

Science: discoveries and progress

Proceedings of articles the international scientific conference
Czech Republic, Karlovy Vary - Russia, Moscow, 27-28 October 2016



Science: discoveries and progress

Proceedings of articles the international scientific conference

Czech Republic, Karlovy Vary - Russia, Moscow, 27-28 October 2016

Czech Republic, Karlovy Vary - Russia, Kirov, 2016

UDC 001
BBK 72
N 76

Scientific editors:

Kafidov Valerij Viktorovich, Economy and Public Administration under the President of the Russian Federation, Honored Worker of Higher School

Tuhtieva Nargiz Hamraevna, Associate Professor, Department of General Psychology St. Petersburgsogo State University

Kelejnikova Alla Georgievna, PhD, Professor, Department of French philology and intercultural communication Pyatigorsk State University

N 76 Science: discoveries and progress: Proceedings of articles the international scientific conference. Czech Republic, Karlovy Vary - Russia, Moscow, 27-28 October 2016 [Electronic resource] / Editors prof. V.V.Kafidov, N.H.Tuhtieva, A.G.Kelejnikova. – Electron. txt. d. (1 файл 2.6 MB). – Czech Republic, Karlovy Vary: Skleněný Můstek – Russia, Kirov: MCNIP, 2016. – ISBN 978-80-7534-084-9 + ISBN 978-5-00090-108-3.

Proceedings includes materials of the international scientific conference «Science: discoveries and progress», held in Czech Republic, Karlovy Vary-Russia, Moscow, 27-28 October 2016. The main objective of the conference - the development community of scholars and practitioners in various fields of science. Conference was attended by scientists and experts from Kyrgyzstan, Russia. International scientific conference was supported by the publishing house of the International Centre of research projects.

ISBN 978-80-7534-084-9 (Skleněný Můstek, Karlovy Vary, Czech Republic)
ISBN 978-5-00090-108-3 (MCNIP LLC, Kirov, Russian Federation)

Articles are published in author's edition. Editorial opinion may not coincide with the views of the authors

Reproduction of any materials collection is carried out to resolve the editorial board

© Skleněný Můstek, 2016

© MCNIP LLC, 2016

Table of Contents

Section 1. Physics and mathematics6

Кондрашкин А.А. Построение резервных маршрутов в ориентированном невзвешенном графе 7

Section 2. Chemistry11

Курушкин М.В. Изучение влияния замещения пниктогена методом спектроскопии комбинационного рассеяния в системе AsSI-SbSI 12

Section 3. Biology17

Челомбитько М.А., Попова Е.Н., Федоров А.В., Ильинская О.П. Влияние митохондриально-направленного антиоксиданта 10-(6'-пластохинонил)децилтрифенилфосфо-ния бромида на активацию тучных клеток перитонеального экссудата мыши и базофилов крысиной лейкемии RBL-2H3 18

Section 4. Economics29

Anisimova K.V. Three Pillars of Public Finance Management: Strategic Planning, Budgeting, and Performance Measurement 30

Евсеев Е.Г., Верстина Н.Г. Методические подходы к формированию инструментов менеджмента предприятий теплоснабжения 39

Кафидов В.В. Методология оценки человеческих ресурсов 47

Гарьковенко В.Э. Организационно-экономический механизм формирования стратегии развития промышленного бизнеса в системе стейкхолдер-менеджмента 60

Ранчинская Ю.С. О некоторых особенностях налоговой системы Португалии 69

Сулима Е.П. Факторы, влияющие на рынок услуг и предпринимательство в области защиты персональных данных 77

Шидловский И.Г. Многокритериальный выбор транспортного средства с учетом рисков по критерию ожидаемой полезности	87
Шидловский И.Г. Специфика фильтрации альтернатив с помощью бинарных отношений в задачах выбора транспортного средства	95
Section 5. Philology	102
Келейникова А.Г. Концепт «загар» в итальянской языковой картине мира	103
Section 6. Pedagogy	112
Мамедова Н.А. Подходы по реализации проекта организации тьюторского сопровождения в вузе	113
Section 7. Medicine	122
Sbotov V.V. The founder of science about health.....	123
Чолокова Г.С., Мамытова А.Б. Степени активности кариеса зубов у школьников Кыргызской Республики	134
Section 8. Art Criticism	139
Стратонова Л.М., Кутлужарова Е.В. Будущее и дизайн-проект «Огуречный».....	140
Стратонова Л.М., Гиматдинова А.А. Исторический опыт создания садов, как пример рационального использования и обустройства природы.	145
Section 9. Psychology	149
Тухтиева Н.Х. Исследование эффекта установки в условиях регулярного изменения двух типов иррелевантности	150

SECTION 1.

PHYSICS AND

MATHEMATICS

ПОСТРОЕНИЕ РЕЗЕРВНЫХ МАРШРУТОВ В ОРИЕНТИРОВАННОМ НЕВЗВЕШЕННОМ ГРАФЕ

Кондрашкин А.А.

Россия, Самарский национальный исследовательский университет им.
академика С.П. Королева

Аннотация. В статье пойдёт речь о построении дополнительных рёбер в ориентированном графе, чтобы между любыми двумя вершинами существовало более одного простого пути. Также будет проведено сравнение нескольких алгоритмов реализации поставленной задачи.

Ключевые слова: Ориентированный граф, клика, компонента сильной связности, ребро, маршрут, полный граф, транзитивный граф.

Представим некую систему объектов и связей в виде ориентированного графа. Разрыв одного соединения между двумя узлами может привести к критическому сбою в работе системы. Чтобы это предотвратить можно увеличить количество связей в системе так, чтобы для любых двух узлов существовало бы более одного соединения. Тем самым мы повышаем надёжность системы в целом.

Сформулируем начальные данные и задачи.

Задача: Задан произвольный оргграф. Необходимо достроить в нём дуги таким образом, что для любых двух вершин в графе было более одного пути.

Иными словами: $\forall u, v \in V, u \neq v \exists \langle u, v \rangle_1 \& \langle u, v \rangle_2$

Достроенные дуги назовём резервными дугами, а маршрут, содержащий резервные дуги – резервным маршрутом.

Для решения поставленной задачи сформулируем и докажем два утверждения.

Утверждение 1: Если оргграф сильно связный и транзитивный, то он полный.

Сильно связный граф (сильный) – граф, для любых двух различных вершин v_1, v_2 которого существует по крайней мере один путь, соединяющий v_1 и v_2 . [1]

Транзитивный граф – граф, в котором из существования дуг (x_i, x_j) и (x_j, x_k) следует существование дуги (x_i, x_k) . [1]

Компонента сильной смежности – сильно связный подграф исходного графа. [1]

Клика – подграф исходного графа, любые две вершины которого соединены ребром.

Т.к. граф сильно связный, то $\forall u, v \in V, u \neq v \exists \langle u, v \rangle$

Т.к. граф транзитивный, то $\exists \langle u, v \rangle \rightarrow \exists (u, v)$

Объединяя эти выражения, получаем: $\forall u, v \in V, u \neq v \exists (u, v)$

Из полученного выражения следует, что граф полный. #

Утверждение 2: В полном, содержащем более двух вершин, для любых двух вершин найдётся более одного простого пути.

Простой путь – путь, в котором ни одна вершина не может появиться дважды. [2]

Рассмотрим произвольный путь с произвольным числом промежуточных вершин: $\langle u, \dots, v \rangle$. Число промежуточных вершин может изменяться от 0 до $n-2$. Порядок присутствия этих вершин в последовательности также важен. Таким образом, для доказательства утверждения необходимо использовать число размещений $A_n^k = \frac{n!}{(n-k)!}$; Найдём число размещений для каждого конкретного числа промежуточных вершин и сложим их:

$$A_{n-2}^0 + A_{n-2}^1 + \dots + A_{n-2}^{n-2} = \frac{(n-2)!}{(n-2-0)!} + \frac{(n-2)!}{(n-2-1)!} + \dots + \frac{(n-2)!}{(n-2-n+2)!} = (n-2)! \left(\frac{1}{(n-2)!} + \frac{1}{(n-1)!} + \dots + \frac{1}{0!} \right) = (n-2)! \sum_{k=0}^{n-2} \frac{1}{k!}$$

Исходя из формулы, можно сделать вывод, что при $n > 2$, количество простых путей между двумя произвольными вершинами больше одного. #

Итак, для решения поставленной задачи можно предложить следующие решения:

Решение 1: Достроить данный граф до полного.

Это самое простое решение, однако, при увеличении количества вершин исходного графа, количество достраиваемых рёбер значительно возрастает. К тому же, нам необходимо только два различных пути между вершинами, а значит некоторые достроенные рёбра могут оказаться лишними.

В общем случае количество достроенных рёбер ориентированного графа с n вершинами и q рёбрами будет $R(n, q) = n(n-1) - q$.

Решение 2: Провести транзитивное замыкание исходного графа.

После проведения такого преобразования с исходным графом мы получим граф, в котором две вершины, изначально соединённые, получают «резервный» путь. Однако при такой реализации могут оказаться ненужные рёбра, которые можно было бы не достраивать.

Решение 3: Разбиение на компоненты сильной смежности и клики.

Рассмотрим модернизированный алгоритм построения полного графа:

1. Выделить в исходном графе компоненты сильной смежности.
2. В компонентах сильной смежности произвести транзитивное замыкание, тем самым сделав этот подграф полным.
3. «Стянуть» полученные полные подграфы в новые вершины графа.
4. В новом графе найти максимальную клику по алгоритму Брона-Кербоша [3], достроить в ней недостающие до полного подграфа рёбра.
5. Повторять пункты 3 и 4, пока в графе не останется две вершины.
6. Полученный в 5 пункте граф достроить до полного.

На протяжении всего алгоритма считаются достроенные рёбра. В целях оптимизации подсчёта и сравнения полученных результатов, мною была написана программа на языке программирования C#. В ней я сравнил количество достроенных рёбер по трём методам.

Результаты представлены на рисунке 1.

К-во вершин, к-во рёбер	Создание полного графа на исходном	Создание транзитивного графа на исходном	Рассматриваемый алгоритм
3, 3	3 00.001	3 00.002	3 00.006
4, 5	7 00.007	4 00.007	4 00.016
5, 7	13 00.017	7 00.017	4 00.018
5, 5	15 00.018	2 00.019	5 00.019
5, 7	13 00.020	5 00.020	3 00.021
6, 10	20 00.021	11 00.022	7 00.022
13, 24	132 00.022	52 00.024	17 00.024
22, 176	286 00.025	53 00.026	91 00.106
44, 684	1208 00.106	320 00.108	251 03.761

Рисунок 1. Сравнительная таблица

Вывод

Таким образом, сравнивая три предложенных решения по количеству построенных рёбер, можно сделать вывод, что в большинстве случаев предложенный алгоритм даёт выигрыш в количестве рёбер, а время, затраченное на выполнение, увеличивается незначительно.

Список литературы:

1. Кристофидес Н. «Теория графов. Алгоритмический подход» – Москва: изд-во «Мир», 1978.
2. Карпов Д.В. «Теория графов».
3. Шапоров С.Д. «Дискретная математика» - Санкт-Петербург, Министерство образования и науки Российской Федерации Балтийский государственный технический университет «Военмех», 2004.

SECTION 2.

CHEMISTRY

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЗАМЕЩЕНИЯ ПНИКТОГЕНА МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ В СИСТЕМЕ AsSI-SbSI

Курушкин М.В.

Россия, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого

Аннотация. В работе исследовано влияние замещения мышьяка на сурьму на строение ближнего порядка в халькогенидной системе по разрезу AsSI-SbSI методом спектроскопии комбинационного рассеяния.

Ключевые слова: Спектроскопия комбинационного рассеяния, строение ближнего порядка, пниктоген, галоген.

Введение

В настоящее время для создания оптических приборов, работающих в ближнем ИК диапазоне, требуются неорганические стеклообразные материалы, обладающие высоким показателем преломления и широким диапазоном пропускания. Этим требованиям удовлетворяют стеклообразные материалы на основе сульфида мышьяка, допированные галогенами и пниктогенами. Изучение взаимосвязи между составом, строением и свойствами стеклообразных неорганических веществ на основе сульфида мышьяка, допированных галогенами и пниктогенами, является актуальной задачей неорганической химии.

Экспериментальные данные

Для определения строения ближнего порядка в стеклах системы AsSI-SbSI (составы и их маркировка приведены в таблице 1) записаны спектры комбинационного рассеяния (КР), приведенные на Рисунке 1.

Таблица 1 – Экспериментальные составы в системе $(100-x)\text{AsSI}-x\text{SbSI}$

$(100-x)\text{AsSI}-x\text{SbSI}$	$\text{As}_{(33-y)}\text{Sb}_y\text{S}_{33}\text{I}_{33}$	Маркировка	As:Sb
AsSI	$\text{As}_{33}\text{S}_{33}\text{I}_{33}$	AsSI	—
90.9AsSI-9.1SbSI	$\text{As}_{30.3}\text{Sb}_{3.0}\text{S}_{33}\text{I}_{33}$	Sb-3	10:1
87.5AsSI-12.5SbSI	$\text{As}_{29.2}\text{Sb}_{4.2}\text{S}_{33}\text{I}_{33}$	Sb-4	7:1
75.0AsSI-25.0SbSI	$\text{As}_{25.0}\text{Sb}_{8.3}\text{S}_{33}\text{I}_{33}$	Sb-8	3:1
66.7AsSI-33.3SbSI	$\text{As}_{22.2}\text{Sb}_{11.1}\text{S}_{33}\text{I}_{33}$	Sb-11	2:1
62.5AsSI-37.5SbSI	$\text{As}_{20.8}\text{Sb}_{12.5}\text{S}_{33}\text{I}_{33}$	Sb-13	$\approx 1.7:1$
50.0AsSI-50.0SbSI	$\text{As}_{16.7}\text{Sb}_{16.7}\text{S}_{33}\text{I}_{33}$	Sb-17	1:1
SbSI	$\text{Sb}_{33}\text{S}_{33}\text{I}_{33}$	SbSI	—

Широкая полоса при $349 - 355 \text{ см}^{-1}$ на спектрах AsSI и Sb-3 - Sb-11 отвечает симметричным валентным колебаниям связей As-S в пирамидах AsS_3 [1 - 3]. Интенсивность данной полосы снижается с увеличением содержания сурьмы. Плечо около $316 - 320 \text{ см}^{-1}$ обусловлено изгибными колебаниями мостиков As-S-As, связывающих пирамиды AsS_3 [4].

Полоса при 205 см^{-1} на спектре AsSI отвечает валентным колебаниям связей As-I в пирамидальных молекулах AsI_3 в матрице стекла [5 - 6]. Эта полоса также присутствует на спектрах Sb-3, Sb-4 и Sb-8 с небольшим смещением в сторону высоких частот ($208 - 214 \text{ см}^{-1}$) и снижением интенсивности. На спектре Sb-11 эта полоса практически отсутствует. На спектре Sb-3 возникает новая полоса при 179 см^{-1} , также присутствующая на спектрах Sb-4, Sb-8 и Sb-11 со смещением в сторону низких частот и повышением интенсивности. Новая полоса отвечает колебаниям Sb-I в молекулах SbI_3 [7].

Спектры Sb-13 и Sb-17 отличаются от спектров стекол с меньшим содержанием сурьмы по причине частичной кристаллизации образцов. При переходе через соотношение $\text{As:Sb} = 2:1$, полосы на спектре становятся более резкими, что говорит о присутствии кристаллической фазы. Слабые полосы при 292 и 369 см^{-1} на спектре Sb-13 относятся к колебаниям связей Sb-S в пирамидах SbS_3 в кристаллическом Sb_2S_3 [1], как и слабая полоса при 369 см^{-1} на спектре Sb-17.

Полосы при $321 - 326 \text{ см}^{-1}$ относятся к колебаниям связей Sb-S-I в пирамидах SbS_2I в кристаллическом SbSI [2], как и полосы при 120 и 145 см^{-1} , возникающие впервые на спектре Sb-13 и становящиеся более выраженными с увеличением содержания сурьмы (118 и 142 см^{-1} на

спектре Sb-17, 109 и 140 см^{-1} на спектре SbSI) [1 - 2]. Слабая полоса при 135 см^{-1} на спектре Sb-11 также подтверждает начало кристаллизации SbSI.

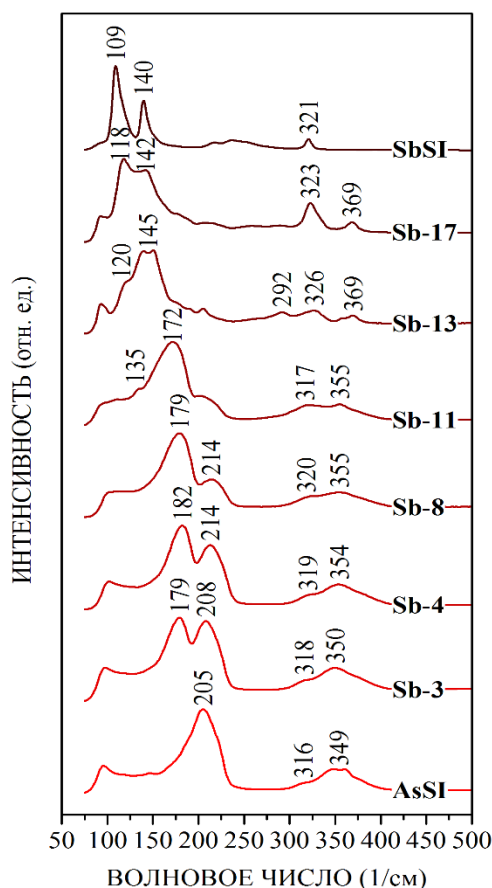


Рисунок 1. Колебательные спектры стекол в системе AsSI-SbSI

Обсуждение

На основании исследования специфики перестройки колебательных спектров при замещении мышьяка на сурьму предложена модель строения ближнего порядка в стекле As(Sb)SI (Рисунок 2), а именно по разрезу As_2S_3 - $\text{As}(\text{Sb})\text{I}_3$. Серые кружочки обозначают сурьму. Предложенная модель строения ближнего порядка описывает любое стекло в системе AsSI-SbSI вплоть до состава 66.7AsSI-33.3SbSI, то есть до соотношения As:Sb = 2:1 включительно. Данная модель подчеркивает, что при первоначальном введении сурьмы вместо мышьяка сурьма замещает мышьяк в молекулах AsI_3 вплоть до их насыщения сурьмой.

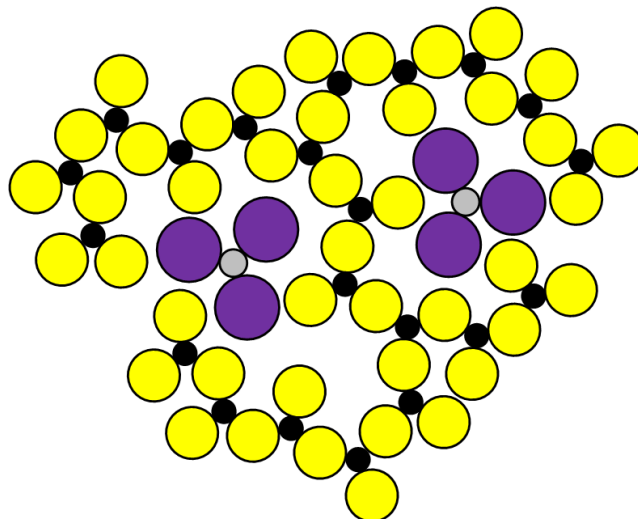


Рисунок 2. Модель строения ближнего порядка по разрезу $\text{As}_2\text{S}_3\text{-As(Sb)I}_3$

Введение сурьмы после насыщения молекул приводит к замещению мышьяка на сурьму уже в полимерной сетке -S-As-S- , то есть в каркасе стеклообразного материала. При этом целостность полимерной сетки начинает нарушаться, и происходит образование структурных единиц SbS_2I , что приводит в дальнейшем к кристаллизации фазы SbSI по всему объему материала.

Заключение

Показано, что введение в халькогенидное стекло состава AsSI сурьмы вместо мышьяка не приводит к разрушению полимерной сетки за счет замещения атомов мышьяка атомами сурьмы молекулах AsI_3 вплоть до соотношения $\text{As:Sb} = 2:1$, когда молекулы полностью насыщены сурьмой. При дальнейшем уменьшении доли мышьяка относительно сурьмы происходит разрушение полимерной сетки с образованием структурных единиц SbS_2I , являющихся центрами для последующей кристаллизации фазы SbSI .

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-33- 00647 мол_а.

Список литературы:

1. Azhniuk Yu.M., Bhandiwad P., Rubish V.M., Guranich P.P., Guranich O.G., Gomonnai A.V., Zahn D.R.T. Photoinduced changes in the structure of As₂S₃-based SbSI nanocrystal-containing composites studied by Raman spectroscopy // *Ferroelectrics*, 2011, Vol. 416, pp. 113-118.
2. Azhniuk Yu.M., Villabona A., Gomonnai A.V., Rubish V.M., Marjan V.M., Gomonnai O.O, Zahn D.R.T. Raman and AFM studies of (As₂S₃)_{0.45}(SbSI)_{0.55} thin films and bulk glass // *Journal of Non-Crystalline Solids*, 2014, Vol. 396-397, pp. 36-40.
3. Azhniuk Yu.M., Stoyka V., Petryshynets I., Rubish V.M., Guranich O.G., Gomonnai A.V., Zahn D.R.T. SbSI nanocrystal formation in As-Sb-S-I glass under laser beam // *Materials Research Bulletin*, 2012, Vol. 47, pp. 1520-1522.
4. Kaynts D.I. Shpak A.P., Rubish V.M., Mykaylo O.A. , Guranich O.G., Shtets P.P. Guranich P.P. Formation of Ferroelectric Nanostructures in (As₂S₃)_{100-x}(SbSI)_x Glassy Matrix // *Ferroelectrics*, 2008, Vol. 371, pp. 28-33, 2008
5. Koudelka L., Pisárčik M., Raman spectra and structure of As_{40-x}S₆₀I_x glasses // *Solid State Communications*, 1982, Vol. 41, No. 1, pp. 115-117.
6. Koudelka L., Pisárčik M. Raman spectra and structure of AsSI system glasses // *Journal of Non-Crystalline Solids*, 1984, Vol. 64, pp. 87-94.
7. Svechnikov G.S. Valakh M.Ya., Pinzenik V.P. Raman scattering spectra and structural properties of the chalcogenide glasses Sb_xAs_{1-x}SI // *Journal of Applied Spectroscopy*, May 1982, Vol. 36, No. 5, pp. 566-569.

SECTION 3.

BIOLOGY

ВЛИЯНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНО- НАПРАВЛЕННОГО АНТИОКСИДАНТА 10-(6'- ПЛАСТОХИНОНИЛ)ДЕЦИЛТРИФЕНИЛФОСФО- НИЯ БРОМИДА НА АКТИВАЦИЮ ТУЧНЫХ КЛЕТОК ПЕРИТОНЕАЛЬНОГО ЭКССУДАТА МЫШИ И БАЗОФИЛОВ КРЫСИНОЙ ЛЕЙКЕМИИ RBL-2H3

ЧЕЛОМБИТЬКО М.А.¹, ПОПОВА Е.Н.², ФЕДОРОВ А.В.¹, ИЛЬИНСКАЯ О.П.¹

¹Россия, МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. М.В. ЛОМОНОСОВА

²Россия, МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. М.В. ЛОМОНОСОВА,
ИНСТИТУТ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ ИМ. А.Н. БЕЛОЗЕРСКОГО

Аннотация. Известно, что тканевые базофилы или тучные клетки (ТК) не только участвуют в запуске воспалительного ответа, но и в значительной мере регулируют этот процесс. Высвобождение медиаторов воспаления в ходе дегрануляции ТК после их активации, как химическими агентами, так и физиологическими стимулами, сопровождается генерацией активных форм кислорода (АФК). Однако данные об источниках АФК и их роли во внутриклеточном сигналинге ТК противоречивы. Известно, что одним из таких источников в клетках служат митохондрии. Для изучения роли митохондриальных АФК (мтАФК) во внутриклеточном сигналинге используют митохондриально-направленные антиоксиданты, присоединенные углеводородной цепью к липофильному катиону, за счет которого происходит их аккумуляция в митохондриях. В настоящей работе проведено исследование влияния митохондриально-направленного антиоксиданта 10-(6'-пластохинонил)децилтрифенилфосфония бромида (SkQ1) как *in vivo* – на ТК

перитонеального экссудата мышей линии BALB/c, так и *in vitro* – на базофилы крысиной лейкемии RBL-2H3. Показано, что ингибирование продукции мТАФК с помощью SkQ1 оказывает воздействие на перитонеальные ТК при интраперитонеальном его введении мышам, вызывая снижение величины популяции ТК и содержания внутриклеточного гистамина в них. На модели *in vitro* было продемонстрировано достоверное уменьшение уровня индуцированной дегрануляции базофилов линии RBL-2H3 под действием SkQ1. Сделано предположение, что этот антиоксидант может снижать уровень выброса медиаторов воспаления, в том числе важнейшего из них – гистамина, обеспечивающего повышение проницаемости сосудистой стенки в начальной фазе острого воспаления.

Ключевые слова: тучная клетка, дегрануляция, воспаление, АФК, митохондриально-направленный антиоксидант 10-(6'-пластохинонил) децилтрифенилфосфония бромида.

Введение

ТК (тканевые базофилы, мастоциты, лаброциты) – это многофункциональная клеточная популяция, участвующая в обеспечении местного гомеостаза соединительной ткани, поддержании отдельных параметров функциональных систем организма (регуляция свертываемости крови, проницаемости гематотканного барьера, и др.), защитных реакциях врожденного и адаптивного иммунитета (воспаление, защита от микроорганизмов, многоклеточных паразитов, иммуногенез) [1, 2, 3]. Своими свойствами они обязаны наличию широкого спектра биологически активных веществ, заключенных в специфические гранулы, которые высвобождаются из ТК в процессе дегрануляции после получения клеткой активационных сигналов. Благодаря выделяемым из гранул медиаторам воспаления, ТК является одним из ключевых инициаторов и регуляторов воспалительного процесса. Результаты многочисленных исследований показывают, что дегрануляция ТК, вызванная как химическими, так и физиологическими стимулами, сопровождается генерацией активных форм кислорода (АФК). Существует несколько источников АФК в клетке, такие как электрон-транспортная цепь митохондрий, матриксные дегидрогеназы, белок межмембранного пространства р66shc и моноаминооксидазы внешней мембраны митохондрий, ксантиноксидаза, циклооксигеназы,

миелопероксидаза, NADPH-оксидазы (NOX-ферменты), цитохром P450, липоксигеназы. Однако имеющиеся на сегодняшний день сведения об источниках АФК и их роли в активации ТК весьма противоречивы. Можно выделить несколько потенциальных белков-мишеней для АФК, участвующих в сигнальных путях активации ТК. В первую очередь, это белки, участвующие в регуляции активности Ca^{2+} -каналов, поскольку ионы кальция опосредуют процесс дегрануляции ТК. В этом случае мтАФК могут играть важную роль в мобилизации Ca^{2+} из депо. Показано также, что редокс-чувствительными являются белки, участвующие в запуске и регуляции FcεRI-сигнального каскада – наиболее хорошо изученного и, по-видимому, ключевого для запуска дегрануляции; к ним относятся: протеинкиназа C (PKC), фосфолипаза C γ (PLC γ), адапторный белок LAT, фосфатазы SHP1, SHP2 и PTEN и др. Исходя из сказанного, можно предположить, что немаловажную роль в активации ТК могут играть именно мтАФК [4]. Для изучения роли мтАФК в физиологических и патологических условиях используют митохондриально-направленные соединения, состоящие из молекулы антиоксиданта, присоединенной углеводородной цепью к липофильному катиону, за счет которого происходит их аккумуляция в митохондриях. Одним из соединений такого рода является 10-(6'-пластохинонил)децилтрифенилфосфония бромид (SkQ1) [5]. Целью настоящей работы явилось изучение влияния митохондриально-направленного антиоксиданта SkQ1 на активацию ТК перитонеального экссудата мышей линии BALB/c и базофилы крысиной лейкемии RBL-2H3 под действием индукторов дегрануляции.

Материалы и методы

Митохондриально - направленный антиоксидант 10-(6'-пластохинонил)децилтрифенилфосфония бромид (SkQ1), использованный в работе, был любезно предоставлен НИИ Митоинженерии МГУ.

Первая часть работы выполнена на клетках перитонеального экссудата мышей, в состав которого наряду с лейкоцитами (лимфоциты, моноциты/макрофаги, нейтрофилы) входят ТК. Животные (самцы мышей линии BALB/c, n = 30, возраст 15 недель), были любезно предоставлены

сотрудниками виварно-экспериментального комплекса НИИ Митоинженерии МГУ. Все процедуры с животными проводили в соответствии с директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях (FELASA).

В течение 3-х сут до выделения клеток перитонеального экссудата мыши опытной группы ($n = 15$) получали путем интраперитонеальных инъекций SkQ1 в физрастворе в дозе 250 нмоль/кг (5 раз с интервалом 12 часов), а животные контрольной группы ($n = 15$) – физраствор, не содержащий антиоксиданта.

Выделение клеток перитонеального экссудата

После эвтаназии мышам вводили интраперитонеально 5 мл ФСБ с 5,4 мМ ЭДТА. После массажа брюшной стенки ее надрезали и собирали перитонеальный экссудат в пробирки на льду. Предварительно отобрав по 20 мкл суспензии для подсчета клеток в камере Горяева, а также для изготовления мазков для определения числа ТК, клетки осаждали центрифугированием.

Определение числа ТК в перитонеальном экссудате проводили на мазках после фиксации 1% формалином и окрашивания толудиновым синим. ТК определяли по наличию специфических метакроматически окрашенных гранул (рис. 1Б). Вычисляли процент ТК среди всех клеток экссудата.

Определение содержания гистамина в лизате перитонеальных клеток проводили с помощью реакции с ортофталевым альдегидом [6]. Для этого после центрифугирования клетки лизировали путем добавления 1 мл 0,1% раствора Triton на сбалансированном буфере и инкубировали 15 мин при 37°C. Далее пробы центрифугировали с ускорением 1680g в течение 5 мин при +4°C. Из каждой пробы отбирали по 100 мкл в 96-и луночный плайт, добавляли по 20 мкл 1н раствора NaOH, а затем 5 мкл 1% раствора ортофталевого альдегида. Образовавшийся флуорофор стабилизировали подкислением раствора. Для этого через 4 мин добавляли 10 мкл 3н раствора HCl. После добавления каждого реактива смесь тщательно

перемешивали. При построении калибровочной кривой для определения гистамина готовили серийные двукратные разведения гистамина от 500,00 до 1,95 нг/мл. Стандартные растворы готовили на 0,1% растворе Triton в сбалансированном буфере. Флуоресценцию измеряли на спектрофлуориметре Thermo Fluoroscan Ascent при 460 нм (длина волны возбуждения 355 нм).

Вторая часть работы была выполнена на клетках линии RBL-2H3 (любезно предоставлены старшим научным сотрудником кафедры физиологии человека и животных Биологического факультета МГУ Горбачевой Л.Р.). Данная коммерческая линия клеток, полученная из периферической крови крыс Вистар с химически индуцированной базофильной лейкемией, широко используется в качестве экспериментальной модели для изучения механизмов активации и дегрануляции ТК и базофилов [7].

Культивирование клеток линии RBL-2H3 и активацию проводили в культуральных матрасах (площадь дна 25 см²) на среде α -MEM, содержащей 0,5мМ L-глутамина, 10% инактивированной эмбриональной бычьей сыворотки (HI-FBS) (ПанЭко, Россия) и 100 U/mL пенициллина/стрептомицина (Gibco, США). Клетки пассировали раз в три дня с кратностью посева 1:4 – 1:8. Для экспериментов клетки пересаживали на 48-луночные плайты. После прикрепления клеток к пластику в среду культивирования добавляли раствор SkQ1 в конечных концентрациях 0,2, 2,0 и 200,0 нМ. Инкубирование с SkQ1 проводили в течение 3 дней. Клетки росли в инкубаторе при 37°C и 5% CO₂. За 24 часа перед экспериментом среду культивирования заменяли на бессывороточную. Активацию процесса дегрануляции вызывали двумя разными способами, добавляя в среду культивирования активирующие агенты на 24 часа: 1) 50 нг форболового эфира (PMA); 2) смесь, содержащую 50 нМ PMA и 1 мкМ кальциевого ионофора A23187.

Оценка уровня дегрануляции активированных клеток линии RBL-2H3 была проведена путем выявления активности β -гексозаминидазы [8], которую измеряли в кондиционированной среде и лизате клеток по высвобождению p-нитрофенола из 4-нитрофенил-N-ацетил- β -D-

глюкозаминида (субстрат). Через 24 часа от начала активации процесса дегрануляции проводили забор среды культивирования, который помещали в микропробирки на льду. Клетки лизировали путем добавления равного по объему количества 0,1% раствора Triton на среде без сыворотки и инкубировали 15 мин при 37°C. Кондиционированную среду собирали в микропробирки на льду и центрифугировали в течение 5 мин с ускорением 1680g при +4°C. Супернатант вновь собирали в микропробирки на льду и проводили определение содержания β -гексозаминидазы во всех пробах. Для этого в 96-луночный планшет раскапывали полученные пробы по 50 мкл, затем добавляли по 50 мкл 4 мМ раствора субстрата на 0,04 М цитратном буфере (pH 4,5) и инкубировали 2 часа при 37°C. Реакцию останавливали добавлением 100 мкМ 0,2М глицин-NaOH буфера (pH 0,7). Светопоглощение готовых проб измеряли на спектрофотометре iMARK Microplate Reader при длине волны 410 нм. Относительное содержание (%) β -гексозаминидазы в пробе определяли по формуле $A / (A + B) \times 100\%$, где А – оптическая плотность кондиционированной среды, В – оптическая плотность лизата клеток.

Статистическая обработка результатов была проведена с помощью программы STATISTICA 7.0. Для оценки статистической значимости отличий был применен двусторонний непараметрический критерий Манна-Уитни. Статистически значимыми считали отличия при $p < 0,05$, тенденциями считали отличия при $p < 0,1$.

Результаты и обсуждение

Результаты эксперимента, проведенного на мышах, показали, что общая численность клеток в перитонеальном экссудате опытных мышей, получавших SkQ1 интраперитонеально, по сравнению с контрольными, получавшими физраствор, достоверно не различалась (рис. 1А). Однако, процентная доля ТК в составе общей популяции клеток экссудата, определенная по подсчетам на мазках после окраски толуидиновым синим (рис. 1Б), была в 2 раза ниже у мышей опытной группы (рис. 1В). Этот факт вполне согласуется с тем, что содержание гистамина в лизатах перитонеальных клеток также было в 3,2 раза ниже у опытных мышей (рис.