

Заключение. Представленные результаты показали принципиальную возможность использования среды Чапека – Докса с винасфириванным жомом в качестве основного источника углерода для глубинного культивирования ксилотрофных грибов. Рассмотренные штаммы грибов являются ценным источником ферментов, используемых в пищевой и фармацевтической промышленности. Так, *Pleurotus ostreatus* используется не только как источник молокосвертывающего фермента, но и как противовоспалительный и антимикробный агент. Целлюлазы грибов рода *Trichoderma* используются в пищевой промышленности для осветления соков, а для препаратов на основе *Trametes versicolor* показана липолитическая и бета-галактозидазная активность.

1. Жерносеков, Д.Д. Применение ксилотрофных грибов рода *Pleurotus* и *Trichoderma* в современной биотехнологии / Д.Д. Жерносеков // Веснік Віцебскага дзяржаўнага ўніверсітэта. – 2022. – № 3. – С. 17–22.
2. Новицкий, Н.А. Грибы рода *Trichoderma*: глубинное культивирование, целлюлазная активность, влияние фтора / Т.Н. Лицкевич, М.П. Подковенко, Н.А. Новицкий // Природа, человек и экология : электронный сборник материалов X Республиканской научно-практической конференции молодых ученых, Брест, 30 марта 2023г. / БрГУ имени А.С. Пушкина ; редкол.: С.Э. Кароза (отв. ред.) [и др.]. – 2023. – С. 95–96.
3. Жерносеков, Д.Д. Подбор условий для поверхностного и глубинного культивирования промышленного штамма *Pleurotus ostreatus* с целью получения молокосвертывающего фермента / Д.Д. Жерносеков, Е.Е. Павлова, А.А. Литенкова [и др.] // Веснік Віцебскага дзяржаўнага ўніверсітэта. – 2023. – № 4. – С. 11–16.

ЛЕГОЧНЫЕ ПРЕСНОВОДНЫЕ МОЛЛЮСКИ КАК МОДЕЛЬНЫЕ ОРГАНИЗМЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ НАРУШЕНИЙ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ

Вишневская М.В.,

молодой ученый, ВГУ имени П.М. Машерова, г. Витебск, Республика Беларусь

Научный руководитель – Чиркин А.А., доктор биол. наук, профессор

Ключевые слова. Модельные организмы, легочные пресноводные моллюски, нарушения обмена веществ, стрептозотоксин, этанол.

Keywords. Model organisms, pulmonary freshwater mollusks, metabolic disorders, streptozotocin, ethanol.

Для моделирования в биомедицинских исследованиях обычно используют высших млекопитающих с высоким сходством их геномов с геномом человека. Но при развитии инструментов редактирования генов стволовые клетки и органоиды человека стали рассматриваться как современные системы для изучения механизмов метаболических заболеваний. В последнее десятилетие моделирование патологических процессов человека совершенствовалось благодаря технологии органоидов. Следующий уровень моделирования патологических процессов определяется культивированием клеток *in vitro*. Для этого исследуют функциональное состояние клеток с помощью омиксных наук. Таким образом, моделирование изменений метаболизма осуществляется на уровнях целого организма → изолированных органов и органоидов → клеточных культур и машинного обучения. Однако актуальным остается поиск простейших организмов, которые являясь модельными организмами, занимают промежуточное положение между млекопитающими и культурами клеток. На протяжении последнего десятилетия в нашей лаборатории проводился сравнительный анализ изменений показателей обмена веществ у двух видов легочных пресноводных моллюсков, отличающихся по типу транспорта кислорода – прудовик обыкновенный *Lymnaea stagnalis* (транспорт кислорода с помощью медь содержащего гемоцианина) и катушка роговая *Planorbis corneus* (транспорт кислорода с помощью железо содержащего гемоглобина). Легочные пресноводные моллюски имеют относительно большую продолжительность жизни, что позволяет изучать возрастные изменения обмена веществ. Существенное преимущество моллюсков перед другими модельными организмами заключается в отсутствии гисто-гематических барьеров, в частности, гематоэнцефалического, что позволяет прямо воздействовать на молекулярные мишени

при испытании новых лекарственных субстанций. Кроме того, моллюсков не касаются серьезные этические и экономические проблемы, характерные для животных моделей, которые в настоящее время наиболее часто используются при доклинических исследованиях. Отметим, что геномы ряда легочных пресноводных моллюсков секвенированы и аннотированы.

Целью работы было экспериментальное обоснование использования легочных пресноводных моллюсков для изучения нарушений обмена веществ.

Материал и методы. Эксперименты поставлены на 250 особях прудовика обыкновенного и 250 особях катушки роговой. В каждой исследовательской подгруппе было от 8 до 10 моллюсков. Моллюсков помещали на 30 мин в ванночки с растворами глюкозы 0,05%, 0,1%, 0,15%, 0,5% (8 групп), а также в ванночки с растворами этанола 0,1%, 0,5% и 5% (6 групп). Биохимические показатели оценивали через 12 и 24 часа. В 9 группах исследовали влияние вводимого в ногу раствора стрептозотоцина в дозах 35,0, 80,0 и 100 мкг/г. Биохимические показатели оценивали через 24 и 48 часов. Для изучения хронического действия этанола в эксперименте использовался легочной пресноводный моллюск прудовик обыкновенный в количестве 135 особей. Отобранных моллюсков, разделили на 3 группы по 9 моллюсков в группе: 1 группа – контроль, моллюски данной группы ничем не обрабатывались; 2 группа – моллюски, в течение 10 суток подвергались ежесуточной обработке 3% этиловым спиртом в течении 30 минут; 3 группа – моллюски, в течение 20 суток подвергались ежесуточной обработке 3% этиловым спиртом в течение 30 минут. При обсуждении результатов работы оценивали величины двух метаболических коэффициентов: Глюкоза/Общий холестерол и Глюкоза/Мочевина. Первый коэффициент демонстрирует возможную связь между циркулирующей формой солнечной энергии в виде глюкозы и конечным продуктом обмена веществ холестеролом, выделяемым из организма в виде желчных кислот через кишечник, а второй коэффициент позволяет оценить зависимость между потреблением глюкозы и конечным продуктом азотистого обмена, выделяемым с мочой.

Результаты и их обсуждение. По сравнению с прудовиками у роговых катушек обнаружено в гемолимфе более высокое содержание общего белка, мочевой кислоты и глюкозы, а также примерно одинаковое содержание мочевины и наполовину меньшее содержание холестерола. Такие биохимические показатели роговых катушек оказались более близкими к аналогичным показателям крови человека. Обнаружено полное совпадение величин мочевины, свидетельствующее о функционировании цикла мочевины в клетках гепатопанкреаса, а также всего двукратное уменьшение содержания мочевой кислоты, играющей важную роль в антиоксидантных процессах и трехкратное уменьшение содержания общего белка, характеризующего состояние обмена белков и поддержание онкотического давления.

Содержание в ванночках с глюкозой в диапазоне концентраций 0,1%-0,5% вызывало повышение уровня глюкозы в гемолимфе легочных пресноводных моллюсков. Спустя 24 часа этот эффект проявлялся при концентрации глюкозы 0,5%. Таким образом выявлен диапазон концентраций вводимой глюкозы, который проявляется гипергликемией в течение 12 часов. Этот эффект показывает степень реактивности инсулярного аппарата катушек. Уровень общего белка повышался у роговых катушек при всех концентрациях вводимой глюкозы, а у прудовиков обыкновенных увеличение общего белка было зарегистрировано только через 12 часов при концентрации глюкозы 0,5% и спустя 24 часа при концентрациях вводимой глюкозы 0,15–0,5%. Этот эффект можно связать с анаболическим действием инсулина. Уровень мочевой кислоты также повышался в гемолимфе после введения глюкозы, за исключением действия малых концентраций глюкозы (0,05%) через 12 часов у роговых катушек, а также через 24 часа у обоих видов моллюсков при концентрации глюкозы 0,05% и роговых катушек при концентрации глюкозы 0,1%. Уровень мочевины при всех вариантах введения глюкозы не изменялся у роговых катушек. У прудовиков обыкновенных содержание мочевины повышалось в гемолимфе при воздействии глюкозы с концентрацией 0,1% через 12 часов и через 24 часа. При высоких концентрациях глюкозы (0,15 и 0,5%) через 12 часов и 24 часа у прудо-

виков обыкновенных выявлено снижение концентрации мочевины. Полученные результаты показали диапазоны концентрации глюкозы, при которых на модельных организмах (катушка роговая) можно исследовать процессы мочевинообразования. У прудовиков введение глюкозы не оказало влияния на содержание холестерина в гемолимфе. При введении возрастающих доз стрептозотоцина на протяжении 48 часов увеличивалась концентрация глюкозы, мочевой кислоты, мочевины и уменьшалась концентрация общего белка в гемолимфе обоих видов моллюсков. Уровень холестерина увеличивался у прудовиков при дозах 80 мг/г и 100 мг/г через 24 и 48 часов, а у катушек этот эффект выявлен лишь при введении стрептозотоцина в дозе 100 мг/г через 24 и 48 часов. Все концентрации вводимого этанола (0,1%, 0,5% и 5%) вызвали в гемолимфе катушек повышение уровня холестерина, что, вероятно, связано с поступлением эффективного источника энергии, легко включающегося в общий путь катаболизма и способного увеличивать концентрацию холестерина. Однако введение этанола привело к повышению уровня мочевины, мочевой кислоты и глюкозы, особенно при самой высокой дозе вводимого спирта. Содержание общего белка в гемолимфе катушек изменялось разнонаправлено. В гемолимфе прудовиков обыкновенных найдены близкие изменения уровней мочевины, мочевой кислоты, общего белка и глюкозы. Основным отличием между двумя видами легочных пресноводных моллюсков в реакции на введение растворов этанола явилось отсутствие систематического повышения уровня холестерина. Возможно, это связано с тем, что у моллюска с переносчиком кислорода гемоглобином исходная концентрация холестерина почти в два раза ниже, чем у прудовиков. При хроническом введении этанола в гемолимфе у прудовиков выявлено последовательное снижение концентрации глюкозы на фоне повышения содержания общего белка, мочевой кислоты, мочевины и холестерина. Полученные результаты означают, что прудовики обыкновенные могут быть адекватной моделью для изучения алкогольной зависимости не только по реактивности нервной системы, но и по параметрам метаболизма.

Величины коэффициента Глюкоза/Общий холестерол повышались в гемолимфе обоих видов моллюсков после их содержания в 0,5% растворе глюкозы через 12 и 24 часов. Аналогичный результат был получен при введении стрептозотоцина в диапазоне доз 35-100 мг/г через 24 и 48 часов. Близкая динамика была выявлена в величинах коэффициента Глюкоза/Мочевина у обоих видов моллюсков. Содержание роговых катушек в растворах спирта в растворах 0,1% и 0,5% спирта привело через 24 часа к снижению величин коэффициента Глюкоза/общий холестерол, а содержание прудовиков в растворах спирта от 0,1% до 5% оказывало чаще обратный эффект. У обоих видов легочных пресноводных моллюсков в результате воздействия растворов спирта повышались величины коэффициента Глюкоза/Мочевина.

Заключение. Опыты с введением глюкозы и стрептозотоцина показали, что прудовики обыкновенные и катушки роговые в паре могут служить модельными организмами для оценки состояния метаболизма при физиологической стимуляции обмена веществ введением циркулирующих источников энергии (глюкозы) и нарушении регуляции инсулином обмена глюкозы при введении стрептозотоцина. Кроме того, прудовики и катушки могут рассматриваться как модельные организмы для исследования негативных эффектов этанола с использованием концентраций в диапазоне 0,1-5,0%. В Республике Беларусь легочные пресноводные моллюски широко используются для исследования различных нейробиологических проблем [1].

1. Чиркин, А.А. Использование легочных пресноводных моллюсков для изучения нарушений обмена веществ / А.А. Чиркин, П.Ю. Пинчук, М.В. Вишневская, О.М. Балаева-Тихомирова //Новости медико-биологических наук. – 2024. – №2. – С. 90-97.