

ла эксперимента. Это приводит к цитолизу мембран эритроцитов и плазматических мембран кардиоцитов, на что указывает эритроцитарный индекс интоксикации и повышение активности аспарат- и аланинаминотрансферазы.

Ключевые слова: адреналин, миокард, липопероксидации, аминотрансферазы, цитолиз кардиоцитов

Summary

DYNAMICS OF LIPID PEROXIDATION AND THE STATE OF THE CELL MEMBRANE UNDER ADRENALIN CARDIOMYOPATHY

Alekseyevych K.O., Fira L.S., Lyhatskiy P.G.

*Ternopil State Medical University
Horbachevskiy*

It is established that the conditions of myocardial injury in rats epinephrine at a

dose of 0.5 mg / kg body weight activated processes of lipid peroxidation, which reach a maximum after 48 hours from the start of the experiment. This leads to cytolysis erythrocyte membranes and plasma membranes kardiotocytes, as indicated by the index of erythrocytic toxicity and increased activity of aspartate- and alanineaminotransferases.

Key words: *adrenaline, myocardium, lipid peroxidation, aminotransferases, cytolysis kardiotocytes*

*Впервые поступила в редакцию 21.01.2014 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 544.13

МОДЕЛИРОВАНИЕ КОМПЛЕКСОВ МЕТАЛЛОТИОНЕИНА МТ-2 КРЫСЫ С РАЗЛИЧНЫМИ ИОНАМИ МЕТАЛЛОВ ПОЛУЭМПИРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ PM7

Полищук П.Г., Пыхтеева Е.Г. *, Христова Т.М.

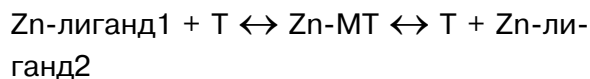
Физико-химический институт им. Богатского НАН Украины

**Украинский НИИ медицины транспорта*

Сочетание у металлотиионеина (МТ) детоксикационных функций по отношению к токсичным d^{10} -металлам (Cd, Hg) и функций направленного транспорта по отношению к эссенциальным d^{10} -металлам (Zn, Cu), ставит на повестку дня поиск структурных предпосылок, позволяющих на молекулярном уровне проводить распознавание по-разному нагруженных молекул МТ, направляя их в лизосомы для утилизации и выведения в случае связывания с токсичными металлами или к рибосомам, ядру и эндоплазматическому ретикулуму в случае связывания с эссенциальными металлами. Основой для такого распознавания может являться структурное различие образуемых комплексов. Для построенных комплексов Zn_7 -МТ, Cd_7 -МТ, Hg_7 -МТ была проведена оптимизация их геометрии с помощью полуэмпирического квантово-химического пакета MOPAC[®] методом PM7 с учетом воды как растворителя в виде континуальной модели COSMO. В качестве исходного был выбран металлотиионин-2 (МТ-2) крысы, для которого имеются данные рентгеноструктурного анализа и 3D структура которого свободно доступна в ProteinDataBank под кодом 4MT2. Сравнение комплексов Zn_7 -МТ, Cd_7 -МТ, Hg_7 -МТ показывает их структурную близость, при наличии областей, в которых существуют значительные отличия, которые, вероятно, могут быть основой для внутриклеточного распознавания и транспорта по-разному нагруженных комплексов в соответствующие компартменты для выведения (в случае токсичных металлов) или использования (в случае цинка).

Ключевые слова: металлотиионин, цинк, кадмий, ртуть, моделирование структуры комплекса, полуэмпирический квантово-химический пакет MOPAC[®]

Семейство структурно и функционально близких низкомолекулярных белков металлотионеинов (МТ) получило свое название в связи с высоким содержанием в них металлов и серы [1]. МТ – подвижные белки с массой 6,5-8 кДа, благодаря малым размерам и уникальному строению, проявляют в организме полимодальные функции, основной из которых является, безусловно, металлотранспортная [2]. МТ играют центральную роль в обмене и обеспечении биодоступности цинка, детоксикации тяжелых металлов и в управлении различными формами стресса. Металлотионеин синтезируется в виде апо-белка — тионеина (Т), который является мощным акцептором Zn. Белок-белковое взаимодействие обеспечивает передачу ионов d^{10} -металлов (Zn, Cd, Hg, Cu) от альбуминовых комплексов (с меньшей константой устойчивости) тионеину и далее, создавая при этом однонаправленный поток ионов металла в сторону образования комплексов с большей константой устойчивости:



В процессе связывания металлов Т превращается в МТ. Первичная структура МТ, содержащая около 20 остатков цистеина (количество зависит от видовой принадлежности и изоформы МТ) [3], обеспечивает возможность образования внутрибелковых тетраэдрических комплексов с ионами d^{10} металлов. Именно особенности координационной химии комплексов металлов с белками обуславливают реализацию транспортной функции специализированных металлотранспортных белков вообще и МТ в частности. Комплексы Zn в Zn-тиолатных кластерах МТ существенно отличаются от любых неорганических комплексов Zn (II). Константа устойчивости $\text{Zn}_7\text{MT-2 } K_{\text{Zn}} = 3,2 \times 10^{13} \text{ M}^{-1}$ при pH 7,4) [4].

В то же время, несмотря на высокие константы устойчивости, вероятно

при участии окислительно-восстановительной системы клетки (возможно, глутатион-антиоксидантной системы – ГАОС) происходит изменение свойств комплекса, которое обуславливает возможность освобождения Zn из МТ в клеточных компартментах, где потребность в Zn максимальна. На сегодня доказано как минимум три фундаментальных свойства, проявляемых МТ благодаря наличию двух цинксодержащих кластеров: взаимодействие с глутатионом и обеспечение цинком процессов клеточного синтеза Zn-содержащих белков, регуляция экспрессии генов с помощью Zn-зависимого фактора транскрипции, а также контроль (преимущественно ингибирование) роста и развития нейронов [5].

Сочетание у МТ детоксикационных функций по отношению к токсичным d^{10} -металлам (Cd, Hg) и функций направленного транспорта по отношению к эссенциальным d^{10} -металлам (Zn, Cu), ставит на повестку дня поиск структурных предпосылок, позволяющих на молекулярном уровне проводить распознавание поразному нагруженных молекул МТ, направляя их в лизосомы для утилизации и выведения в случае связывания с токсичными металлами или к рибосомам, ядру и эндоплазматическому ретикулуму в случае связывания с эссенциальными металлами. Основой для такого распознавания может являться структурное различие образуемых комплексов.

Таким образом, **целью** нашей работы было моделирование структуры комплексов $\text{Zn}_7\text{-MT}$, $\text{Cd}_7\text{-MT}$, $\text{Hg}_7\text{-MT}$ и сравнение их между собой.

Методы исследования

Для изучения и моделирования в качестве исходного был выбран металлотионин-2 (МТ-2) крысы, для которого имеются данные рентгеноструктурного анализа и 3D структура которого свободно доступна в ProteinDataBank под кодом 4MT2 [6]

В металлотионеине условно выделяют альфа и бета домены, каждый из

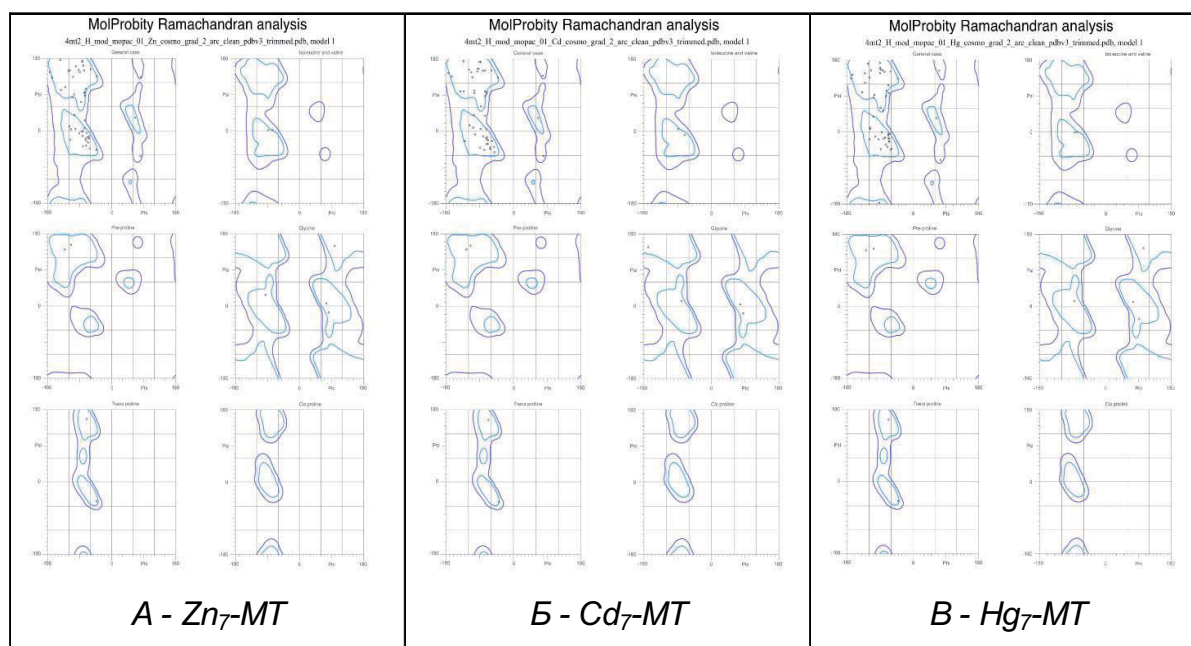


Рис. 1. Карты Рамачандрана для комплексов Zn_7 -MT (А), Cd_7 -MT (Б), Hg_7 -MT (В) которых образует полость, в которой помещаются ионы тяжелых металлов. В структуре выбранного белка присутствуют пять ионов цинка и два иона кадмия. С целью установления того, как состав ионов влияет на строение металл-белкового комплекса, заменой всех семи ионов на ионы цинка, кадмия или ртути были получены три новых комплекса MT-2 с ионами выбранных металлов. Для построенных комплексов была проведена оптимизация их геометрии с помощью полуэмпирического квантово-химического пакета MOPAC® [7, 8] методом PM7 [9] с учетом воды как растворителя в виде континуальной модели COSMO [10]. Метод новой, более точной параметризации PM7 используется для оптимизации биоорганических комплексов переходных металлов. Добавление функции дисперсии Jureika и расчет интегрированных точек водородных связей в PM7 значительно улучшает прогноз межмолекулярных взаимодействий.

Результаты и их обсуждение

Исследование и моделирование фолдинга низкомолекулярных белков остается важнейшей задачей современной физико-химической биологии. В настоящее время при описании конформационных возможностей полипептидных

цепей весьма эффективным оказывается подход на основе представлений карт Рамачандрана, согласно которому каждому аминокислотному остатку сопоставлена пара торсионных углов и при альфа-атоме углерода. В структуре белков могут наблюдаться только значения углов ϕ и ψ , обеспечивающие наименьшее отталкивание между боковыми цепями аминокислотных остатков. Очевидно, что в зависимости от размера и строения заместителей стерическое отталкивание атомов будет различным. Самым свободным является вращение для глицина, самым ограниченным — для аминокислоты пролина. Впервые расчет потенциальной энергии как функции углов ϕ и ψ был проведен Г. Рамачандраном. Он предложил представлять результаты расчета в виде двумерных зависимостей потенциальной энергии от значений углов ϕ и ψ . Эти зависимости получили название карт Рамачандрана. Выделенные голубым области на этих картах соответствуют парам углов (ϕ и ψ), при которых стерическое отталкивание отсутствует и система энергетически стабильна. Вне этих областей области отвечают парам углов (ϕ и ψ), при которых конфор-

мация испытывает напряжение и энергетически затруднена или вообще запрещена. Интенсивность затемнения областей характеризует степень энергетической стабильности конформаций. В соответствии с этим возникают «разрешенные» и «запрещенные» зоны значений торсионных углов, которые, собственно, и позволяют выделять аминокислоты и их последовательности, тяготеющие к образованию, например, либо — спиральных, либо — слоистых либо — петлевых вторичных структур [11]. После моделирования белковой структуры *in silico* необходимо проанализировать карты Рамачандрана полученных белковых комплексов. Если диэдральные углы ряда аминокислотных остатков в белке не попадают в «разрешенные» области, полученная модель, вероятно, содержит ошибки и не описывает достоверно реальную структуру белка.

Как видно из рис. 1, карты Рамачандрана для смоделированных комплексов показывают, что во всех случаях оптимизированные структуры можно рассматривать как достоверные, значения всех диэдральных углов в белках лежат в допустимых пределах. Так для Zn₇-MT 86,4 % (51/59) аминокислотных остатков находятся в энергетически выгодных конформациях, 100,0 % (59/59) — в допустимых; для Cd₇-MT 88,1 % (52/59) аминокислотных остатков находятся в энергетически выгодных конформациях, и 100,0 % (59/59) — в допустимых, для Hg₇-MT 93,2 % (55/59) — в энерге-

тически выгодных конформациях, и 100,0 % (59/59) — в допустимых.

Для оценки различий в оптимизированных структурах использовалась величина среднеквадратичного расстояния между соответствующими атомами белка в разных комплексах. Чем это расстояние больше, тем больше отличаются структуры друг от друга. Поскольку полости, в которых связываются ионы тяжелых металлов, образованы исключительно остатками цистеинов, то были рассчитаны соответствующие расстояния между всеми соответствующими остатками цистеинов для всех пар комплексов. Так среднеквадратичное расстояние между остатками цистеина в Zn₇-MT и Cd₇-MT составляет 0,47 Е, в то время как аналогичное расстояния для пары Zn₇-MT и Hg₇-MT всего 0,35 Е.

Дополнительно были рассчитаны расстояния между отдельными атомами серы, различных остатков цистеина (см. таблицу). Соответствующие расстояния

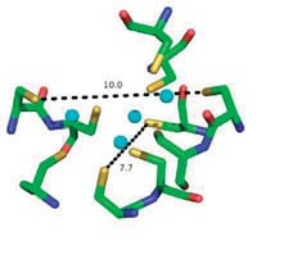
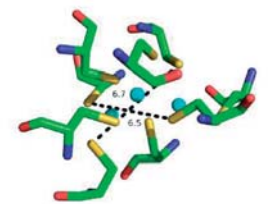
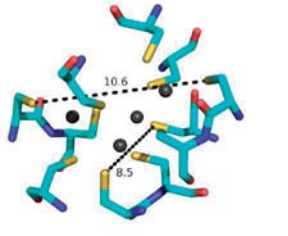
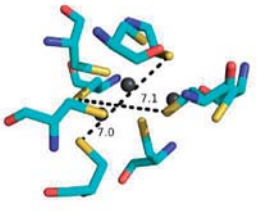
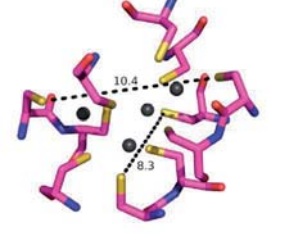
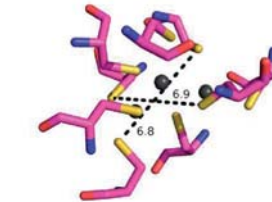
		Zn ₇ -MT (A)
		Cd ₇ -MT (B)
		Hg ₇ -MT (B)

Рис. 2. Линейные размеры металлсодержащих кластеров MT в комплексах Zn₇-MT (A), Cd₇-MT (Б), Hg₇-MT (B)

Расстояния между атомами серы, входящими в различные остатки цистеина, для комплексов МТ с разными ионами металлов

комплекс МТ-2	Cys7-Cys29 (бета-домен)	Cys33-Cys59 (альфа-домен)
Zn	6,7 Е	10,0 Е
Cd	7,1 Е	10,6 Е
Hg	6,9 Е	10,4 Е

были наибольшими в случае комплекса МТ-2 с ионами кадмия (табл. 1).

Полученные результаты показывают, что ионы кадмия в большей степени, чем ионы ртути деформируют структуру металлотионеина-2 по сравнению с ионами цинка.

В соответствии с оптимизированными структурами комплексов полость МТ полностью занята ионами металлов. Дополнительные противоионы и молекулы воды в полости отсутствуют. Для примера приведена структура комплекса Zn₇-МТ с пропорциональными размерами ван-дер-ваальсовых радиусов атомов (рис. 3).

Вторичная структура белка стабилизируется водородными связями между карбоксильным кислородом и амидной группировкой -C=O...H-N-. В большинстве случаев с участием водородных связей происходит образование фермент-субстратных комплексов и «узнавание» молекул субстрата активным центром. Сравнение структур позволяет выявить

Таблица 1. область максимальных изменений (рис. 4), включающую последовательность САКСQ (41-47), которая, возможно, и отвечает за внутриклеточное распознавание. Стабилизация этих структур достигается изменением расположения водородных связей на поверхности комплексов.

Вывод

Таким образом, сравнение комплексов Zn₇-МТ, Cd₇-МТ, Hg₇-МТ показывает их структурную близость, при наличии областей, в которых существуют значительные отличия, которые, вероятно, могут быть основой для внутриклеточно-

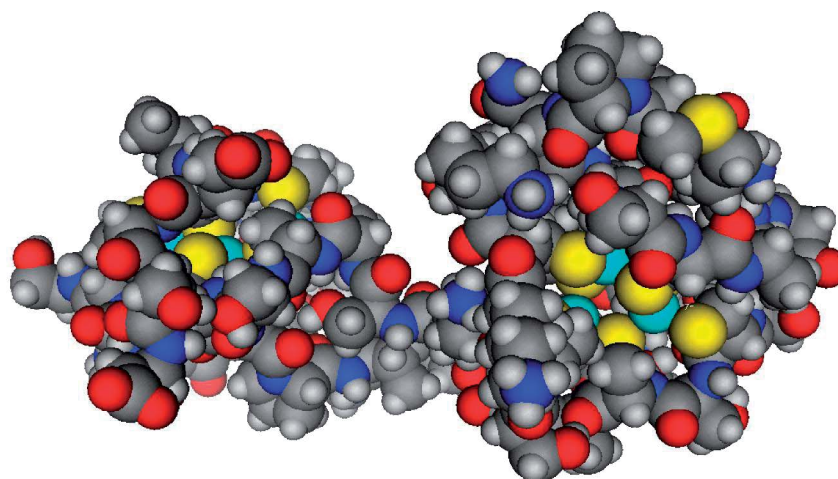


Рис. 3. Структура комплекса Zn₇-МТ

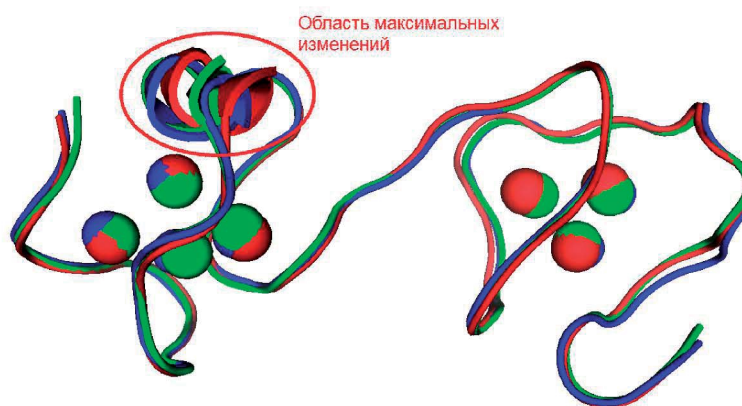


Рис. 4. Схематичное изображение структуры металлотионеина-2 крысы в комплексе с ионами цинка (зеленый), кадмия (красный) и ртути (синий).

го распознавания и транспорта по-разному нагруженных комплексов в соответствующие компартменты для выведения (в случае токсичных металлов) или использования (в случае цинка).

Литература

1. Шафран Л.М., Пыхтеева Е.Г., Большой Д.В. Металлотионеины / Под редакцией проф. Л.М. Шафрана – Одесса: Издательство “Черномор’я”, 2011. – 428 с.
2. M. Margoshes. A cadmium protein from equine kidney cortex / M. Margoshes, B. L. Vallee. // J. Am. Chem. Soc. — 1957. — Vol. 79 (17). – P. 4813–4814
3. М.Валяк and G.Meloni. гл. 1 Metallothionein structure and reactivity в книге Metallothioneins In Biochemistry And Pathology, © World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., <http://www.worldscibooks.com/medsci/6663.html>
4. Goyal K. Exploiting 3D structural templates for detection of metal-binding sites in protein structures / K. Goyal, S. C. Mande // Proteins. — 2008 – Vol. 70(4) –P. 1206-1218.
5. Sook-Jeong Lee. Roles of zinc and metallothionein-3 in oxidative stress-induced lysosomal dysfunction, cell death, and autophagy in neurons and astrocytes. / Sook-Jeong Lee, Jae-Young Koh. // Molecular Brain – 2010.- Vol. 3. – P. 30-38.
6. База данных ProteinDataBank (<http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?pdbid=4MT2>).
7. MOPAC2012, James J. P. Stewart, Stewart Computational Chemistry, Colorado Springs, CO, USA, [HTTP://OpenMOPAC.net](http://OpenMOPAC.net) (2012).
8. GPU Linear Algebra Libraries and GPGPU Programming for Accelerating MOPAC Semiempirical Quantum Chemistry Calculations. / J.D.C. Maia, G.A.U. Carvalho, C.P. Mangueira [et al.] // J. Chem. Theory Comput. – 2012- Vol. 8, H. 3072-3081. DOI: 10.1021/ct3004645
9. J.J. P. Stewart Optimization of Parameters for Semiempirical Methods VI: More Modifications to the NDDO Approximations and Re-optimization of Parameters / J.J. P. Stewart // J. Mol. Mod. – 2013 – Vol. 19. – P. 1-32 doi:10.1007/s00894-012-1667-x
10. A. Klamt, G. Schььermann (1993). “COSMO: A new approach to dielectric screening in solvents with explicit expressions for the

screening energy and its gradient”. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2: 799-805

11. Самченко А.А. Новый взгляд на карты Рамачандрана в дипептидах. квантово-химические полуэмпирические исследования / Самченко А.А., Кабанов А.В., Комаров В.М.// XVIII-ая Междисциплинарная конференция «Математика. Компьютер. Образование». Тезисы. <http://www.mce.biophys.msu.ru/rus/archive/authors/person578/doc98836/>

References

1. Shafran L.M., Pyhteeva E.G., Bolshoy D.V. Metallothioneins / Edited by prof. LM Shafran — Odessa: Publisher “Chornomor’ya” 2011. — 428 p. [Рус.]
2. M. Margoshes. A cadmium protein from equine kidney cortex / M. Margoshes, B. L. Vallee. // J. Am. Chem. Soc. — 1957. — Vol. 79 (17). – P. 4813–4814
3. М.Валяк and G.Meloni. гл. 1 Metallothionein structure and reactivity в книге Metallothioneins In Biochemistry And Pathology, © World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., <http://www.worldscibooks.com/medsci/6663.html>
4. Goyal K. Exploiting 3D structural templates for detection of metal-binding sites in protein structures / K. Goyal, S. C. Mande // Proteins. — 2008 – Vol. 70(4) –P. 1206-1218.
5. Sook-Jeong Lee. Roles of zinc and metallothionein-3 in oxidative stress-induced lysosomal dysfunction, cell death, and autophagy in neurons and astrocytes. / Sook-Jeong Lee, Jae-Young Koh. // Molecular Brain – 2010.- Vol. 3. – P. 30-38.
6. Database ProteinDataBank (<http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?pdbid=4MT2>).
7. MOPAC2012, James J. P. Stewart, Stewart Computational Chemistry, Colorado Springs, CO, USA, [HTTP://OpenMOPAC.net](http://OpenMOPAC.net) (2012).
8. GPU Linear Algebra Libraries and GPGPU Programming for Accelerating MOPAC Semiempirical Quantum Chemistry Calculations. / J.D.C. Maia, G.A.U. Carvalho, C.P. Mangueira [et al.] // J. Chem. Theory Comput. – 2012- Vol. 8, H. 3072-3081. DOI: 10.1021/ct3004645
9. J.J. P. Stewart Optimization of Parameters for Semiempirical Methods VI: More Modifications to the NDDO Approximations

- and Re-optimization of Parameters / J.J. P. Stewart // J. Mol. Mod. – 2013 – Vol. 19. – P. 1-32 doi:10.1007/s00894-012-1667-x
10. A. Klamt, G. Sch€ymann (1993). "COSMO: A new approach to dielectric screening in solvents with explicit expressions for the screening energy and its gradient". Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2: 799-805
11. Samchenko A.A. A new look at the Ramachandran's card in dipeptides. Semi-empirical quantum chemical study / Samchenko A.A., Kabanov A.V., Komarov V.M. // XVIII-th Interdisciplinary Conference "Mathematics. Computer. Education ". Abstracts.http://www.mce.biophys.msu.ru/rus/archive/authors/person578/doc98836/[Rus.]

Резюме

МОДЕЛЮВАННЯ КОМПЛЕКСІВ МЕТАЛОТІОНЕЇНУ МТ- 2 ЩУРА З РІЗНИМИ ІОНАМИ МЕТАЛІВ НАПІВЕМПІРИЧНИМ МЕТОДОМ РМ7

Поліщук П.Г., Пихтєєва О.Г.,
Христова Т.М.

Поеднання у металотіонеїні (МТ) детоксикаційних функцій по відношенню до токсичних d¹⁰-металів (Cd, Hg) і функцій спрямованого транспорту по відношенню до есенціальних d¹⁰-металів (Zn, Cu), ставить на порядок денний пошук структурних передумов, що дозволяють на молекулярному рівні проводити розпізнавання по-різному навантажених молекул МТ, направляючи їх в лізосоми для утилізації та виведення у разі зв'язування з токсичними металами або до рибосом, ядра і ендоплазматичного ретикулуму у разі зв'язування з есенціальними металами. Основою для такого розпізнавання може бути структурна відмінність утворених комплексів. Для побудованих комплексів Zn₇-МТ, Cd₇-МТ, Hg₇-МТ була проведена оптимізація їх геометрії за допомогою напівемпіричного квантово-хімічного пакету MOPAC[®] методом РМ7 з урахуванням води як розчинника у вигляді континуальної моделі COSMO. В якості вихідного був обраний металотіонеїн-2 (МТ-2) щури, для якого є дані рентгеноструктурного аналізу і 3D структура якого вільно доступна

в ProteinDataBank під кодом 4MT2. Порівняння комплексів Zn₇-МТ, Cd₇-МТ, Hg₇-МТ показує їх структурну близькість, при наявності областей, в яких існують значні відмінності, які, ймовірно, можуть бути основою для внутрішньоклітинного розпізнавання і транспорту по-різному навантажених комплексів у відповідні компартменти для виведення (у разі токсичних металів) або використання (у разі цинку).

Ключові слова: металотіонеїн, цинк, кадмій, ртуть, моделювання структури комплексу, напівемпіричний квантово-хімічний пакет MOPAC[®]

Summary

THE MODELING OF COMPLEXES OF RAT METALLOTHIONEIN MT-2 WITH THE VARIABLE METAL IONS BY THE APPLICATION OF SEMI-EMPIRICAL METHOD PM7

Polishchuk P.G., Pyhteeva E.G.,
Khristova T.M.

Nowadays it is urgent to consider the combination of the metallothionein's (MT) detoxification functions relatively to the toxic d – 10 – metals (Cd, Hg) and functions of the directed transportation relatively to the essential d 10 –metals (Zn, Cu) that puts on the agenda the research of structural conditions, which allow to recognize on the molecular level the differently loaded molecules MT, directing them into the lysosomes for the utilization and excretion in case of binding with toxic metals or with ribosomes, nucleuses and endoplasmic reticulum in case of binding with essential metals. The base of such recognition may be the structural difference of the established complexes. For the formed complexes Zn₇-MT, Cd₇-MT, Hg₇-MT has been hold an optimization of their geometry by the aid of semi-empirical quantum-chemical program Molecular Orbital PACkage (MOPAC[®]) by the method of PM7 considering the water as solvent in the form of continuum model COSMO. The metallothionein-2 (MT-2) of the rat has been chosen as an initial, for which there are the data of X-ray diffraction analysis and

3D structure of which is freely available in the ProteinDataBank under the code 4MT2. The comparison between complexes Zn7-MT, Cd7-MT, Hg7-MT demonstrates their structural proximity, in the presence of areas, in which there are significant differences that probably might be fundamental for the intracellular recognition and transportation of differently loaded complexes into the appropriate

compartments for the excretion (in case of toxic metals) and usage (in case of Zinc).

Keywords: *metallothionein, zinc, cadmium, mercury, modeling of the structure of the complex, semi-empirical quantum-chemical program Molecular Orbital PACkage MOPAC®*

*Впервые поступила в редакцию 03.02.2014 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 616.921.5+502.085

ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ВИРУСОВ ПАРАГРИППА С ЧУВСТВИТЕЛЬНЫМИ КУЛЬТУРАМИ КЛЕТОК

Дивоча В.А.

Украинский НИИ медицины транспорта, г. Одесса; divocha09@ukr.net

В данной работе было изучено взаимодействие вирусов парагриппа с первично-трипсинизированными культурами клеток почек эмбриона человека. Установлено, что инфекционный вирус парагриппа образуется раньше агглютинирующего антигена. Цитоморфологическими методами установлено, что поражение ядер и цитоплазмы в инфицированной клетке происходит одновременно. Отличительным тестом для парагриппозных инфекций является образование цитоплазматических включений и симпластов. Морфологический метод более чувствителен по сравнению с реакциями гемадсорбции и агглютинации, так как уже через 24 часа после заражения выявлены изменения в клетке.

Ключевые слова: *парагрипп, клетки почек эмбриона человека, вирусы.*

Введение

До настоящего времени специфического антивирусного лечения парагриппозных заболеваний нет [1, 2]. Сейчас самым эффективным средством лечения парагриппозной инфекции являются интерфероны и их блокаторы [3, 4]. Основным путем получения эффективных препаратов против парагриппа является изготовление специфических иммуноглобулинов. Но для получения специфических препаратов вначале надо получить высокоиммунизирующие антигена.

Поэтому целью данного исследования было изучение образования инфекционного вируса и гемагглютинирующего антигена вирусов парагриппа с параллельным их цитоморфологическим изучением.

Материалы и методы

В работе использовались первичные клетки почек эмбриона человека 5-6 месяцев, и вирусы парагриппа 1, 2, 3 и 4 типов (ПГ1 – СС 1889, ПГ2 – 931, ПГ3 – 932, ПГ4В – 15429). Трипсинизация почек эмбриона человека (ПЭЧ) проводилась по модифицированному методу, предложенному А.М. Трубиной и соавт. [5]. Заражение клеток ПЭЧ вирусами парагриппа 1, 2, 3 и 4-го типов осуществляли на 5-е сутки роста ткани. В этих опытах параллельно изучалось появление и накопление инфекционного вируса, гемагглютинирующего антигена и цитоморфологические изменения.

Для определения инфекционности вирусов парагриппа использовалась реакция гемадсорбции [6]. Реакция гемад-