

5. Аппаратурно регистрируемые характеристики и математическая модель гальванотаксического сигнала / Захаров И.С., Ковалевская А.С., Казанцева А.Г., Голядкин С.В. // Известия СПб.: ГЭТУ. Серия "Биотехнические системы в медицине и экологии". – 2006. – № 1. – С. 100-105.

Захаров Игорь Сергеевич

Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет «ЛЭТИ».
E-mail: Sergeich188@gmail.com.
197376, г. Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 5.
Тел.: 88122349071.

Казанцева Анна Геннадьевна

E-mail:kazanutic@mail.ru.

Zakharov Igor Sergeevich

Saint Petersburg Electrotechnical University "LETI".
E-mail: Sergeich188@gmail.com.
5, Prof. Popov street, Saint Petersburg, 197376, Russia.
Phone: +78122349071.

Kazantzeva Anna Gennadevna

E-mail:kazanutic@mail.ru.

УДК 504.064.38

А.С. Ковалевская, О.В. Смолова

**МЕТОД КЛАССИФИКАЦИИ ТОКСИКАНТОВ НА ОСНОВЕ ВЫЯВЛЕНИЯ
ХАРАКТЕРИСТИК ЭТОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИИ ИНФУЗОРИЙ**

Показано наличие отличительных особенностей воздействия различных групп токсикантов на характеристики этологических реакций инфузорий. Предложен новый метод контроля изменений данных характеристик.

Биотестирование; токсичность; этологические реакции; простейшие.

A.S. Kovalevskaya, O.V. Smolova

**CLASSIFICATION METHOD OF TOXIC SUBSTANCES BASED
ON IDENTIFICATION CHARACTERISTICS OF CILIATES ETHOLOGICAL
REACTIONS**

Distinctive effecting features of different toxicant groups on ethological reactions characteristics of ciliates were demonstrated. New method of monitoring changes in these characteristics was discussed.

Bioassay; toxicity; ethological reactions; ciliates.

Особую роль в оценке состояния окружающей среды играют биологические тесты. Они основаны на том, что для жизнедеятельности живых организмов необходима среда строго определенного химического состава. При изменении этого состава, например при исключении из питательной среды какого-либо компонента или введении дополнительного (определяемого) соединения, организм сразу или через некоторое время подает соответствующий ответный сигнал.

Одним из наиболее распространенных индикаторных организмов являются инфузории *Paramecium caudatum*. Они широко распространены в природе, обла-

дают высокой чувствительностью к действию биологически активных веществ, просты в культивировании и хранении [1]. Клетки простейшего это самостоятельные организмы, которым свойственны все жизненные функции: обмен веществ, раздражимость, движение, размножение и другие.

Поведенческие реакции микроорганизмов называются этологическими (от греч. *этос* – характер), а контроль изменения их характеристик позволяет определять степень влияния исследуемого вещества на популяцию [2].

Все вещества по отношению к живым организмам условно разделяют на жизненно необходимые, токсичные и физиологически неактивные [1]. И, следовательно, имеются существенные отличия в реакциях организмов на разные группы токсикантов.

Простейшие реагируют на градиент токсичного вещества, увеличением или уменьшением скорости передвижения, поворотами оси тела, т.е. изменением вектора двигательной активности, а также изменением частоты смены направлений. Частота и интенсивность этих изменений зависят как от вида и концентрации введенного токсиканта (малые концентрации обычно стимулируют процессы жизнедеятельности организма, высокие угнетают), так и от концентрации самих организмов во взвеси. О гибели клеток также можно косвенно судить по исчезновению их подвижности в среде. К фазам процесса гибели следует отнести резкое снижение собственной подвижности и оседание клеток на дно [3].

В настоящее время имеется определенный опыт применения простейших для оценки разных видов токсикантов и выявления характеристик этологических реакций. Например, существует ряд работ по исследованию влияния таких веществ, как соли тяжелых металлов, нефтепродукты, консерванты и красители на подвижность, и другие жизненные показатели *P. Caudatum* [4], [5].

В работе [1] автор утверждает, что с помощью инфузорий возможно определение ионов тяжелых металлов, однако они непригодны для обнаружения и определения анионов. Также имеются сведения, что скорость движения инфузорий повышается при введении в среду их обитания микроколичеств этанола, сахарозы, фурфурола, альдегидов, уксусной кислоты, хлоридов кальция и аммония; добавление хлорида бария замедляет движение клеток.

Несмотря на всю актуальность применения биологических методов контроля, большинство из них основаны либо на локальном контроле общего изменения концентрации популяции инфузорий с использованием оборудования на базе одного или нескольких фотоприемников, либо на визуальном наблюдении за реакциями микроорганизмов под микроскопом. В первом случае методы позволяют решить задачу обнаружения концентрации подвижных биообъектов в пробе, без учета изменений внутри популяции. Во втором случае процесс контроля занимает много времени и весьма трудоемок.

На основании вышесказанного можно сделать вывод, что применение современных аппаратных методов и программных средств по оценке влияния токсичности на этологические реакции инфузорий в популяции представляются весьма актуальным.

На предварительном этапе для отработки базовых принципов метода классификации авторами было предложено использовать цифровую фототехнику и пакет программ для обработки изображений.

Был разработан макет экспериментальной установки, позволяющий фиксировать с помощью цифрового фотоаппарата изменения подвижности инфузорий. Для данной установки было решено использовать светонепроницаемый корпус для

минимизации влияния внешнего освещения, на параметры съемки, а в качестве источника света были выбраны светодиодные лампы, расположенные сверху над кюветой и сбоку от нее.

Таким образом, метод классификации токсикантов на основе выявления характеристик этологических реакций инфузорий включает следующие этапы:

- 1) подготовка материалов и принадлежностей;
- 2) подготовка культуры (осуществляется согласно стандартным методикам культивирования);
- 3) подготовка контрольной (культуральная среда Лозины–Лозинского) и анализируемой проб: во взвесь исследуемых микроорганизмов добавляется контрольная или исследуемая среда; взвесь помещается в фотометрическую кювету с длиной оптического пути 1 мм;
- 4) проведение измерений:
 - ◆ кювета помещается в светонепроницаемый корпус установки;
 - ◆ при помощи цифрового фотоаппарата регистрируются траектории движения инфузорий;
 - ◆ полученные изображения передаются на ПК;
- 5) проведение цифровой обработки изображения:
 - ◆ регулировка яркости и контрастности изображения;
 - ◆ фильтрация шумов;
 - ◆ маркировка клеток для анализа;
- 6) расчет параметров движения: длины свободного пробега (прямолинейный участок траектории между сменами направления) и углов изменения направления движения выбранных инфузорий;
- 7) проведение статистической обработки полученных данных.

С помощью данного метода авторами были получены снимки движения микроорганизмов при добавлении водных растворов солей тяжелых металлов, уксусной кислоты и этанола (рис. 1). Съемка проводилась на длительной выдержке через 5 минут, 2 минуты и сразу после смешивания взвеси инфузорий с исследуемым токсикантом, а также с различной концентрацией клеток во взвеси.

Для экспериментально полученных величин углов поворота и длин пробега были определены асимметрия и стандартное отклонение.

Анализ данных, полученных после обработки изображений, показал, что характер движения инфузорий действительно зависит от таких факторов, как концентрация взвеси инфузорий, вида токсичного вещества и времени его воздействия.

Было выявлено, что при добавлении водных растворов солей тяжелых металлов наблюдается практически одинаковая тенденция: с увеличением времени воздействия коэффициент асимметрии длины пробега уменьшается – длина пробега становится меньше, в то время как значение угла, на который поворачивается инфузория, становится больше, а само движение становится более хаотичным. Однако иная картина изменения в поведении инфузорий наблюдается при добавлении растворов солей свинца – сразу после добавления токсиканта происходит увеличение хаотичности движения (разброс значения углов изменения направления возрастает), со временем движение становится более спокойным и приобретает характер, наглядно показанный на рис. 1,е.

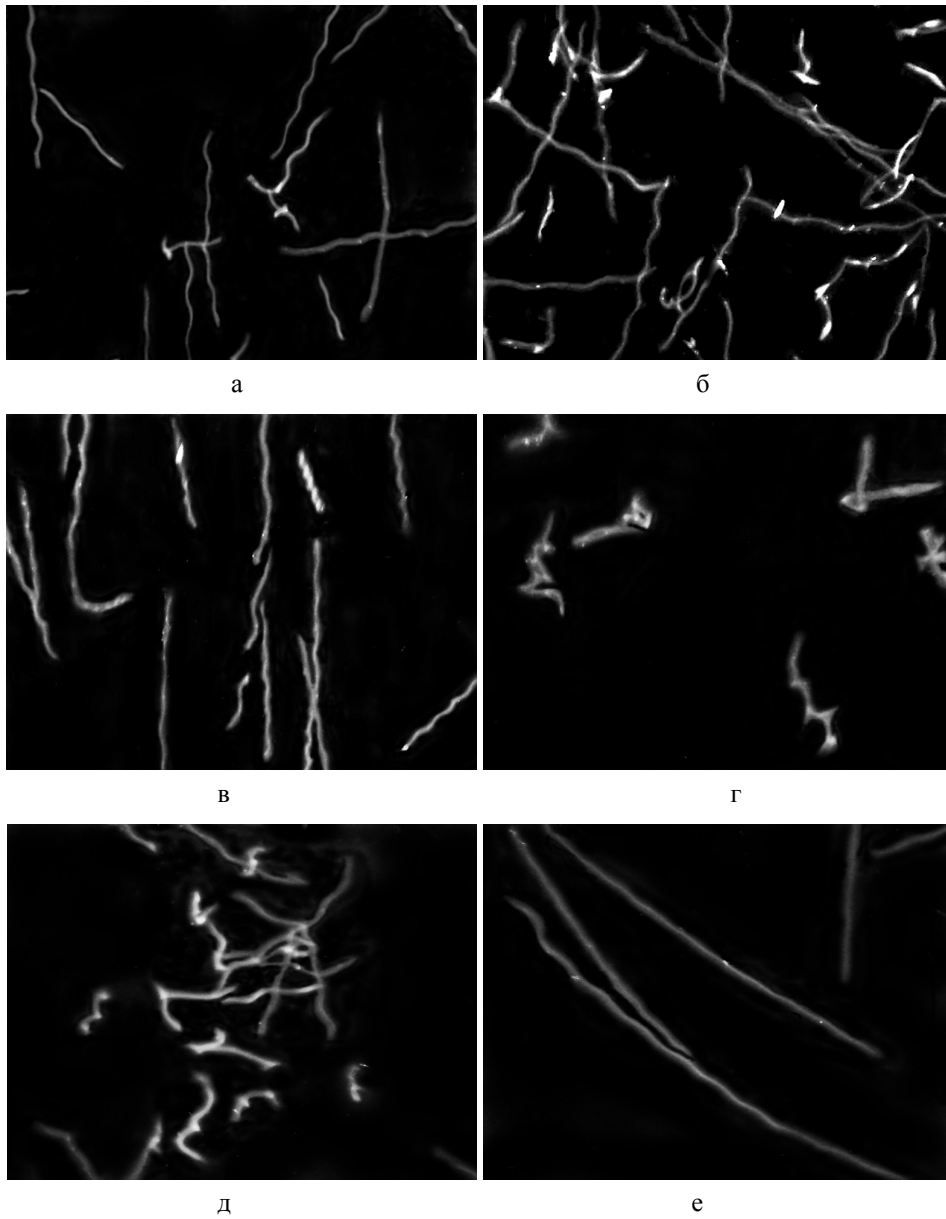


Рис. 1. Снимки траектории движения инфузорий: а, б – контрольные пробы с концентрациями взвеси инфузорий 600, 1200 кл/мл соответственно; в, г – во взвесь инфузорий (600кл/мл) добавлен водный раствор CuSO_4 с концентрациями $1 \cdot 10^{-2}$ и 10 мг/л соответственно; д – во взвесь инфузорий (600кл/мл) добавлен водный раствор уксусной кислоты $9 \cdot 10^{-4}$ мг/л; е – во взвесь инфузорий (600кл/мл) добавлен водный раствор $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ с концентрацией $3 \cdot 10^{-3}$ мг/л

Диаграммы среднеквадратического отклонения (СКО) угла поворота при воздействии CuSO_4 (а) и $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (б) в течение определенного времени (0, 2 и 5 мин) и без токсиканта (контроль) приведены на рис. 2. Значения СКО углов поворотов для растворов солей тяжелых металлов изменяются в диапазоне 7-35.

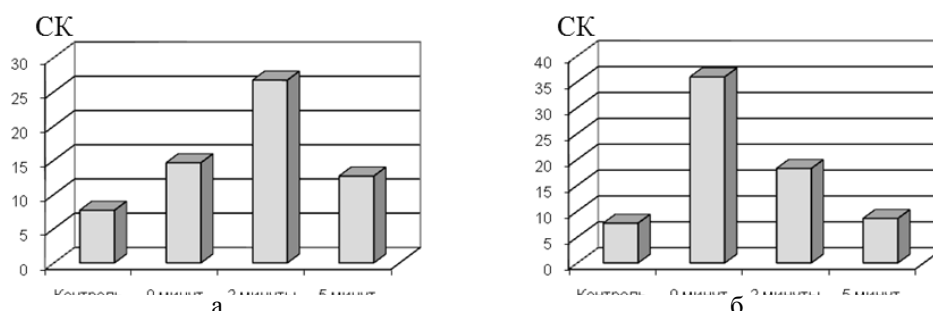


Рис. 2. Диаграммы среднеквадратического отклонения угла поворота при воздействии CuSO_4 (а) и $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (б)

Существенные отличия в поведении инфузорий наблюдаются при добавлении во взвесь раствора уксусной кислоты – сразу после смешивания с токсикантом инфузории образуют скопления (рис. 1,д), при этом разброс углов поворота сильно возрастает, а величина длины пробега уменьшается, также наблюдается увеличение средней скорости движения клеток. Характер движения сохраняется при изменении концентрации токсиканта.

Вывод: предложен новый метод контроля параметров движения инфузорий, основанный на фоторегистрации, который позволяет получать данные о характере движения инфузорий и проводить классификацию воздействующих на них токсических веществ.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Шеховцова Т.Н. Биологические методы анализа [Текст] / Т.Н. Шеховцова // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – Т. 60, № 11.
2. Грин Н. Биология [Текст]: учебник в 3-т. – Т.1. / Н. Грин, У. Стаут, Д. Тейлор / Под ред. Р. Сопера. – М.: Мир, 1996. – 368 с.
3. Фабри, К.Э. Основы зоопсихологии [Текст]: учебник / К.Э. Фабри. – М.: ПСИХОЛОГИЯ, 2001. – 464 с.
4. Гордеева Ф.В. Функциональные показатели *Paramecium caudatum* в водных экстрактах нефтезагрязненного торфа [Текст] / Ф.В. Гордеева, Л.В. Михайлова, Г.А. Петухова // Вестник Тюменского государственного университета. – Тюмень: ТГУ, 2009. – № 3. – С. 232-237.
5. Черемных Е.Г. Инфузории пробуют пищу [Текст] / Е.Г. Черемных, Е. И. Симбирева // Химия и жизнь – XXI век: ежемесячный научно-популярный журнал. – 2009. – № 1. – С. 28-31.

Ковалевская Алла Станиславовна

Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет «ЛЭТИ».
E-mail: izos@pochta.ru.
190000, г. Санкт-Петербург, н/р Мойки д. 82/11, кв. 52.
Тел.: 889213255408.

Смолова Ольга Владимировна

E-mail: odem@mail.ru.
197372, г. Санкт-Петербург, ул. Ильюшина, д1/2, кв. 43.
Тел.: 889046040497.

Kovalevskaya Alla Stanislavovna

Saint Petersburg Electrotechnical University "LETI".
E-mail: izos@pochta.ru.
82/11-52, Moyka embankment, Saint Petersburg, 190000, Russia.
Phone: +789213255408.

Smolova Olga Vladimirovna

E-mail: odem@mail.ru.

1/2-43, Plushina street, Saint Petersburg, 197372, Russia.

Phone: +78904604-0497.

УДК 544.722.132:544.165:539.196.3

С.П. Коноваленко, П.П. Исаев

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ГИДРОФОБНЫХ СВОЙСТВ БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Показано, что $\log P$ является функцией от абсолютной энтропии соединения. Установлено, что в ряду замещенных адамантана, гидрофобность имеет квадратичную зависимость от абсолютной энтропии.

Гидрофобность; липофильность; QSPR.

S.P. Konovalenko, P.P. Isaev

BIOPHARMACEUTICALS PREDICTION OF HYDROPHOBIC PROPERTIES

It is shown that $\log P$ is a function of the absolute entropy. In a series of adamantane derivatives found that hydrophobicity has a quadratic dependence on the absolute entropy.

Hydrophobicity; lipophilicity; QSPR.

К настоящему времени синтезированы десятки миллионов органических соединений различной химической структуры. Практическое применение из них находят десятки тысяч веществ. Каждое соединение имеет свои характерные физико-химические свойства. Однако далеко не для всех, из даже практически применяющихся соединений, имеются надежно определенные экспериментальные значения различных свойств. Многие экспериментальные данные разбросаны по трудно доступной литературе. Поэтому чрезвычайно важной является задача нахождения количественных корреляционных зависимостей между структурой и свойствами химических соединений – QSPR (Quantitative Structure – Property Relationship). Нахождение таких зависимостей позволит не только быстро выбрать из имеющихся соединений наиболее желательное для обеспечения рассматриваемого свойства, но и определить направления синтеза новых соединений.

Интересными объектами исследования являются производные адамантана, многие из которых обладают ярко выраженной биологической активностью. Пространственное строение, гидрофобность (липофильность) адамантана создают благоприятные условия для его транспорта через биологические мембраны. Известно, что введение адамантильного радикала в органические соединения модифицирует их биологическую активность, изменяя и часто усиливая ее. В литературе показано влияние адамантильного радикала на гипогликемическую, противоопухолевую, иммунодепрессивную, антибактериальную и прочие виды биологической активности. Производные адамантана представляют также значительный интерес в качестве моделей при решении многих вопросов технической и теоретической химии таких, например, как влияние электронной структуры и топологии молекулы на физико-химические свойства, индукционных и стерических факторов на реакционную способность и устойчивость соединений и т.д.

В теоретическом аспекте гидрофобные взаимодействия рассматривают в рамках общей проблемы влияния среды на межмолекулярные взаимодействия. Внедрение неполярной молекулы в воду невозможно без нарушения образуемой