного ответа клетки участвуют как внутриклеточные сигнальные пути, затрагивающие экспрессию генов, так и цитоплазматические механизмы, связанные со структурно-функциональной перестройкой белков. Особое внимание уделяется функционированию электрофилов как «медиаторов неспецифического адапционного синдрома клеточной системы»,

домен, и многократно ускоряет транспорт холестерина и продукцию прегненолона. Несмотря на колоссальный интерес к STARD1, подогреваемый его вовлечением в развитие ряда наследственных заболеваний, и титанические усилия многих лабораторий, многие аспекты структуры, функционирования и регуляции данного белка остаются загадочными, и горячо обсуждаются в литературе. В обзоре дано современное представление о структуре STARD1 и других липид-переносящих белков, о роли STARD1 в стероидогенезе и о механизме его функционирования, и выявить наиболее противоречивые и наименее исследованные вопросы.

Табл. 1, илл. 5, библиогр. 170 назв.