

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КАТАЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ
ВЫСОКООЧИЩЕННОЙ БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ ЧЕЛОВЕКА
В НАТИВНОЙ И КОНЪЮГИРОВАННОЙ С НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА ФОРМАХ
В ОПЫТАХ *IN VIVO***

**О. И. Соколов¹, Н. Ю. Селиванов¹, О. Г. Селиванова¹, Ю. И. Великородная²,
Л. А. Дыкман¹, В. А. Богатырев¹, А. Я. Почепцов², Б. Н. Филатов²**

¹ГБУН «Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН», г. Саратов,

²ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии»
ФМБА России, г. Волгоград

В работе представлен сравнительный анализ влияния двух форм высокоочищенной бутирилхолинэстеразы: нативной и конъюгированной с наночастицами золота на динамику активности холинэстераз в плазме крови и органах-мишенях. Результаты эксперимента показали, что пик активности холинэстераз наблюдался через 24 часа после введения нативной формы бутирилхолинэстеразы. Конъюгированная форма бутирилхолинэстеразы демонстрировала небольшое, но стабильное увеличение уровня холинэстераз на протяжении более длительного времени (до 3 суток).

Ключевые слова: бутирилхолинэстераза, ацетилхолинэстераза, наночастицы золота, конъюгация, активность.

DOI 10.19163/1994-9480-2017-4(64)-90-95

**COMPARATIVE ANALYSIS OF THE CATALYTIC ACTIVITY OF HIGHLY PURIFIED
HUMAN BUTYRYLCHOLINESTERASE IN NATIVE AND CONJUGATED GOLD
NANOPARTICLES *IN VIVO***

**O. I. Sokolov¹, N. Y. Selivanov¹, O. G. Selivanova¹, Yu. I. Velikorodnaya²,
L. A. Dykman¹, V. A. Bogatyrev¹, A. Ya. Pochepsov², B. N. Filatov²**

¹*Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms
of the Russian Academy of Sciences, Saratov,*

²*Scientific Research Institute of Hygiene, Toxicology and Occupational Pathology of the FMBA, Volgograd*

The paper presents a comparative analysis of the effect of two forms of highly purified butyrylcholinesterase: native and conjugated with gold nanoparticles on the dynamics of cholinesterase activity in blood plasma and target organs. The results of the experiment showed that the peak of cholinesterase activity was observed 24 hours after administration of the native butyrylcholinesterase. The conjugated form of butyrylcholinesterase showed a small but stable increase in the cholinesterase level over a longer time (up to 3 days).

Key words: butyrylcholinesterase, acetylcholinesterase, gold nanoparticles, conjugation, activity.

Создание биоконъюгатов на основе наночастиц – это развивающаяся область биомедицины, основанная на открытии способности золотых наночастиц связываться с различными лигандами и, в первую очередь, с серосодержащими белками. Показано, что ферменты, иммобилизованные на золотых наночастицах, сохраняют или даже увеличивают свою биокаталитическую активность [3].

Бутирилхолинэстераза (БХЭ) – фермент, имеющий не только важное диагностическое значение при оценке воздействия нейротоксикантов. Она также рассматривается в качестве перспективного профилактического средства при экспозиции высокотоксичными фосфорорганическими соединениями. Введение нативной формы БХЭ лимитируется ее быстрой деградацией и выведением из организма. В то же время рекомбинантные формы БХЭ, полученные с помощью культур клеток, зачастую не обладают необходимыми фармакологическими характеристиками, а дополнительная модификация молекул требует дополнительных усилий и материальных затрат.

Ранее было показано, что БХЭ, конъюгированная с наночастицами золота (НЧЗ), обладает повышенной каталитической активностью *in vitro* [2].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Сравнительный анализ каталитической активности нативной высокоочищенной бутирилхолинэстеразы (воБХЭ) человека, а также ее комплекса с наночастицами золота в опытах *in vivo*.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Получение нативной и конъюгированной с наночастицами золота форм высокоочищенной бутирилхолинэстеразы из плазмы крови человека

Как известно, одним из основных условий для получения высокоэффективных наноконплексов является использование препаратов фермента, характеризующихся высокой удельной активностью и отсутствием или низким содержанием балластных белков и полипептидов. В качестве источника для выделения

фермента использовали замороженную плазму человека. Плазму размораживали на водяной бане при 25 °С и активность фермента определяли с использованием набора реактивов «Холинэстераза Ново» (Вектор БЕСТ кат. № В-8077), согласно инструкции производителя.

Принцип получения конъюгата БХЭ с наночастицами золота был задекларирован в предыдущей работе [2]. Основные этапы этого процесса заключались в следующем:

1. *Осаждение суммы белков* из донорской плазмы через поэтапное высаливание сульфатом аммония с последующим диализом в калий-ацетатном буфере с pH = 4,5.

2. *Фракционирование бутирилхолинэстеразы методом препаративной анионной хроматографии* с использованием сорбента Toyopearl Giga-CapQ-650M с диаметром частиц 50–100 мкм (TosoHaas Co, США). Все операции выполняли на ВЭЖХ-системе SmartLine 2000 (Knauer, ФРГ).

3. *Биоспецифическая очистка препарата бутирилхолинэстеразы с использованием аффинной хроматографии*. В качестве аффинного сорбента использовали прокаинамид (p-amino-N-(2-diethylaminoethyl)-benzamide), ковалентно связанный с 6-аминогексан Sepharose 4 FastFlow.

4. *Очистка препарата бутирилхолинэстеразы на анионообменной ВЭЖХ колонке TSKBioAssitQ*, 5 × 50 мм с диаметром частиц – 7 мкм (TosoHaas Co, США).

5. *Определение содержания белка и активности БХЭ* в полученных образцах, проведение электрофоретического анализа полипептидного состава. На этом этапе полученная нативная форма во БХЭ дисперсировалась на аликвоты и замораживалась при -20 °С.

6. *Синтез наночастиц золота* методом цитратного восстановления золотохлористоводородной кислоты (HAuCl₄) [4]. Диаметр синтезированных наночастиц определяли с использованием UV-Vis спектрофотометра Specord S250 (Analytik Jena, ФРГ), трансмиссионного электронного микроскопа Libra 120 (Carl Zeiss, ФРГ) и анализатора размера частиц Zetasizer Nano-ZS (Malvern, Великобритания) какописанов [5].

7. *Конъюгация наночастиц золота с бутирилхолинэстеразой* проводилась смешением на магнитной мешалке во БХЭ (в количестве, соответствующим золотому числу – 12 мкг/мл) и золя золота с оптимальным значением pH = 7,8.

Изучение активности нативной формы и конъюгатов высокоочищенной бутирилхолинэстеразы с наночастицами золота в опытах *in vivo* в динамике

Изучение влияния нативной и связанной с наночастицами золота во БХЭ на активность эндогенных эстераз – ацетилхолинэстеразы (АХЭ) и БХЭ – проводили на гибридных мышах весом 25–30 г. При постановке экспериментов руководствовались требованиями Европейской конвенции по защите экспериментальных животных. Мышей содержали в клетках в поме-

щениях с искусственным освещением (8.00–20.00 ч. – свет, 20.00–8.00 ч. – темнота) при 20–22 °С в условиях свободного доступа к воде и пище.

Каждая группа состояла из 6 особей. Мышам вводили нативную и конъюгированную с НЧЗ во БХЭ внутривенно в объеме 1 мл на особь. Животных выводили из эксперимента через 6 часов, 1, 3, 7 и 10 суток. Контрольной группе вводили 1 мл фосфатно-солевого буфера, а дополнительной референтной группе – 1 мл 15 нм коллоидного золота.

По окончании эксперимента животных контрольных и подопытных групп наркотизировали диэтиловым эфиром, отбирали кровь из подъязычной вены и декапировали. Сразу после декапитации производили забор тканей и органов.

Биохимическое исследование

Материалом биохимического исследования служила плазма крови экспериментальных животных. Кровь из подъязычной вены контрольных и подопытных животных в объеме 1 мл и помещали в вакуумные пробирки, обработанные ЭДТА, центрифугировали при 5000 об./мин в течение 20 мин и полученную плазму переливали в пробирки Эппендорф. Исследование активности холинэстераз (ХЭ) проводили в течение 24 часов после забора крови с использованием набора Холинэстераза LIQUID 120 (Erba Lachema). Биохимическая реакция для каждого отдельного случая ставилась в трехкратных повторах, затем определялось среднее значение, которое и использовалось для статистических расчетов.

Гистохимическое исследование

Материалом для гистохимического исследования служили образцы медианной доли печени, миокарда и тканей головного мозга.

Головной мозг препарировали и выделяли следующие образцы ткани:

- головной мозг на уровне 4,5 мм от Bregma (вертикальный разрез, проходящий через перекрест зрительного нерва);
- продолговатый мозг на уровне 10 мм от Bregma.

Образцы тканей подопытных и контрольных животных, предназначенные для гистохимического исследования, помещали на один блок, замораживали при температуре -18–20 °С и резали в криостате. Полученные срезы монтировали на одно предметное стекло и инкубировали. Таким образом, получали препараты, которые были одинаковыми по толщине. Инкубацию срезов проводили в одной инкубационной среде, что делало полученный материал пригодным для количественной оценки. АХЭ и БХЭ в тканях и органах определяли по методу Карновского [1]. Субстратом гистохимической реакции для выявления АХЭ служил ацетилтиохолинйодид, а для БХЭ – бутирилтиохолинйодид, которые при гидролитическом расщеплении соответствующими холинэстеразами образуют тиохоллин, восстанавливающий феррицианид до ферроцианида с последующим образованием его медной соли.

Морфометрия и статистическая обработка

Полученные препараты изучали и фотографировали с помощью микроскопа Axio Scope A1 (Zeiss), оборудованной цифровой камерой Axio Cam MRC5, и обрабатывали в программе ZENpro 2011 (Zeiss). Активность гистохимических реакций определялась в основных единицах как $\text{Log}_{10}(F_{in}/F_{out})$ в 3–4 полях зрения с общим увеличением $\times 50$ или $\times 100$. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы Excel-2013 (MS) и Statistica 10. Для полученных данных рассчитывались параметры среднего арифметического значения и среднеквадратичного отклонения. Сравнение между контрольной и экспериментальной группами проводили с помощью непараметрического анализа с использованием критерия Манна-Уитни. Статистически достоверными считались результаты при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Характеристика нативной формы высокоочищенной бутирилхолинэстеразы человека и ее конъюгатов с золотыми наночастицами

Модернизация метода выделения и очистки БХЭ позволила получить высококачественный препарат фермента с минимальным содержанием балластных веществ. В результате чего был получен препарат, обладающий высокой удельной активностью.

Максимум спектра поглощения полученного коллоидного золота составил $\lambda_{max} = 519,1$ нм, при этом оптическая плотность была $A_{520} = 1,2$. По данным электронной микроскопии и метода динамического светорассеяния средний диаметр полученных наночастиц составил 15,7 нм. Количество частиц в 1 мл при $A_{520} = 1$ находилось в пределах $1,6 \times 10^{12}$ (табл. 1).

Важно отметить, что выявленный уровень активности полученных образцов находился в нормальном физиологическом диапазоне активности фермента в плазме человека, а наиболее значимым результатом эксперимента оказалось увеличение на 23 % удельной активности фермента в форме конъюгата с наночастицами золота.

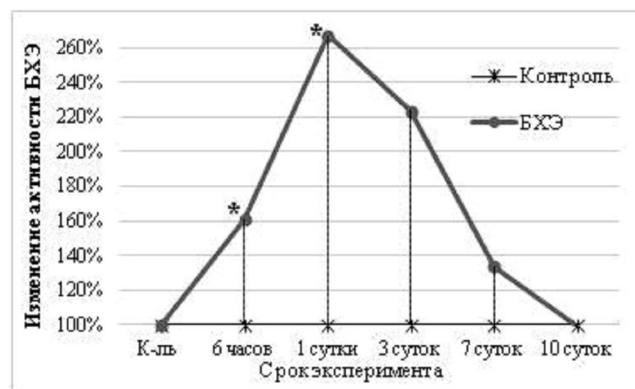
Нативная форма воБХЭ до начала эксперимента *in vivo* хранилась в замороженном виде при -20°C

в виде аликвот объемом 1 мл, конъюгаты воБХЭ с КЗ – в плотно закупоренной таре при $+4^\circ\text{C}$. Определение каталитической активности препаратов воБХЭ перед постановкой опытов показало, что если нативная форма при размораживании теряла не более 10% от первоначальных показателей, то каталитическая активность конъюгированной формы значительно снижалась и составляла менее 1 Е/мл.

Таким образом, активность нативной формы воБХЭ, задействованной в опытах, находилась в пределах 3 Е/мл, а конъюгатов – 0,5 Е/мл.

Результаты биохимического и гистохимического исследования влияния нативной формы высокоочищенной бутирилхолинэстеразы на эндогенные холинэстеразы

Изучение ХЭ в плазме крови после введения нативной воБХЭ в динамику показало, что кривая изменения активности ХЭ имела вид изломанной синусоиды: резко увеличиваясь через 6 часов (в 2 раза), достигала своего максимума через 1 сутки (в 2,5 раза). В более поздние сроки эксперимента, постепенно снижаясь, ХЭ плазмы крови к 14 суткам возвращалась к контрольным значениям (рис. 1).



*Обозначены достоверные изменения по сравнению с контролем.

Рис. 1. Динамическое изменение активности ХЭ в плазме крови подопытных животных после введения нативной формы воБХЭ человека

Гистохимическое изучение активности БХЭ в исследуемых органах и тканях в ранние сроки экспери-

Таблица 1

Сравнительная характеристика параметров БХЭ в свободном и связанном виде

Образцы	Каталитическая активность, Е/мл	Концентрация белка, мкг/мл	Удельная активность, Е/мг белка
БХЭ, нативная форма	3,67	11,40	321,0
БХЭ, конъюгат с 15 нм КЗ	4,52	11,40	396,0
Отрицательный контроль: конъюгат бычьего сывороточного альбумина с 15 нм золотом	-174,0	11,40	-15,0
Изменение активности, % (от 100 % контроля)	–	–	123,23

мента выявило достоверное увеличение данной эстеразы через 6 часов после введения нативной формы воБХЭ. Высокая активность БХЭ сохранялась также на 1-е и 3-и сутки, особенно в продолговатом мозге, как в нейропиле, так и в сосудах, а также в ткани печени (табл. 2, левая часть).

Максимальное увеличение активности АХЭ наблюдалось в нейропиле продолговатого мозга, а также в ткани печени и миокарда через 6 часов после введения мышам нативной воБХЭ (табл. 2, левая часть). В поздние сроки эксперимента через 7 суток

отмечали второй пик активации исследуемых эстераз (табл. 2).

Результаты биохимического и гистохимического исследования влияния конъюгированной с коллоидным золотом формы высокоочищенной бутирилхолинэстеразы на эндогенные холинэстеразы

В данном эксперименте референтной группой были животные, которым внутривенно вводили 1 мл НЧЗ диаметром 15,7 нм. При анализе биохимических и гистохимических результатов не было обнаружено изменений в активности исследуемых фермен-

Таблица 2

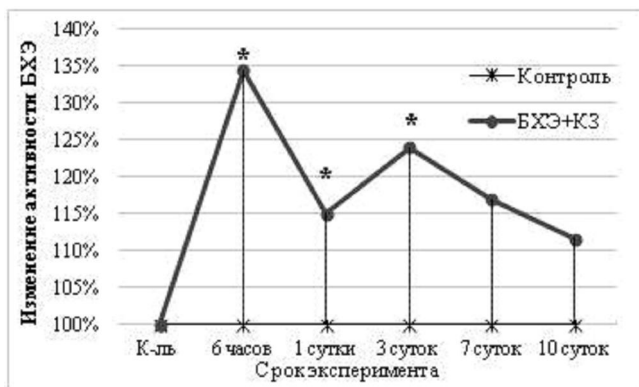
**Активность АХЭ и БХЭ в органах-мишенях
в различные сроки после введения свободной и конъюгированной
с золотыми наночастицами воБХЭ ($M \pm SD$), у. е.**

Срок эксперимента	Ткани и органы	Нативная форма воБХЭ				Конъюгированная с КЗ форма воБХЭ			
		АХЭ		БХЭ		АХЭ		БХЭ	
		контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
6 часов	Таламус	0,252 ± 0,093	0,232 ± 0,109	0,141 ± 0,013	0,182 ± 0,023	0,302 ± 0,034	0,359 ± 0,016	0,106 ± 0,021	0,135 ± 0,016
	ПМ	0,243 ± 0,015	0,307 ± 0,023	0,118 ± 0,019	0,211 ± 0,013	0,309 ± 0,032	0,311 ± 0,034	0,114 ± 0,018	0,118 ± 0,031
	Печень	0,273 ± 0,026	0,397 ± 0,078	0,412 ± 0,078	0,543 ± 0,083	0,368 ± 0,035	0,328 ± 0,037	0,385 ± 0,052	0,303 ± 0,025?
	Миокард	0,163 ± 0,042	0,180 ± 0,030	0,166 ± 0,022	0,218 ± 0,025	0,158 ± 0,017	0,206 ± 0,031	0,250 ± 0,028	0,308 ± 0,035
24 часа	Таламус	0,252 ± 0,093	0,221 ± 0,084	0,141 ± 0,013	0,184 ± 0,020	0,263 ± 0,019	0,331 ± 0,026	0,213 ± 0,016	0,217 ± 0,015
	ПМ	0,243 ± 0,015	0,280 ± 0,022	0,118 ± 0,019	0,193 ± 0,038	0,252 ± 0,008	0,278 ± 0,026	0,106 ± 0,01	0,136 ± 0,021
	Печень	0,273 ± 0,026	0,383 ± 0,046	0,412 ± 0,078	0,514 ± 0,044	0,254 ± 0,054	0,263 ± 0,033	0,316 ± 0,047	0,318 ± 0,059
	Миокард	0,163 ± 0,042	0,182 ± 0,023	0,166 ± 0,022	0,202 ± 0,032	0,167 ± 0,038	0,178 ± 0,014	0,176 ± 0,012	0,200 ± 0,012
3 суток	Таламус	0,252 ± 0,093	0,240 ± 0,111	0,141 ± 0,013	0,155 ± 0,026	0,369 ± 0,015	0,349 ± 0,025	0,193 ± 0,015	0,241 ± 0,028
	ПМ	0,243 ± 0,015	0,226 ± 0,082	0,118 ± 0,019	0,165 ± 0,024	0,260 ± 0,015	0,277 ± 0,037	0,086 ± 0,034	0,119 ± 0,015
	Печень	0,273 ± 0,026	0,262 ± 0,035	0,412 ± 0,078	0,409 ± 0,047	0,278 ± 0,038	0,314 ± 0,037	0,352 ± 0,026	0,375 ± 0,087
	Миокард	0,163 ± 0,042	0,176 ± 0,026	0,166 ± 0,022	0,170 ± 0,018	0,186 ± 0,024	0,249 ± 0,034	0,229 ± 0,015	0,278 ± 0,032
7 суток	Таламус	0,135 ± 0,025	0,172 ± 0,025	0,115 ± 0,017	0,149 ± 0,143	0,342 ± 0,007	0,336 ± 0,01	0,534 ± 0,155	0,520 ± 0,163
	ПМ	0,121 ± 0,027	0,160 ± 0,019	0,103 ± 0,018	0,132 ± 0,011	0,277 ± 0,055	0,280 ± 0,039	0,123 ± 0,016	0,127 ± 0,019
	Печень	0,125 ± 0,031	0,203 ± 0,025	0,445 ± 0,058	0,529 ± 0,065	0,259 ± 0,024	0,275 ± 0,044	0,334 ± 0,047	0,245 ± 0,027↓
	Миокард	0,077 ± 0,006	0,085 ± 0,005	0,139 ± 0,017	0,139 ± 0,012	0,172 ± 0,02	0,190 ± 0,030	0,178 ± 0,033	0,218 ± 0,052
10 суток	Таламус	0,135 ± 0,025	0,141 ± 0,019	0,115 ± 0,017	0,129 ± 0,023	0,255 ± 0,018	0,290 ± 0,017	0,157 ± 0,015	0,171 ± 0,011
	ПМ	0,121 ± 0,027	0,142 ± 0,019	0,103 ± 0,018	0,111 ± 0,012	0,281 ± 0,027	0,272 ± 0,026	0,084 ± 0,023	0,090 ± 0,024
	Печень	0,125 ± 0,031	0,142 ± 0,022	0,445 ± 0,058	0,440 ± 0,070	0,240 ± 0,014	0,284 ± 0,023	0,265 ± 0,017	0,274 ± 0,013
	Миокард	0,077 ± 0,006	0,082 ± 0,006	0,139 ± 0,017	0,145 ± 0,018	0,218 ± 0,034	0,195 ± 0,028	0,125 ± 0,018	0,110 ± 0,046

Примечание. Полужирными шрифтом выделены достоверные отклонения от контрольных значений при $p \leq 0,05$.

тов при сравнении с контролем. Поэтому все расчеты сравнения производились относительно обычной контрольной группы.

Введение иммобилизованной формы воБХЭ сопровождалось умеренным повышением ХЭ в плазме крови опытных мышей на 20–35 % от контрольных значений, которое наблюдалось на протяжении всего эксперимента (рис. 2).



*Обозначены достоверные изменения по сравнению с контролем

Рис. 2. Динамическое изменение активности ХЭ в плазме крови подопытных животных после введения конъюгированной с КЗ формы воБХЭ человека

Гистохимическое изучение активности тканевой АХЭ в ранние сроки эксперимента выявило достоверное увеличение данной эстеразы во всех исследуемых органах и тканях через 1 час после введения воБХЭ, иммобилизованной на наночастицах золота, с продлением этого действия до 6 часов. Также обращало на себя внимание, что основным органом, где наблюдалось увеличение АХЭ, была таламическая область головного мозга (табл. 2, правая часть), причем этот эффект наблюдался вплоть до окончания первых суток эксперимента.

Повышение активности тканевой БХЭ было обнаружено в ткани печени и миокарда в первые часы эксперимента. Стимуляция тканевой БХЭ в таламической и лобных областях головного мозга наблюдалась только через 24–72 часа. В то же время в ткани печени на разных сроках – 6 часов и 7 суток – отмечалось достоверное снижение БХЭ (табл. 2).

Сравнительный анализ двух форм высокоочищенной бутирилхолинэстеразы

При сопоставлении полученных данных было обнаружено, что воБХЭ в чистом виде с каталитической активностью 3 Ед/мл в достаточно короткие сроки существенно повышала уровень ХЭ в плазме крови у опытных животных. Введение же конъюгированной формы воБХЭ незначительно увеличивало активность ХЭ плазмы крови. Однако следует учитывать изначальную каталитическую активность иммобилизованной формы БХЭ (0,5 Ед). Поэтому, рассчи-

тав и сопоставив процент повышения ХЭ плазмы крови, которое приходилось на 0,1 Ед фермента, было выявлено, что в ответ на введение 0,1 Ед нативной формы воБХЭ активность ХЭ повышалась на 5 %, а конъюгированной формы – на 8 %. Таким образом, высокоочищенная БХЭ, конъюгированная с золотыми наночастицами, оказалась в 1,6 раза активнее нативной формы.

При сравнении длительности воздействия воБХЭ на активность эндогенной ХЭ было отмечено, что введение нативной формы воБХЭ сопровождалось как быстрым подъемом уровня ХЭ в плазме крови, так и быстрой ее инактивацией через 3 суток. В то же время конъюгированная форма воБХЭ оказывала пролонгированное влияние на ХЭ в плазме крови, поддерживая ее на стабильно повышенном уровне. Аналогичная картина наблюдалась и при анализе гистохимических данных при изучении активности АХЭ и БХЭ в отделах головного мозга. Так, при сопоставлении динамических графиков изменения изучаемых эстераз было отмечено, что введение нативной формы воБХЭ способствовало увеличению активности АХЭ и БХЭ в нейропиле таламуса и продолговатого мозга в ранние сроки эксперимента – 6 часов (рис. 3). Введение иммобилизованной формы воБХЭ сопровождалось активацией эстераз в головном мозге, однако пик их активности наблюдался через 24 часа после начала эксперимента. Данный эффект может объясняться тем, что на пути конъюгатов оказывалась ретикуло-эндотелиальная система, в результате чего часть воБХЭ, конъюгированная с НЧЗ, депонировалась в печени и селезенке. В дальнейшем БХЭ могла вновь поступать в циркуляторное русло, возможно, уже в свободном виде, тем самым поддерживая фоновое повышение ХЭ как в плазме крови, так и БХЭ в исследуемых органах и тканях.

Отдельно стоит отметить, что увеличение уровня активности тканевой формы БХЭ миокарда согласовывалось с возрастанием активности фермента в плазме крови, что может являться косвенным признаком накопления в тканях сердца экзогенной воБХЭ, доставленной с током крови.

При анализе гистохимических данных мы наблюдали эффект активации АХЭ в ответ на введение экзогенной воБХЭ обоих типов (рис. 3). На сегодня данный феномен малоизучен, однако в литературе имеется немало данных о взаимном влиянии ХЭ друг на друга. Так, известно, что БХЭ может брать на себя функции АХЭ и гидролизовать ацетилхолин [6]. Кроме того, синтез одной из форм АХЭ – АХЭ-R и БХЭ регулируется посредством одних и тех же микро-РНК [7]. Поэтому вполне вероятно, что наблюдавшиеся эффекты активации эстераз при введении воБХЭ могут быть косвенным свидетельством сопряжения регуляция активности АХЭ и БХЭ между собой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, по результатам проведенной работы можно сделать следующие выводы:

1. Нативная форма воБХЭ способна в короткие сроки значительно повысить уровень ХЭ как в плазме крови, так и активность АХЭ и БХЭ в нервной ткани.

2. Конъюгация воБХЭ с наночастицами золота увеличивает ее каталитическую активность и способствует пролонгации ее действия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гайер Г. Электронная гистохимия. – М.: Мир, 1974. – С. 488.
2. Соколов О.И., Селиванов Н.Ю., Богатырев В.А., Селиванова О.Г. и др. Получение и изучение каталитической активности высокоочищенной бутирилхолинэстеразы человека, конъюгированной с наночастицами золота // Доклады Академии наук. – 2016. – Т. 468 (6). – С. 713–715.
3. Ding S., Cargill A.A., Medintz I.L., Claussen J.C. // Curr. Opin. Biotechnol. – 2015. – Vol. 34. – P. 242–250.
4. Frens G. // Nature Phys. Sci. – 1973. – Vol. 241. – P. 20–22.
5. Khlebtsov N.G., Dykman L.A. // J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer. – 2010. – Vol. 111. – P. 1–35.

6. Mesulam M., Guillozet A., Shaw P., Quinn B. // J. Neurobiol. Dis. – 2002. – Vol. 9. – P. 88–93.

7. Nadorp B., Soreq H. // Frontiers in Molecular Neuroscience. – 2014. – Vol. 7. – P. 55–65.

REFERENCES

1. Gajer G. Jelektronnaja gistohimija [Electronic histochemistry]. Moscow: Mir Publ., 1974. p. 488.
2. Sokolov O.I., Selivanov N.Ju., Bogatyrev V.A., Selivanova O.G. i dr. Polu-chenie i izuchenie kataliticheskoj aktivnosti vysokoochishhennoj butirilho-linjesterazy cheloveka, konjugirovannoj s nanochasticami zolota [The preparation and study of the catalytic activity of highly purified butyrylcholinesterase of a human conjugated to gold nanoparticles]. Doklady Akademii nauk [Reports of the Academy of Sciences], 2016, Vol. 468 (6), pp. 713–715.
3. Ding S., Cargill A.A., Medintz I.L., Claussen J.C. Curr. Opin. Biotechnol, 2015, Vol. 34, pp. 242–250.
4. Frens G. Nature Phys. Sci., 1973, Vol. 241, pp. 20–22.
5. Khlebtsov N.G., Dykman L.A. J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer, 2010, Vol. 111, pp. 1–35.
6. Mesulam M., Guillozet A., Shaw P., Quinn B. J. Neurobiol. Dis., 2002, Vol. 9, pp. 88–93.
7. Nadorp B., Soreq H. Frontiers in Molecular Neuroscience, 2014, Vol. 7, pp. 55–65.

Контактная информация

Великородная Юлия Ивановна – научный сотрудник лаборатории патоморфологии, ФГУП Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии ФМБА России, e-mail: velikorodnaya@rihtop.ru