

05/04/2007). The solid growth medium was inoculated with overnight culture of *E. coli*. Mexidol paper disks of 6 mm in diameter impregnating with 20% aqueous solution of the drug were used. For comparison, standard disks with antibiotics and fluoroquinolones Cefotaxime, Cefazidim, Ciprofloxacin, Tetracycline, Ciprofloxacin and Norfloxacin to which *E. coli*, as a rule, is sensitive, as well as antiseptic Chlorhexidine bigluconate were used. Mexidol discs were dried at room temperature and laid onto the surface of solid nutrient medium inoculated with the culture of *E. coli*. Standard discs with antibiotics were placed similarly. The Petri plates were placed into the thermostat at 37°C. After 24 hours, zones of growth inhibition were measured around the discs. Results. It was found that the test-culture growth inhibition zone around disk processed with 20% solution of Mexidol were similar to those around reference preparations Cefotaxime, Cefazidim, Ciprofloxacin, Tetracycline, Ciprofloxacin and Norfloxacin and Chlorhexidine. Their diameters are 25-30 mm, while for comparison, the diameters of growth inhibition zones of Norfloxacin or Cefazidim are 26 and 20 mm, respectively. These results are consistent with the literature data about the ability of other 3-hydroxypyridine derivative (methylethylpyridinol, or Emoxipin) to potentiate the effect of the antibiotic Cefazidim against *E. coli* and *Klebsiella pneumoniae* (Miroshnichenko A.G. et al., 2013). The observed phenomenon requires further study, but now it can explain the therapeutic and preventive effects of Mexidol used in toothpastes, dressing or suture materials which were still considered to be the result of only antioxidant and antihypoxic action of this drug. Conclusion. Thus, the data obtained show that *E. coli* museum strain exhibits sensitivity to 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate (Mexidol) which is not inferior to that of well known antimicrobial agents.

АНАЛИЗ ДАННЫХ SNP/ОЛИГОНУКЛЕОТИДНОГО МОЛЕКУЛЯРНОГО КАРИОТИПИРОВАНИЯ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ У ДЕТЕЙ С УМСТВЕННОЙ ОТСТАЛОСТЬЮ И ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ РАЗВИТИЯ, РОЖДЕННЫХ В КРОВНОРОДСТВЕННОМ БРАКЕ

М.А. Зеленова, С.Г. Ворсанова, Ю.Б. Юров, С.А. Коростелев, И.Ю. Юров

Научный руководитель – д.м.н., проф. С.Г. Ворсанова
Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

Введение. Несмотря на относительную редкость (менее 1% в общей популяции), кровнородственные браки представляют особый интерес для специалистов в области медицинской генетики, поскольку дети в подобных семьях часто страдают от генетически обусловленных заболеваний. Подобная информация также необходима для корректного медико-генетического консультирования. С развитием молекулярно-генетических технологий соответствующие данные стало возможным получать с помощью выявления сегментной потери гетерозиготности (СПГ)/унипарентальной дисомии при полногеномном сканировании. Целью работы стало выявление случаев кровного родства родителей детей с умственной отсталостью и врожденными пороками развития (ВПР) с помощью биоинформатического анализа данных полногеномного сканирования методом SNP молекулярного карiotипирования. Материалы и методы. С помощью оригинальной биоинформатической технологии (Iourov I.Y. et al. Mol Cytogenet. 2014; 7:98) были исследованы 188 геномов детей с умственной отсталостью и ВПР. Результаты. СПГ, характерные для детей, рожденных в кровнородственном браке, были обнаружены в 6 случаях (3,2%). В двух случаях родители подтвердили кровное родство, тогда как в остальных этот факт был подтвержден с помощью генеалогического анализа. У одного ребенка был уточнен диагноз (синдром Мейера-Горлина) благодаря анализу выявленных СПГ, затрагивающих гены *ORC6* (16q11.2), *ORC1* (1p32.3), *CDC6* (17q21.2) и *PCNT* (21q22.3). Вряде случаев СПГ, вызванных кровным родством родителей, не являлись непосредственной причиной нарушения психики и пороков развития. В частности, были обнаружены микроделеции в хромосомных участках 14q22.1 и 15q15.2. У одного ребенка была выявлена мозаичная делеция в участке 3p26.3p26.1 (5 млн пн). В одном случае наблюдался синдром Ангельмана, связанный с делецией в участке 15q11.2q13.1. Выводы. Идентификация кровного родства родителей посредством определения участков СПГ показала, что 3,2% детей с умственной отсталостью и ВПР рождены в кровнородственных браках. Продемонстрирована возможность биоинформатического анализа при определении характера генетической патологии. Примечательно также, что кровное родство родителей может не быть этиологически связано с генетической патологией. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №14-15-00411).

ANALYSIS OF GENOMIC DATA OBTAINED BY SNP/OLIGONUCLEOTIDE MOLECULAR KARYOTYPING FOR THE IDENTIFICATION OF GENETIC PATHOLOGY IN CHILDREN WITH MENTAL RETARDATION AND CONGENITAL MALFORMATIONS BORN FROM CONSANGUINEOUS PARENTS

M.A. Zelenova, S.G. Vorsanova, Y.B. Iourov, S.A. Korostelev, I.I. Iourov

Scientific Advisor – DBiolSci, Prof. S.G. Vorsanova

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Introduction. Despite relatively low frequency of consanguineous marriages in general population (less than 1%), they represent particular interest to medical geneticists, because children born in such families usually suffer from genetic diseases. Consanguinity is also important for genetic counseling. With the development of molecular techniques, it has become possible to obtain relevant data by detecting segmental loss of heterozygosity (LOH) or uniparental disomy using whole-genome scan. Aim. The aim of the work was to identify consanguinity in parents of children with mental retardation and congenital malformations using bioinformatic analysis of data obtained by SNP molecular karyotyping. Materials and methods. We analyzed 188 genomes of children with mental retardation and congenital malformations using the original bioinformatic technology (Iourov I.Y. et al. Mol Cytogenet. 2014; 7:98). Results. Segmental LOH featuring children born from consanguineous marriages were found in 6 cases (3.2%). In two cases, the parents confirmed consanguinity, whereas in the rest this was further confirmed by a genealogical analysis. In one case, we were able to confirm the hereditary disease (Meier-Gorlin syndrome) uncovered through detecting LOH affecting *ORC6* (16q11.2), *ORC1* (1p32.3), *CDC6* (17q21.2) and *PCNT* (21q22.3). In other cases, LOH were not the direct cause of mental disorders and malformations. Particularly, microdeletions were found in 14q22.1 and 15q15.2. One child had a mosaic deletion in 3p26.3p26.1 (5 Mb). A case exhibited a deletion in 15q11.2q13.1 resulting in Angelman syndrome. Conclusion. Identification of consanguinity by LOH analysis showed that 3.2% of children with mental retardation and congenital malformations are born from consanguineous marriages. We have shown the potential of bioinformatic analysis to determine the nature of a genetic disease. It is noteworthy that parental consanguinity may be etiologically unrelated to the pathogenesis of a genetic disease. Supported by Russian Science Foundation (project №14-15-00411).

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ НАНОГЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЬ-Б-ПОЛИМЕТАКРИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

Р.В. Воейков, Н.В. Нуколова, В.П. Чехонин, А.В. Кабанов

Научный руководитель – к.х.н. Н.В. Нуколова

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Введение. Селективная доставка лекарств в теле исследуется многими научными коллективами по всему миру. Одними из многообещающих наноконтейнеров являются наногели – мягкие наночастицы, состоящие из гидрофильных или амфифильных полимерных цепей. Наногели обладают рядом преимуществ: высокая емкость загрузки, стабильность и чувствительность к изменениям окружающей среды (рН, ионная сила и температура). Также мы можем использовать наногели с биodeградируемыми сшивками для того, чтобы избежать их накопления в организме. Цель исследования. Целью данной работы является синтез наногелей, а также изучение процесса введения в них и высвобождения противоопухолевого препарата Доксорубин. Материалы и методы. Наногели были синтезированы на основе полиэтиленгликоль-б-полиметакриловой кислоты (ПЭГ-б-ПМА). Синтез состоял из следующих этапов: 1) формирование полиэлектролитных комплексов полимера с противоионами кальция; 2) сшивка ядра сформированной наночастицы с помощью этилендиамина и карбодимида; 3) удаление ионов Ca^{2+} из наночастиц путем хелатирования с ЭДТА и тщательного диализа. Для синтеза биodeградируемых наногелей вместо этилендиамина был использован цистамин. В качестве разрушающего агента использовали глутатион. Загрузку лекарственного препарата в наногели осуществляли смешиванием водных растворов веществ при различных мольных соотношениях (25°C, 10 ч). Полученные загруженные наноконтейнеры очищали от свободного лекарства путем центрифугирования на фильтрах (поры мембраны 30 кДа). Концентрацию загруженного препарата определяли путем спектрофотометрического анализа. Кинетика высвобождения Доксорубина из наноконтейнеров была изучена при рН 7,4 и 5,4. Для определения размера и ζ-потенциала наногелей был использован метод динамического светорассеяния. Результаты. Были получены стабильные негативно заряженные

наночастицы со шитым ядром. Было установлено, что размер и ζ -потенциал наноконтейнеров изменяется после загрузки лекарства. Найдено, что после добавления глутатиона высвобождение происходит в 2 раза эффективнее. Также был изучен процесс высвобождения при разном pH (5,4 и 7,4), и при более низком значении высвобождение также протекает в 2 раза более эффективно. Выводы. Таким образом, для селективного высвобождения противоопухолевого препарата в опухолевых клетках могут быть использованы как биodeградируемые, так и обычные наногели. Работа выполнена при поддержке грантов РНФ 14-15-00698, договора о проведении НИР № 182-MRA между МГУ имени М.В. Ломоносова, Сколковским институтом науки и технологий и Массачусетским технологическим институтом (США).

SYNTHESIS AND INVESTIGATION OF NANOGELS BASED ON POLYETHYLENEGLYCOL-B-POLYMETACRYLIC ACID

R.V. Voeikov, N.V. Nukolova, V.P. Chehonin, A.V. Kabanov
Scientific Advisor – CandChemSci N.V. Nukolova
Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Introduction. Selective delivery of drugs in the body is the focus of many research groups in the world. One of the promising nanocontainers is nanogel – soft nanoparticles, consisting of hydrophilic or amphiphilic polymeric chains. Nanogels have beneficial characteristics: high loading capacity, stability and sensitivity to environmental changes (pH, ionic strength and temperature). We can use nanogels with biodegradable cross-links to avoid long-term accumulation of nanocontainers in the body. Aim. The aim of this work was to synthesize nanogels and to study loading and release kinetic of anticancer drug Doxorubicin. Materials and methods. Nanogels were synthesized from block-copolymer polyethylene glycol-b-poly(methacrylic acid) (PEG-b-PMAA). Synthesis consists of several steps: 1) formation of polymer polyelectrolyte complexes with oppositely charged ions (e.g. Ca^{2+}); 2) cross-linking of formed nanoparticles by ethylenediamine using carbodiimide; 3) removing Ca^{2+} ions from nanoparticles through chelating with EDTA and dialysis. Cystamine was used instead of ethylenediamine for synthesis of biodegradable nanogels. We used glutathione as reducing agent. Loading of drug into nanogels was processed by their mixing overnight (25°C, 10 h). Loaded nanogels were purified by multiple centrifugation on Amicon filters (MWCO 30 kDa). Concentration of loaded drug was calculated with help of spectrophotometric analysis. Release of drug was studied at different pH (5.4 and 7.4). DLS method was used for determination size and ζ -potential of nanogel. Results. Stable negatively charged biodegradable nanoparticles with cross-linked core were synthesized and characterized. Using DLS method we found that size and ζ -potential of nanogel change after loading. It was shown that after adding glutathione release of Doxorubicin is 2 times more effective. Also we studied release of drug from non-biodegradable nanogels at different pH (5.4 and 7.4) and at lower pH it is 2 times more effective too. Conclusion. Both biodegradable and non-biodegradable nanogels gives an opportunity for selective release of drug in tumor cells. This work is supported by grants of RSF 14-15-00698, contract №182-MRA between non-profit organization for higher education "Skolkovo Institute of Science and Technology", MSU and MIT (USA).

СОЗДАНИЕ НАНОКОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА И ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА ДОКСОРУБИЦИНА

A.C. Семкина, М.А. Абакумов, Н.Ф. Гриненко,
Н.В. Нуколова, А.В. Кабанов
Научный руководитель – акад. РАН, д.м.н., проф. В.П. Чехонин
Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

Введение. Традиционная химиотерапия обладает серьезными побочными эффектами, которые связаны с неспецифичностью воздействия лекарства на опухолевые клетки. Для более эффективного транспорта противоопухолевого препарата можно использовать наночастицы. Цель исследования – получить комплекс доксорубина (Докс) с магнитными наночастицами оксида железа, покрытыми оболочкой из бычьего сывороточного альбумина и полиэтиленгликоля (МНЧ) и охарактеризовать его химико-биологические свойства. Материалы и методы. Загрузку Докс осуществляли путем адсорбции лекарства на поверхности МНЧ. Контроль размеров образующихся комплексов (МНЧ-Докс), а также измерения дзета-потенциала наночастиц проводили с помощью метода динамического светорассеяния. Высвобождение лекарственного препарата анализировали в фосфатно-солевом буфере при 25°C. Цитотоксичность МНЧ-Докс определяли на линии клеток глиомы С6 крысы. Интернализацию полученной

наноконпозиции исследовали с помощью конфокального микроскопа Nikon A1R MP+. Результаты. Загрузка Докс в МНЧ составила 8% по массе. Повышение количества Докс приводит к повышению дзета-потенциала МНЧ. Помимо этого эффективность загрузки лекарства снижается при повышении ионной силы раствора МНЧ. Исходя из этого, предполагается, что электростатическое взаимодействие является движущей силой процесса комплексообразования Докс с МНЧ. Высвобождение лекарственного препарата оказалось pH-зависимым: при увеличении кислотности среды количество высвобождающегося Докс значительно возрастало. Было показано накопление МНЧ-Докс в клетках глиомы С6 крысы, а также проникновение лекарства в клеточные ядра. Помимо этого МНЧ-Докс преимущественно аккумулируются в лизосомах клеток. Цитотоксическая активность полученной наноконпозиции оказалась сравнимой с активностью свободного Докс. Выводы. Были получены МНЧ, способные обеспечить эффективную доставку Докс к опухолевым тканям, а также его высвобождение. Работа была выполнена при поддержке грантов РНФ №14-15-00698, РФФИ №13-04-01383.

PREPARATION OF MAGNETIC NANOPARTICLES NANOCOMPLEX WITH ANTICANCER DRUG DOXORUBICIN

A.S. Semkina, M.A. Abakumov, N.P. Grinenko, N.V. Nukolova, A.V. Kabanov
Scientific Advisor – Acad. of RAS, DMedSci, Prof. V.P. Chekhonin
Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Introduction. Conventional chemotherapy has different serious side effects, which are connected with nonspecific drug effect on tumor cells. To provide more effective anticancer drug transport to the tumor we can use nanoparticles. Aim. To obtain the complex of Doxorubicin (Dox) with iron oxide magnetic nanoparticles, coated with the shell of bovine serum albumin and poly(ethylene glycol) (MNP) and to research its biochemical properties. Materials and methods. Doxorubicin loading was carried out by adsorption of anticancer drug molecules on MNP surface. The sizes of generated complexes (MNP-Dox) and zeta-potential values were analyzed by method of dynamic light scattering. Drug release from MNP-Dox complex was analyzed phosphate buffered saline at room temperature. Cytotoxic activity of MNP-Dox was determined by using C6 cell line. Internalization of Dox-loaded nanoparticles in living C6 cells was proved by confocal microscopy on Nikon A1R MP+. Results. Dox-loading in MNP was 8% by weight. Zeta-potential on MNP-Dox surface increased, with increase of Dox-loading. Moreover drug loading efficiency decreased with increase of MNP solution ionic strength. In this connection electrostatic interactions were proposed as driving force of MNP-Dox complexation process. pH-dependent Dox-release was shown. Under acidic condition the amount of released Dox was increased compared to physiological conditions. It was shown, that MNP-Dox complex accumulated in C6 glioma cells and Dox molecules penetrated into the cells nucleus. In addition the MNP-Dox predominantly accumulated in the lysosomes of cells. MNP-Dox complex showed quite similar cytotoxicity against C6 cells compared to free Dox in MTT cell viability assay. Conclusion. Thus, we obtained MNP-Dox nanocomplex, which can provide effective drug delivery to the tumor cells. We are most grateful for the continuing financial support of this research project grants of RSF 14-15-00698 and RFBR №13-04-01383.

СИНТЕЗ БИОСОВМЕСТИМЫХ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА РАЗЛИЧНОГО РАЗМЕРА И СРАВНЕНИЕ ИХ ЭФФЕКТИВНОСТИ В МРТ-ВИЗУАЛИЗАЦИИ ОПУХОЛЕЙ

A.C. Скорики, А.С. Семкина, М.А. Абакумов, Н.Ф. Гриненко,
Н.В. Нуколова, А.В. Кабанов, В.П. Чехонин
Научные руководители – А.С. Семкина, к.х.н. М.А. Абакумов
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Введение. Поисковых методов диагностики и терапии злокачественных опухолей является важнейшей проблемой современной науки. Магнитные наночастицы (МНЧ) способны увеличивать эффективность визуализации опухолей методом магнитной резонансной томографии (МРТ) – одним из важнейших методов диагностики новообразований на сегодняшний день. Также они могут быть использованы для направленной доставки противоопухолевых препаратов, что открывает возможности для одновременной визуализации и терапии опухолей. Цель исследования – получить и охарактеризовать биосовместимые МНЧ, способные эффективно увеличивать контраст на T2-взвешенных изображениях МРТ. Материалы и методы. МНЧ Fe₃O₄ были получены термическим разложением ацетилацетоната железа (III). Покрытие частиц бычьим сывороточным альбумином (БСА) осуществлялось путем его адсорбции