

НОВОСТИ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

NEWS OF BIOMEDICAL SCIENCES

Научно-практический и научно-теоретический журнал

МЖ
НБ

Издается с января 2001 года
Published since January, 2001

ВНМ
С

Выходит четыре раза в год
Published quartely



2022, Т. 22, № 2

Минск

**РЕДАКЦИОННАЯ
КОЛЛЕГИЯ:**

В. А. Кульчицкий (*главный редактор*),
А. Г. Чумак (*зам. главного редактора*),
М. О. Досина (*ответственный секретарь*),
О. Г. Тихонович (*секретарь*),
Л. И. Арчакова, Ф. И. Висмонт, С.В. Губкин
В. В. Зинчук, С. Л. Кабак, А. И. Кубарко,
В. И. Кузнецов, Н. Е. Максимович,
А.Г. Мрочек, В. Н. Никандров,
В. А. Переверзев, Ю.Я. Родионов,
И. Н. Семененя, Е. И. Слобожанина,
В. В. Солтанов, Н. Ф. Сорока,
С. Н. Черенкевич

**EDITORIAL
BOARD:**

V. A. Kulchitsky (*Editor-in-Chief*),
A. G. Chumak (*Associate Editor-in-Chief*),
M.O. Dosina (*Responsible Secretary*),
O. G. Tichonovich (*Secretary*),
L. I. Archakova, F. I. Vismont, S.V. Goubkin
V. V. Zinchuk, S. L. Kabak, A. I. Kubarko,
V. I. Kuznetsov, N. E. Maksimovich,
A. G. Mrochek, V. N. Nikandrov,
V. A. Pereverzev, Yu. Ya. Rodionov,
I. N. Semeneya, E. I. Slobozhanina,
V. V. Soltanov, N. F. Soroka,
S. N. Cherenkevich

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ (EDITORIAL COUNCIL):

К. В. Анохин (Москва, Россия), **Ю. А. Владимиров** (Москва, Россия), **А. И. Григорьев**
(Москва, Россия), **М. И. Давыдов** (Москва, Россия), **Д. П. Дворецкий** (Санкт-Петербург,
Россия), **А. Д. Ноздрачев** (Санкт-Петербург, Россия), **Г. Н. Пономаренко** (Санкт-Петербург,
Россия), **А. Н. Разумов** (Москва, Россия), **В. Ф. Сагач** (Киев, Украина), **В. О. Самойлов**
(Санкт-Петербург, Россия), **В. А. Труфакин** (Новосибирск, Россия), **В. Ф. Чехун** (Киев,
Украина), **E. Aleknavicius** (Lithuania), **G. Burnstock** (United Kingdom), **M.-A. Custaud**
(France), **N. Dale** (United Kingdom), **D. Djuric** (Serbia), **R. Gerstberger** (Germany),
M. J. Kluger (USA), **K. M. Spyer** (United Kingdom), **M. Szekely** (Hungary),
W. Winlow (United Kingdom)

**Адрес
редакции:**

Институт физиологии НАН Беларуси
к. 203, ул. Академическая 28,
220072, Минск, Республика Беларусь
Тел./Факс: +375 17 284-16-30;
Электронная почта: biblio@fizio.bas-net.by

**Address
of the Editorial Office:**

Institute of Physiology, NAS of Belarus
room 203, Akademicheskaya str. 28,
220072, Minsk, Republic of Belarus
Phone/Fax: +375 17 284-16-30;
E-mail: biblio@fizio.bas-net.by



© Институт физиологии НАН Беларуси,
Institute of Physiology, NAS of Belarus
© Новости медико-биологических наук
News of Biomedical Sciences

СОДЕРЖАНИЕ/CONTENTS

ФИЗИОЛОГИЯ		PHYSIOLOGY
<i>Е.М. СТЕПАНОВА</i>	6	<i>A. STSIAPANAVA</i>
ВЛИЯНИЕ КАТОДНОЙ ТРАНСКРАНИАЛЬНОЙ МИКРОПОЛЯРИЗАЦИИ НА СВОЙСТВА ВНИМАНИЯ У СПОРТСМЕНОВ		THE EFFECT OF CATHODAL TRANSCRANIAL DIRECT-CURRENT STIMULATION ON ATTENTION IN ATHLETES TESTING
<i>О.Н. САВАНЕЦ, Е.В. КРАВЧЕНКО</i>	11	<i>O.N. SAVANETS, E.V. KRAVCHENKO</i>
PRO-GLY МОДИФИЦИРУЕТ РИТМЫ ЛОКОМОТОРНОЙ АКТИВНОСТИ КРЫС WISTAR, ПОДВЕРГШИХСЯ НЕИЗБЕЖАЕМОМУ СТРЕССУ		PRO-GLY MODIFIES THE RHYTHMS OF LOCOMOTOR ACTIVITY IN WISTAR RATS IN THE CONDITIONS OF INESCAPABLE STRESS
<i>Е.М. СТЕПАНОВА, А.Г. РАМЗА, А.А. МУХАМОВА</i>	17	<i>A. STSIAPANAVA, A. RAMZA, A. MUKHAMAVA</i>
РОЛЬ АНТИЦИПАЦИИ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ НЕВРОТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ У СПОРТСМЕНОВ		THE ROLE OF ANTICIPATION PROCESSES IN PREDICTION OF NEUROTIZATION IN ATHLETES
ПАТОФИЗИОЛОГИЯ		PATHOPHYSIOLOGY
<i>А.Н. АСТАШОНОК, Н.Н. ПОЛЕЩУК, Т.В. ДОКУКИНА, С.А. ГУЗОВ</i>	28	<i>A.N. ASTASHONOK, N.N. POLESHCHUK, T.V. DOKUKINA, S.A. GUZOV</i>
ИНФЕКЦИОННЫЕ ТРАНСМИССИВНЫЕ И НЕ ТРАНСМИССИВНЫЕ АМИЛОИДОЗЫ: КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ И ИММУНОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ДЕГЕНЕРАТИВНОГО ПРОЦЕССА ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ		INFECTIOUS TRANSMISSIBLE AND NON-TRANSMISSIBLE AMYLOIDOSES: CLINICAL LABORATORY AND IMMUNOPATHOLOGICAL MARKERS OF THE DEGENERATIVE PROCESS IN CENTRAL NERVOUS SYSTEM
<i>А.Л. ВАЛЕНТЮКЕВИЧ, В.Д. МЕЛАМЕД, С.А. ЧИЖИК, А.И. ОСЛАВСКИЙ</i>	37	<i>A.L. VALENTYUKEVICH, V.D. MELAMED, S.A. CHIZHIK, A.I. OSLAVSKY</i>
ТЕМПЕРАТУРНАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ КАК МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ТЯЖЕСТИ ХОЛОДОВОЙ ТРАВМЫ		THERMAL IMAGING AS A METHOD FOR THE COLD INJURY SEVERITY DIAGNOSTIC
<i>О.Е. КУЗНЕЦОВ, В.М. ЦЫРКУНОВ</i>	43	<i>O.E. KUZNIATSOV, V.M. TSYRKUNOV</i>
РОЛЬ ЭКСПРЕССИИ МУЦИНОВ В ПРОГРЕССИИ ОПУХОЛИ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА И ИХ ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ		CLINICAL SIGNIFICANCE OF MUCINS AS MARKERS OF COLON TUMOR
<i>М.В. ТАЛАБАЕВ, А.Ю. СОЛОВЬЕВА, С.Л. КУЛИКОВА, Ю.Г. ШАНЬКО, К.Ф. ВЕНЕГАС</i>	52	<i>M.V. TALABAEV, H.Y. SALAUYEVA, S.L. KULIKOVA, Y.G. SHENKO, K.F. VENEGAS</i>
ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ УДАЛЕНИЯ НОВООБРАЗОВАНИЙ, РАСПОЛОЖЕННЫХ В ФУНКЦИОНАЛЬНО ЗНАЧИМЫХ ОТДЕЛАХ КОРЫ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА		FUNCTIONAL RESULTS AFTER REMOVAL OF ELOQUENT BRAIN AREA TUMORS
МОРФОЛОГИЯ		MORPHOLOGY
<i>М.Э. СУЛТАНЛЫ</i>	58	<i>M.E. SULTANLY</i>
УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АКСО-ДЕНДРИТИЧЕСКИХ И АКСО-СОМАТИЧЕСКИХ СИНАПСОВ В ОРБИТО-ФРОНТАЛЬНОЙ КОРЕ БЕЛЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС НА ФОНЕ МАЛОБЕЛКОВОЙ ПИЩИ ПОСЛЕ ОСТРОГО ЗВУКОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ		ULTRASTRUCTURAL CHARACTERISTICS OF AXO-DENDRITIC AND AXO-SOMATIC SYNAPSE IN THE ORBITO-FRONTAL CORTEX OF WHITE LABORATORY RATS ON A BACKGROUND OF LONG-PROTEIN FOOD AFTER ACUTE SOUND EXPOSURE
БИОХИМИЯ		BIOCHEMISTRY
<i>Т.М. ЮРАГА</i>	64	<i>T.M. JURAGA</i>
«ГУМОРАЛЬНОЕ ЗДОРОВЬЕ» ЧЕЛОВЕКА: БИОХИМИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ И ИХ ОЦЕНКА ПРИ МОЧЕКАМЕННОЙ БОЛЕЗНИ		«HUMORAL HEALTH» OF THE HUMAN: BIOCHEMICAL CRITERIA AND THEIR EVALUATION FOR URELINE DISEASE
<i>А.К. СЕМЕНЧУК, В.В. ЛЕЛЕВИЧ</i>	70	<i>A.K. SEMENCHUK, V.V. LELEVICH</i>
ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ АЛКОГОЛИЗАЦИИ НА ПУЛ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ ПЕЧЕНИ, СКЕЛЕТНОЙ МУСКУЛАТУРЫ И МИОКАРДА КРЫС		THE INFLUENCE OF VARIOUS TYPES OF ALCOHOLIZATION ON THE POOL OF SULFUR-CONTAINING COMPOUNDS OF THE LIVER, SKELETAL MUSCLES AND MYOCARDIUM OF RATS

ФИЗИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА И КУРОРТНАЯ ТЕРАПИЯ	PHYSICAL MEDICINE AND RESORT THERAPY
<i>Е.И. ВЕНСКАЯ, Л.М. ЛУКЬЯНЕНКО, А.С. СКОРОБОГАТОВА, Е.И. СЛОБОЖАНИНА</i>	76 <i>E.I. VENSKAYA, L.M. LUKYANENKO, A.S. SKARABAHATAVA, E.I. SLOBOZHANINA</i>
ЭФФЕКТЫ СОЧЕТАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ АМИЛОИДОВ И ТРЕТ-БУТИЛГИДРОПЕРЕКИСИ НА ЛИМФОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА	THE COMBINED EFFECT OF AMYLOIDS AND TRET-BUTYL HYDROPEROXIDE ON THE HUMAN LYMPHOCYTES
<i>Н.Д.ТИТКОВА, С.В. ГУБКИН, С.А. ЛЫСЕНКО, Э.С. КАШИЦКИЙ</i>	84 <i>N.D.TITKOVA, S.V. GUBKIN, S.A. LYSENKO, E.S. KASHITSKIY</i>
ГЕОЭКОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ РЕГИОНАЛЬНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОЗДУШНОГО БАСЕЙНА РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ПЕРСПЕКТИВНЫХ НАПРАВЛЕНИЙ ИНДУСТРИИ ТУРИЗМА	GEOECOLOGICAL SITUATION OF REGIONAL POLLUTION OF THE AIR BASIN OF THE REPUBLIC OF BELARUS IN DETERMINING PROMISING AREAS OF TOURISM INDUSTRY
БИМЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ	BIOMEDICAL TECHNOLOGY
<i>Н.В. СИВЕЦ</i>	98 <i>N.V. SIVETS</i>
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ БОКАРПОВИРУСОВ, ВЫЯВЛЕННЫХ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ	MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF BOCAPARVOVIRSES DETECTED IN THE REPUBLIC OF BELARUS
<i>Н.В. ПОКЛОНСКАЯ, Т.В. АМВРОСЬЕВА, Ю.Б. КОЛТУНОВА, Ю.А. ШИЛОВА, И.В. БЕЛЬСКАЯ</i>	104 <i>N.V. PAKLONSKAYA, T.V. AMVROSIEVA, YU.B. KALTUNOVA, YU.A. SHILOVA, I.V. BELSKAYA</i>
СЛЕЖЕНИЕ ЗА ЦИРКУЛЯЦИЕЙ ВИРУСОВ НА ОСНОВЕ МОНИТОРИНГА СТОЧНЫХ ВОД – КАК ЭФФЕКТИВНЫЙ ИНСТРУМЕНТ КОНТРОЛЯ ЗА ИНФЕКЦИЯМИ И ПРОФИЛАКТИКИ БИОЛОГИЧЕСКИХ УГРОЗ	WASTEWATER BASED EPIDEMIOLOGY AS AN EFFECTIVE TOOL FOR INFECTION SURVEILLANCE AND BIOLOGICAL HAZARDS PREVENTION
<i>А.М.СУББОТИН, И.И.СМИЛЫГИНЬ, И.А.ДАРОВСКИХ, И.А.СУББОТИНА</i>	112 <i>A.M. SUBOTSIN, I.I. SMILHIN, I.A. DAROUSKIKH, I.A. SUBOTSINA</i>
РАБОТА ВЕТЕРИНАРНОЙ СЛУЖБЫ В РАМКАХ ОБЕСПЕЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ	WORK OF THE VETERINARY SERVICE WITHIN THE FRAMEWORK OF ENSURING THE BIOLOGICAL SAFETY OF THE REPUBLIC OF BELARUS
<i>Г.В.МОЗГОВА, А.В. КИЛЬЧЕВСКИЙ, А.Н. ОСТРОВСКАЯ, Т.В. ЖЕЛЕЗНОВА, Н.И. ДРОБОТ, В.С. ОСТАПЧИК, А.М. КРИВЕЦКАЯ</i>	118 <i>G.V. MOZGOVA, A.V. KILCHEVSKY, A.N. ASTROUSKAYA, T.V. ZHIALIAZNOVA, N.I. DROBAT, V.S. ASTAPCHUK, A.M. KRIVETSKAYA</i>
МЕТОДИКА ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ БЕЗОПАСНОСТИ В ОТНОШЕНИИ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫХ ОРГАНИЗМОВ	METHODOLOGY TO ASSESS THE NATIONAL SECURITY STATE WITH REGARD TO GENETICALLY ENGINEERED ORGANISMS
<i>А.М. ДРОНИНА, А.Л. ЛЕШКЕВИЧ, И.А. СУББОТИНА, Г.В. МОЗГОВА, Т.В. ЖЕЛЕЗНОВА, И.А. ДАРОВСКИХ, Е.С. НОСОВА, В.Ю. АРЧАКОВ, А.М. СУББОТИН, П.И. САВКОВ, В.А. ГОРБУНОВ, М.О. ДОСИНА, А.В. КИЛЬЧЕВСКИЙ, А.А. ТАРАСЕНКО</i>	126 <i>A.M. DRONINA, A.L. LESHKEVICH, I.A. SUBOTSINA, G.V. MOZGOVA, T.V. ZHELEZNOVA, I.A. DAROUSKIKH, E.S. NOSOVA, V.YU. ARCHAKOV, A.M. SUBOTSIN, P.I. SAVKOV, V.A. GORBUNOV, M.O. DOSINA, A.V. KILCHEVSKY, A.A. TARASENKO</i>
ОСНОВНЫЕ ТЕНДЕНЦИИ И НАЦИОНАЛЬНЫЕ ИНТЕРЕСЫ В ОБЛАСТИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ	MAJOR TRENDS AND NATIONAL INTERESTS IN THE FIELD OF BIOLOGICAL SAFETY
<i>Е.Н. КРОТКОВА, М.О. ДОСИНА</i>	133 <i>E.N. KROTKOVA, M.O. DOSINA</i>
СИСТЕМА ПОДГОТОВКИ НАУЧНЫХ КАДРОВ КАК КОМПОНЕНТ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ В ЗДРАВООХРАНЕНИИ	SYSTEM OF SCIENTIFIC PERSONNEL TRAINING AS A COMPONENT OF SCIENTIFIC AND TECHNICAL SAFETY OF THE REPUBLIC OF BELARUS IN HEALTH CARE
ОБЗОРНЫЕ И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ	REVIEWS AND PROBLEM ARTICLES
<i>В.В. СОЛТАНОВ, В.А. СЕРГЕЕВ, Л.М. КОМАРОВСКАЯ</i>	140 <i>V.V. SOLTANOV, V.A. SERGEEV, L. M. KOMAROVSKAYA</i>
МЕХАНИЗМЫ МОДУЛЯЦИИ МОТОРИКИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА В УСЛОВИЯХ ФОРМИРОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО КОЛИТА	MECHANISMS OF MODULATION OF GASTROINTESTINAL MOTILITY IN CONDITIONS OF EXPERIMENTAL COLITIS FORMATION

А.А. ЛАКУТИН

**ВЕКТОРНЫЙ ПОДХОД В ОПИСАНИИ
ВОСПРИЯТИЯ ПРИ ЗРИТЕЛЬНОЙ ПРЕДМЕТНОЙ
АГНОЗИИ**

Т.И.ТЕРПИНСКАЯ

**МЕХАНИЗМЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ
РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОПУХОЛЕЙ: КРАТКИЙ ОБЗОР
СОВРЕМЕННЫХ ДАННЫХ**

А.М. ДРОНИНА, И.С. ЗАДОРА, Т.С. ГУЗОВСКАЯ

**ЭМЕРДЖЕНТНЫЕ БОЛЕЗНИ XXI ВЕКА: ОСПА
ОБЕЗЬЯН**

ОТ РЕДАКЦИИ

**ПОЛЕЗНЫЕ МЫСЛИ И АФОРИЗМЫ ВЕЛИКИХ
ЛЮДЕЙ**

А. С. ХОМЯКОВ (из записных книжек профессора
В. С. Улащика)

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

А.А. LAKUTIN

**153 VECTOR APPROACH TO DESCRIPTION OF
PERCEPTION IN VISUAL OBJECT AGNOSIA**

T.I.TERPINSKAYA

**160 MECHANISMS OF DRUG RESISTANCE IN CANCER: A
BRIEF REVIEW OF THE CURRENT DATA**

A.M. DRONINA, I.S. ZADORA, T.S. GUZOVSKAYA

**175 EMERGENT DISEASES OF THE XXI CENTURY:
MONKEYPOX**

EDITORIAL NOTES

**182 USEFUL IDEAS AND APHORISMS OF GREAT
PEOPLE**

A.S. CHOMIAKOV
(from Prof. V. S. Ulashchik's record books)

184 INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

УДК 612+796.01

Е.М. СТЕПАНОВА

ВЛИЯНИЕ КАТОДНОЙ ТРАНСКРАНИАЛЬНОЙ МИКРОПОЛЯРИЗАЦИИ НА СВОЙСТВА ВНИМАНИЯ У СПОРТСМЕНОВ

РНПЦ спорта, Минск, Беларусь

Изучено влияние транскраниальной микрополяризации на свойства внимания и общий психофизиологический статус спортсменов. В рамках исследования использовался катодный метод поляризации, эффект от процедур оценивался с помощью психологического и психофизиологического аппаратного тестирования. Выявлены достоверные улучшения функционального состояния, устойчивости реакций, повышение уровня функциональных возможностей, повышение точности и стабильности зрительно-моторных реакций, повышение концентрации внимания при тестировании помехоустойчивости. Отмечается положительное влияние на различные свойства внимания: избирательность, объем, распределение и переключение.

Ключевые слова: транскраниальная микрополяризация, ТКМП, катодная поляризация, свойства внимания, tDCS.

Введение. Исследование проводилось в рамках мероприятия «Разработать и внедрить методику немедикаментозного повышения концентрации внимания и когнитивных функций спортсменов с использованием транскраниальной микрополяризации». В соответствии с поставленными задачами были проведены динамические наблюдения за характеристиками внимания спортсменов с использованием методик субъективного опроса, психологического и психофизиологического тестирования под воздействием транскраниальной микрополяризации (ТКМП).

ТКМП – это неинвазивная технология воздействия слабым постоянным током на нервную систему, применяемая в терапевтических целях в неврологии и психиатрии. Биоэлектрические процессы обеспечиваются за счет работы ионных каналов клеточных мембран, и при эквивалентном калий-натриевом обмене заряд остается постоянным. Неинвазивное воздействие постоянного тока слабой силы (порядка 1мкА) вызывает в биологических системах нарастание сопротивления, противоположной электродвижущей силы, что и лежит в основе явления поляризации. При катодной поляризации происходит инактивация сначала потенциалзависимых калиевых каналов, а затем натриевых, что приводит к уменьшению возбудимости ткани. При этом возбудимость нейронов меняется не только в местах воздействия, но и в отдаленных структурах мозга за счет транссинаптических связей, а также, поскольку поляризационные токи имеют свойство больше распространяться по межклеточным пространствам, незначительно преодолевая сопротивление клеточных мембран [1; 2]. Воздействие направленной поляризации слабым постоянным током в зоне лобной проекции головного мозга позволяет оптимизировать функциональное состояние нервной ткани, влиять на мышечный тонус и психофизиологические характеристики, стабилизировать эмоциональное состояние и улучшать когнитивные функции [3].

Материалы и методы. В исследовании на добровольной основе с использованием информированного согласия приняли участие спортсмены национальных и сборных команд. Психофизиологическое тестирование и проведение сеансов ТКМП проводилось на базе лаборатории психологии спорта ГУ «РНПЦ спорта» (г. Минск). В итоговый анализ вошли результаты обследований 24 человек, из них 11 мужчин (средний возраст 25,4±7,4) и 13 женщин (средний возраст 32,7±5,8), которые прошли в сумме 156 сеансов ТКМП и 164 человеко-обследования (до и после 1, 2, 3, 5 и 10 сеансов).

Проводимая в рамках исследования процедура ТКМП заключается в технологии направленной катодной поляризации коры головного мозга путем воздействия постоянного тока 0,3–0,8 мА (плотностью до 0,03 мА/см²) через поверхностные электроды (площадью до 500 мм²), располагаемые симметрично на лобной части головы и на сосцевидных отростках за ушами.

Влияние ТКМП оценивали путем проведения психофизиологического тестирования непосредственно до процедуры ТКМП и сразу после. В связи с длительностью проведения процедуры тестирования контроль влияния ТКМП осуществлялся не на каждом сеансе (чаще на 1, 2, 3, 5 и 10 сеансах). Программа тестирования проводилась с использованием аппаратно-программного комплекса «НС-Психотест» и включала следующие методики: Простая и сложная зрительно-моторная реакция, Реакция на движущийся объект, Оценка внимания, Помехоустойчивость, Восемьцветовой тест Люшера, Тест Мюнстерберга и Таблицы Шульте-Горбова.

Статистический анализ проводился с использованием ПО SPSS Statistics 17,0 и 19,0. Для проверки нормальности распределения применялся тест Колмогорова-Смирнова, по результатам которого для сравнения эффекта до и после процедур ТКМП использовался критерий Уилкоксона либо парный t-критерий Стьюдента (при нормальном распределении). Для выявления меры связи номинальных переменных использовались Эта-коэффициент (η), для числовых переменных с нормальным распределением коэффициент корреляции Пирсона и коэффициент корреляции Тау-в Кендалла при распределении, отличающемся от нормального.

Результаты и их обсуждение. Если анализировать в среднем эффект от сеансов ТКМП, то после проведения процедур ТКМП чаще отмечается незначительное улучшение функционального состояния, устойчивости реакций и повышение уровня функциональных возможностей, снижается частота ошибок в простой и сложной зрительно-моторной реакции. Также следует отметить существенное снижение среднеквадратичного отклонения в простой и сложной зрительно-моторной реакции, в реакции на движущийся объект, а также при оценке внимания, что может говорить о повышении стабильности моторных реакций. Однако при тестировании помехоустойчивости происходит увеличение среднего значения времени реакции и среднеквадратичного отклонения, при этом незначительно возрастают значения функционального состояния, устойчивости реакций и уровня функциональных возможностей.

В среднем, после проведения ТКМП достоверно повышается скорость выполнения теста Мюнстерберга. Увеличение количества правильных ответов свидетельствует об улучшении избирательности внимания, также существенно снижается количество ошибок. Увеличивается объем внимания, о чем говорит повышение количества просмотренных букв по данному тесту. Также сокращается общее число ошибок и время выполнения заданий на внимание по таблицам Шульте-Горбова (рисунок 1). Улучшается объем, распределение и переключение внимания.

Анализ изменений психофизиологических показателей и свойств внимания по каждому участнику исследования, несмотря на некоторые индивидуальные отличия, показал динамику, сходную с вышеописанной, причем данные тенденции оказались более выражены у мужчин, чем у женщин. У женщин чаще наблюдалось наличие индивидуальных особенностей психофизиологической реакции на сеансы ТКМП.

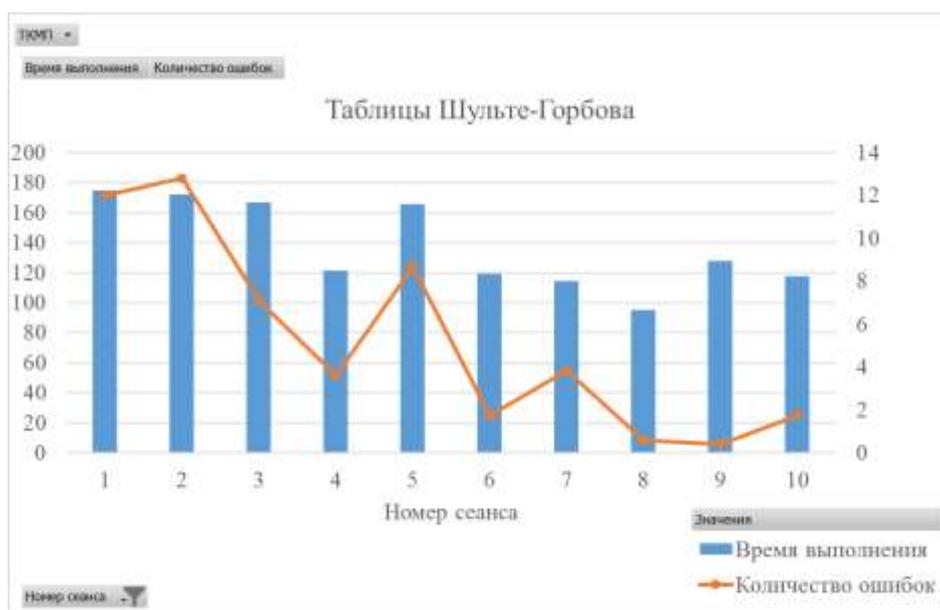


Рис. 1. Динамика изменения показателей времени выполнения заданий в таблицах Шульте-Горбова и количества ошибок в зависимости от номера сеанса ТКМП

Корреляционный анализ позволил выявить наличие линейной связи между некоторыми показателями до и после сеанса ТКМП (таблица 1). Однако это еще не позволяет говорить о причинно-следственной связи с эффектом от воздействия процедуры, поэтому был проведен дальнейший статистический анализ.

Табл. 1. Результаты анализа парных корреляций показателей с нормальным распределением до и после сеансов ТКМП

Показатель	Коэффициент парной корреляции Пирсона (r)	Уровень значимости (p)
Вегетативный коэффициент	0,56	0,00
ФУС ПЗМР	0,17	0,14
УР ПЗМР	0,28	0,02
УФВ ПЗМР	0,34	0,00
Среднее значение времени реакции СЗМР	0,77	0,00
ФУС (Внимание)	0,37	0,00
УР (Внимание)	0,23	0,05
УФВ (Внимание)	0,27	0,02
Устойчивость внимания	0,18	0,13
Концентрация внимания	-0,07	0,57
ФУС (Помехоустойчивость)	0,17	0,16
УР (Помехоустойчивость)	0,23	0,06
УФВ (Помехоустойчивость)	0,23	0,06
Объем внимания (Шульте-Горбова)	0,76	0,00
Распределение внимания (Шульте-Горбова)	0,51	0,00
Переключаемость внимания (Шульте-Горбова)	0,13	0,32
Общее количество ошибок (Шульте-Горбова)	0,55	0,00
Время выполнения (Шульте-Горбова)	0,70	0,00
Условные обозначения: ПЗМР – простая зрительно-моторная реакция; СЗМР – сложная зрительно-моторная реакция; ФУС – функциональный уровень системы; УР – устойчивость реакций; УФВ – уровень функциональных возможностей		

Парное сравнение средних значений показателей внимания выявило достоверные различия до и после процедур ТКМП по тесту Шульте-Горбова (таблица 2), которые показывают улучшение всех показателей по мере прохождения курса ТКМП.

Табл. 2. Результаты анализа статистической значимости эффекта от проводимых сеансов ТКМП методом парного сравнения средних значений показателей по тесту Шульте-Горбова

Показатель (таблицы Шульте-Горбова)	Значение t-критерия Стьюдента	Количество степеней свободы	Уровень значимости двусторонний (p)
Объем внимания	2.143	64	0.036
Распределение внимания	3.134	64	0.003
Переключаемость внимания	2.366	64	0.021
Общее количество ошибок	1.877	64	0.065
Время выполнения	3.625	63	0.001

При сравнении средних значений показателей внимания до и после процедур ТКМП было выявлено достоверное изменение концентрации внимания при тестировании помехоустойчивости ($Z=-3,58$; $p=0,00$), относительно других показателей критерий Уилкоксона не выявил достоверных различий средних значений.

Вегетативный коэффициент имеет тенденции к снижению после процедуры ТКМП, что закономерно связано с ингибирующим эффектом катодной стимуляции, поскольку имеет место снижение возбудимости коры головного мозга. Причем при исходном возбужденном состоянии этот эффект благоприятен и приводит к стабилизации эмоционального состояния. А в случае, когда исходный уровень находился в пределах оптимальных значений, иногда отмечалось некоторое временное снижение вегетативного коэффициента сразу после сеанса ТКМП, что проявлялось в снижении энергичности, умеренной потребности в отдыхе.

Также результаты анализа данных показали, что стабильность реакций на движущийся объект достоверно снижается только после первого сеанса ТКМП, при последующих процедурах данный показатель имеет тенденцию к повышению после каждого сеанса (рисунок 2). Отношение шансов повысить уровень стабильности реакций на движущийся объект достоверно возрастает в 3 раза к пятому сеансу ТКМП (OR=3,0; CI: 0,199-45,24).

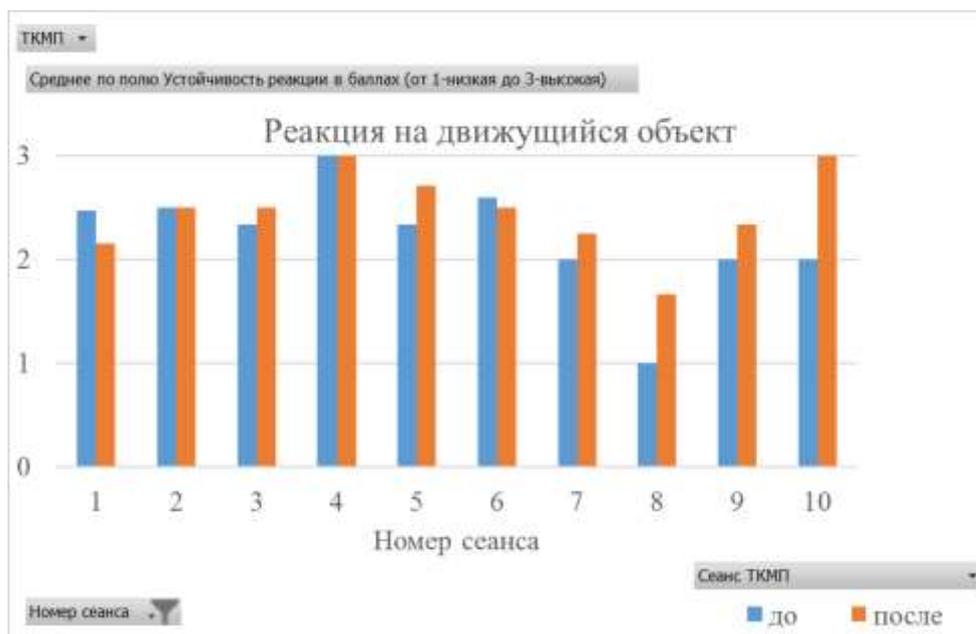


Рис. 2 Динамика изменения показателя стабильности реакций на движущийся объект до и после сеансов ТКМП

Заключение. Анализ данных проведенного исследования позволяет сделать вывод о положительном эффекте ТКМП на функциональное состояние спортсмена, в том числе на устойчивость реакций и уровень функциональных возможностей. Повышается точность зрительно-моторных реакций за счет снижения количества ошибок, также скорость реакций становится более стабильной, о чем свидетельствует снижение среднеквадратичного отклонения. Обнаружены достоверные улучшения свойств внимания: избирательность, объем, распределение и переключение. Кроме того, выявлены тенденции к повышению концентрации внимания в условиях помех. Стабильность реакций на движущийся объект повышается примерно в 3 раза уже к пятому сеансу ТКМП.

Однако за счет ингибирующего эффекта катодной стимуляции отмечается некоторое снижение вегетативного коэффициента и снижение скорости реакции при тестировании помехоустойчивости.

Таким образом, прослеживается эффективность курсового применения ТКМП с целью немедикаментозного повышения функционального состояния спортсменов и улучшения свойств внимания.

Литература

- [1]. *Шелякин, А.М.* и др. Микрополяризационная терапия в детской неврологии / А.М. Шелякин, И.Г. Преображенская, О.В. Богданов. – М.: МЕДКНИГА, 2008. – 121 с.

- [2]. Чайванов, Д.Б.; Каркищенко, Н.Н. Математическая модель биофизических процессов при транскраниальной микрополяризации / Д.Б. Чайванов, Н.Н. Каркищенко // Биомедицина, 2011. 3. С.6-11.
- [3]. Применение комплексной медицинской технологии нейромодуляции. Методические рекомендации. М.: ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России», 2017. 65 с.

A. STSIAPANAVA

THE EFFECT OF CATHODAL TRANSCRANIAL DIRECT-CURRENT STIMULATION ON ATTENTION IN ATHLETES

Republican Scientific and Practical Center for Sports, Minsk, Belarus

Summary

The effect of transcranial direct current stimulation on the properties of attention and the general psychophysiological status of athletes is studied. As part of the study, the cathodal polarization method was used, the effect of procedures was evaluated using psychological and psychophysiological testing. Revealed reliable improvements in the functional state, the stability of the reactions, the increase in the level of functionality, increase the accuracy and stability of senso-motor reactions, an increase in the concentration of attention when testing noise immunity. There is a positive impact on various properties of attention: selectivity, volume, distribution and switching.

Keywords: transcranial direct current stimulation, cathode polarization, attention, TDCS.

УДК 615.015.1:616.8-001.5

О.Н. САВАНЕЦ, Е.В. КРАВЧЕНКО

PRO-GLY МОДИФИЦИРУЕТ РИТМЫ ЛОКОМОТОРНОЙ АКТИВНОСТИ КРЫС WISTAR, ПОДВЕРГШИХСЯ НЕИЗБЕЖАЕМОМУ СТРЕССУ

Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

У крыс линии Wistar с пассивным фенотипом реакции на стресс, подвергшихся принудительному плаванию (ПП), Pro-Gly (0,5 мг/кг, и/г) приближал параметры ритма горизонтальной двигательной активности к таковым у животных без ПП: нивелировал 12-часовые ритмы, противодействовал миграции акрофазы 24-часовых ритмов вправо; в «светлый» период на фоне «новизны» обстановки элиминировал 24-минутные ритмы, облегчал процессы габитуации, нарушенные стрессом.

Ключевые слова: Pro-Gly, стресс, циркадианный ритм, ультрадианный ритм, крысы

Введение. Известно, что нарушения ритмической организации физиологических функций развиваются на фоне неврозов, стрессовых реакций [3]. Нонапептид окситоцин (ОТ) характеризуется нейротрансмиссерной, модуляторной и регуляторной активностью в отношении центральной нервной системы, обладает хронотропным действием [11], что обуславливает изучение производных указанного нейрогомона в качестве перспективных соединений с соответствующей активностью. В недавних исследованиях выявлено, что синтетические дипептиды, структурно родственные С-концевому фрагменту ОТ, в частности, пролинсодержащие дипептиды Pro-Gly и Pro-Leu, модулируют короткопериодные биоритмы горизонтальной двигательной активности (ГДА) мышей в условиях слабого стресса «новизны» [5]. Pro-Leu корригирует нарушения циркадианных ритмов подвижности, вызванных хроническим инъекционным стрессом, у крыс SHR [4]. Вместе с тем, хронотропное влияние соединения Pro-Gly в отношении циркадианных ритмов активности, в условиях умеренного стресса не изучено.

Немаловажной проблемой остается изучение и анализ индивидуальной вариабельности действия Pro-Gly. Известно, что животные разных линий характеризуются неодинаковой организацией хронобиологических процессов [4]. Описаны индивидуальные различия «ответа» аутбредных крыс-самцов на хронофармакологическое действие антидепрессантов (амитриптилин, имипрамин) [1], анксиолитиков (тофизопам) [3], а также – резерпина [1], кофеина [2], мелатонина [3].

Цель работы – изучение влияния дипептида Pro-Gly на циркадианные и ультрадианные ритмы локомоторной активности аутбредных крыс-самцов Wistar (животных с пассивным фенотипом реакции на стресс и особой не ранжированной популяции), подвергшихся неизбежному стрессу.

Материалы и методы. Исследования проводили с использованием 23 половозрелых крыс-самцов Wistar с массой тела 250 – 350 г, полученных в секторе биоиспытаний Института биоорганической химии НАН Беларуси.

По данным литературы, между степенью синхронизированности колебательных процессов и чувствительностью к стрессированию существует прямая зависимость [2, 3]. Среди крыс неранжированной популяции выявляли животных, характеризовавшихся отсутствием активных перемещений (freezing-реакция либо отсутствие локомоции или вертикальных стоек) в ответ на стрессирующее воздействие – акустический стимул (100-110 дБ; уровень звукового давления определяли с использованием аппарата RadioShack, China). Спустя 15 мин животные подвергались неизбежному стрессу в условиях «принудительного плавания» (ПП) [10]. Грызунов помещали двукратно на 16 мин в цилиндрический бассейн (диаметр сосуда – 30 см, высота – 66 см), наполненный водой. Уровень воды в бассейне составлял 38 см, температура – 25 °С [10]. Интервал между сеансами 1 и 2 составлял 24 ч. По окончании сеанса 2 животных обсушивали, обогревали и после 20 мин перерыва поодиночке помещали в боксы актометра «Универсал 22–32» (РБ).

Животные, не подвергавшиеся «инъекционному» стрессу и ПП, вошли в группу КГ-1А (n=7). Особям контрольной группы КГ-2А (n=10) за 15 мин до начала сеанса 2 ПП вводили растворитель (дистиллированная вода) интраназально, а крысам основной группы ОГ (n=6) – дипептид Pro-Gly (Sigma-Aldrich, США) в дозе 0,5 мг/кг интрагастрально (и/г). В процессе ранжирования среди 23 крыс

Wistar выявлено 19 особей с пассивным фенотипом поведенческой реакции на интенсивное акустическое воздействие: таких грызунов из числа крыс группы КГ-1А отнесли к группе КГ-1Б (n=5), из группы КГ-2А – к группе КГ-2Б (n=8). У всех животных ОГ (n=6) был выявлен пассивный тип поведения.

Исследования осуществлялись в осенний период года (сентябрь-ноябрь) в режиме «день»/«ночь»: «день» – с 16:45 до 20:40 и с 08:40 до 10.45 (для стрессированных крыс); с 17:15 до 20:40 и с 08:40 до 11:15 (для особей, не подвергшихся ПП); «ночь» – с 20:40 до 08:40; средняя освещенность на дне боксов составила 14.8 ± 1.8 лк.

Оценку ультрадианных ритмов проводили в условиях искусственного освещения (с 16:45 до 18:45 у крыс после ПП и с 17:15 до 19:15 – у грызунов без ПП) и в период полной темноты (20.45-22.45). Эксперименты выполнены в соответствии с Хельсинкской Декларацией о гуманном обращении с животными.

Регистрировали уровень ГДА грызунов; полученные данные выражали в усл. ед., соответствующих числу пересечений инфракрасных лучей в горизонтальной плоскости. Посредством компьютерной программы методом косинор-анализа определяли амплитуду ритма (A) и акрофазу (φ), как описано ранее [4]. При обработке результатов методом Cosinor-анализа в расчёты не включали данные за первый час (для циркадианных ритмов) и за первую мин регистрации (для ультрадианных ритмов), поскольку в указанный период изменения ГДА связаны преимущественно не с колебательным процессом, а с реакцией на «новизну» обстановки. Кроме того, определяли уровень активности животных в центральной зоне (ЦЗ; доля от суммарной горизонтальной и вертикальной активности, %). Обработку результатов осуществляли с помощью программного обеспечения Cosinor 2.5, CorelDRAW, Biostat 4.03, Origin 6.1.

Результаты и их обсуждение. Циркадианные биоритмы. У животных групп КГ-1А и КГ-1Б, не подвергшихся ПП, отмечена типичная для ночных животных хронограмма с акрофазой ритма, приходившейся на вечернее время суток (табл. 1). Имел место подъём активности в вечерний период (18:21 и 18:39) и в утренние часы (начало «светлого» периода) (рис.1).

У крыс неранжированной популяции (КГ-1А) отмечался чётко выраженный высокоамплитудный ритм с превалирующей в спектрограмме 24-часовой составляющей ($p < 0,05$); у грызунов группы КГ-1Б отсутствовали значимые ритмы 24-часовой гармоник (табл. 1). Акрофаза у особей обеих сопоставляемых групп приходилась на начало 2 часа актометрии (табл. 1).

Табл. 1. Параметры 24- и 12-часовых ритмов ГДА крыс Wistar, не подвергавшихся ПП

Группа/число животных	Ритмы ГДА					
	24 ч			12 ч		
	А, усл.ед.	φ , ч:мин	p	А, усл.ед.	φ , ч:мин	p
КГ-1А (N=7)	428,9	18:21	$p < 0,05$	195,0	00:03	-
КГ-1Б (N=5)	517,1	18:39	-	302,3	23:27	-

Примечание: здесь и далее КГ-1А – грызуны неранжированной популяции; КГ-1Б – особи с пассивным типом реагирования на стресс; ГДА – горизонтальная двигательная активность; ПП – принудительное плавание

Статистически значимое снижение активности в сравнении с периодом наиболее высокого уровня локомоции (1 час регистрации) отмечалось в КГ-1А в 5, 11, 13, 14, 16 час, для КГ-1Б – в 5, 8, 11, 14, 16 час; со значениями в 4 час наблюдения – для КГ-1А в 5, 11, 13, 14, 15, 16 час, для КГ-1Б – в 5, 11, 14 час (рис. 1). Таким образом, для животных КГ-1А и КГ-1Б по истечении 10 часов с начала актометрии в условиях снижения стрессогенности обстановки с периодичностью 2-3 часа (рис. 1) отмечались пики активности. По данным [3], 2-4 часовые ритмы были отмечены у интактных крыс и расцениваются как компоненты «нормального» ритма.

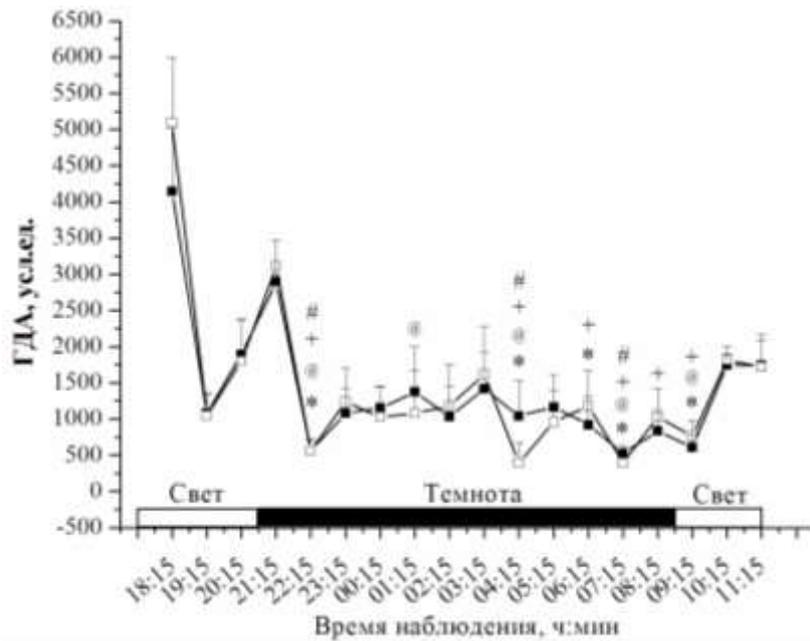


Рис. 1. Динамика ГДА крыс Wistar, не подвергавшихся ПП. —■— — неранжированная популяция – КГ-1А; —□— — особи с пассивным фенотипом поведения КГ-1Б; различия статистически значимы: * – в сравнении с 1 часом для КГ-1А; @ – то же для КГ-1Б; + – в сравнении с 4 часом для КГ-1А, # – то же для КГ-1Б; $p < 0,05$, критерий Фридмана с последующей обработкой данных по критерию Даннета

Известно, что «инъекционный» стресс отражается на циркадианном ритме локомоции крыс и его динамике, вызывая снижение ночной активности и миграцию акрофазы вправо [2]. ПП индуцировало сдвиг акрофазы у грызунов вправо на 1 час и более в сравнении с крысами без ПП: значения ϕ были равны 19:27 в группе КГ-2А и 19:09 – у особей КГ-2Б (табл. 1 и 2); Pro-Gly способствовал менее выраженному сдвигу акрофазы вправо (18:51) (табл. 2). Неизбегаемый стресс «вытеснял» 24-часовые и вызывал формирование статистически значимых «патологических» [2] ультрадианных 12-часовых ритмов ГДА в группах КГ-2А и КГ-2Б ($p < 0,05$); биоритмы указанной гармоникой отсутствовали у нестрессированных грызунов (табл. 1) и у крыс, получавших Pro-Gly (табл. 2).

Табл. 2. Влияние Pro-Gly (0,5 мг/кг, и/г) на параметры 24- и 12-часовых ритмов ГДА крыс Wistar, подвергшихся ПП

Группа/число животных	Ритмы ГДА					
	24 ч			12 ч		
	А, усл.ед.	ϕ , ч:мин	p	А, усл.ед.	ϕ , ч:мин	p
КГ-2А (N=10)	372,2	19:27	-	237,6	20:27	$p < 0,05$
КГ-2Б (N=8)	368,1	19:09	-	273,0	19:57	$p < 0,05$
ОГ (N=6)	351,8	18:51	-	221,5	20:57	-

Примечания: здесь и далее КГ-2А – особи неранжированной популяции; КГ-2Б и ОГ (Pro-Gly) – грызуны с пассивным фенотипом поведения

У особей КГ-2Б на всём протяжении актометрии не было выявлено статистически значимых различий локомоции в сравнении с 1 и 4 часом, а у животных всех групп, подвергшихся неизбежному плаванию, – различий с 4 часом регистрации (рис. 2). Таким образом, стресс индуцировал не только нарушения 24-часовой ритмики (табл. 2), но и элиминацию «физиологических» 2-3 часовых волн, хорошо представленных у крыс без ПП (рис. 1). Наличие на хронограмме крыс ОГ двух периодов со статистически значимым снижением локомоции и отсутствие соответствующих «минимумов» активности в КГ-2Б может говорить о приближении биоритмов к условной «норме» под действием Pro-Gly (рис. 2).

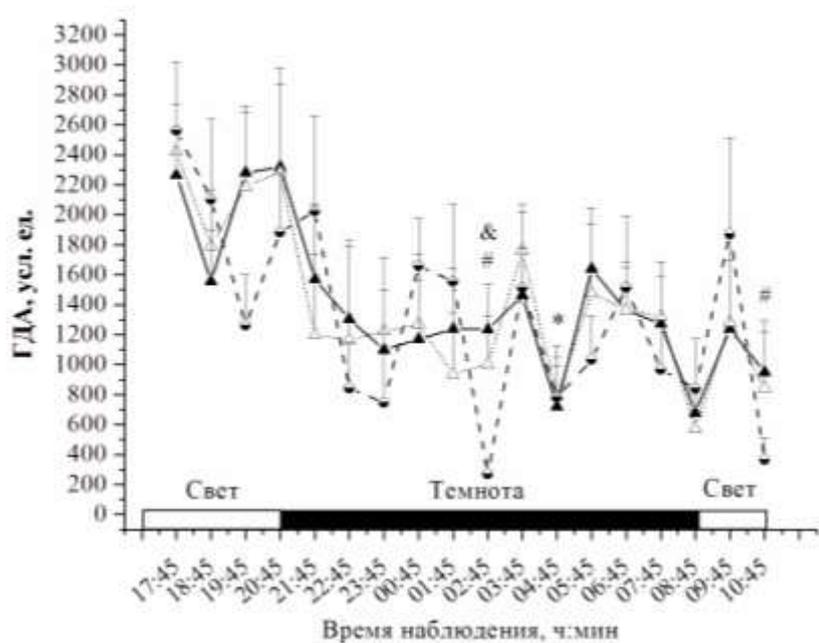


Рис. 2. Динамика ГДА крыс Wistar, подвергшихся ПП; —▲— — неранжированная популяция КГ-2А; ···△··· — особи с пассивным фенотипом поведения - КГ-2Б; —●— — Pro-Gly, 0,5 мг/кг — ОГ; различия статистически значимы: * — в сравнении с 1 часом для КГ-2А; # — то же для ОГ: $p < 0,05$, критерий Фридмана с последующей обработкой данных по критерию Даннета; & — для ОГ в сравнении с КГ-2А, $p < 0,05$, критерий Крускала-Уоллиса

Ультрадианные биоритмы. В условиях искусственного освещения статистически достоверные 24-минутные ритмы локомоторной активности наблюдались в группах КГ-1А, КГ-1Б, КГ-2А и КГ-2Б (табл. 3). Pro-Gly нивелировал достоверные ритмы 24-минутной гармоник (табл. 3), что может быть расценено как проявление антистрессорного действия дипептида в начальном периоде пребывания в боксе (обстановка «новизны») (табл. 3). Снижением стрессогенности обстановки можно объяснить отсутствие статистически достоверных 24-минутных ритмов в КГ-1А и КГ-1Б в условиях темноты (предпочтительной для грызунов) в более отдаленные сроки эксперимента (с 4 по 6 часы актометрии), когда ситуация представлялась животному менее опасной. Это подтверждает предположение об ускорении Pro-Gly процесса адаптации к «новизне» (табл. 3).

В «темный» период у животных группы КГ-2А, в отличие от крыс, не подвергшихся ПП, отмечены «патологические» ритмы 6-минутной гармоник, что указывает на десинхронизационные явления (высокая представленность высокочастотных колебаний) [2]; у крыс КГ-2Б и ОГ отмечены биоритмы 24-минутной гармоник, сопоставимые с ритмикой грызунов в незнакомой ситуации в «светлый» период (табл. 3).

Согласно данным литературы, по мере стабилизации ритма в условиях стресса, связанного с изоляцией [3], и в условиях «инъекционного» стресса [2], амплитуда ритма локомоторной активности крыс снижалась. В наших экспериментах в условиях искусственного освещения следствием ПП явилось снижение А 24-минутной гармоник как в КГ-2А в сравнении с КГ-1А, так и в КГ-2Б в сравнении с КГ-1Б (в 1,7 раза в обеих группах, $p < 0,05$); применение Pro-Gly сопровождалось повышением А ритмов 6-, 12-, но не 24-минутной гармоник ($p > 0,05$). В «темный» период у крыс групп КГ-2А и КГ-2Б, подвергшихся ПП, показатели амплитуды снижались относительно таковых у особей КГ-1А и КГ-1Б для 24- и 6-минутной гармоник; введение Pro-Gly способствовало повышению относительно уровня КГ-2Б А всех исследуемых гармоник, в том числе амплитуды 24-минутной гармоник — в 1,7 раза ($p < 0,05$), приближая значения соответствующего показателя к уровню «нормы» (табл. 3).

Табл. 3. Влияние однократного введения Pro-Gly (0,5 мг/кг, и/г) на параметры ГДА ультрадианных ритмов крыс Wistar

Группа/число животных	Режим освещения	Ультрадианные ритмы ГДА					
		24 мин		12 мин		6 мин	
		А, усл.ед.	<i>p</i>	А, усл.ед.	<i>p</i>	А, усл.ед.	<i>p</i>
КГ-1А (N=7)	искусственное освещение – «светлый» период	49,3	<i>p</i> <0,05	19,9	-	20,2	-
КГ-1Б (N=5)		58,6	<i>p</i> <0,05	17,5	-	19,9	-
КГ-2А (N=10)		28,8	<i>p</i> <0,05	9,4	-	3,3	-
КГ-2Б (N=8)		33,8	<i>p</i> <0,05	5,1	-	4,0	-
ОГ (N=6)		13,2	-	9,7	-	12,0	-
КГ-1А (N=7)	отсутствие искусственного освещения – «тёмный» период	15,3	-	4,1	-	8,1	-
КГ-1Б (N=5)		21,5	-	1,8	-	9,6	-
КГ-2А (N=10)		11,0	-	4,9	-	3,3	<i>p</i> <0,05
КГ-2Б (N=8)		10,0	<i>p</i> <0,05	3,9	-	1,8	-
ОГ (N=6)		16,8	<i>p</i> <0,05	10,3	-	4,7	-

Снижение времени пребывания в ЦЗ при повторном помещении в бокс актометра расценивается как процесс неассоциативного обучения (габитуация) [8]. Так, габитуация в ЦЗ была хорошо выражена у мышей С3Н и отсутствовала у мутантов С3Sn.Cg-Cm /J (модель синдрома дефицита внимания/гиперактивности) [8]. По мере привыкания к боксу актометра подвижность в ЦЗ у животных группы КГ-1Б (но не КГ-1А) статистически значимо снижалась (на 16,8% от исходного уровня, *p*<0,05) (рис.3), что указывает на хорошо выраженные процессы неассоциативного обучения у крыс с пассивным типом реагирования на стресс в отсутствие негативных воздействий.

Активность в ЦЗ у стрессированных грызунов по прошествии 4 часов повышалась на 3,9 % – в КГ-2А, на 15,1 % – в КГ-2Б (*p*>0,05). Pro-Gly стимулировал процесс неассоциативного обучения у крыс, подвергшихся ПП: уровень подвижности в ЦЗ статистически достоверно снижился относительно исходных значений, существенно отличался от такового в группе КГ-2Б и был сопоставим с габитуацией у особи соответствующего фенотипа без ПП (группа КГ-1Б) (рис.3).

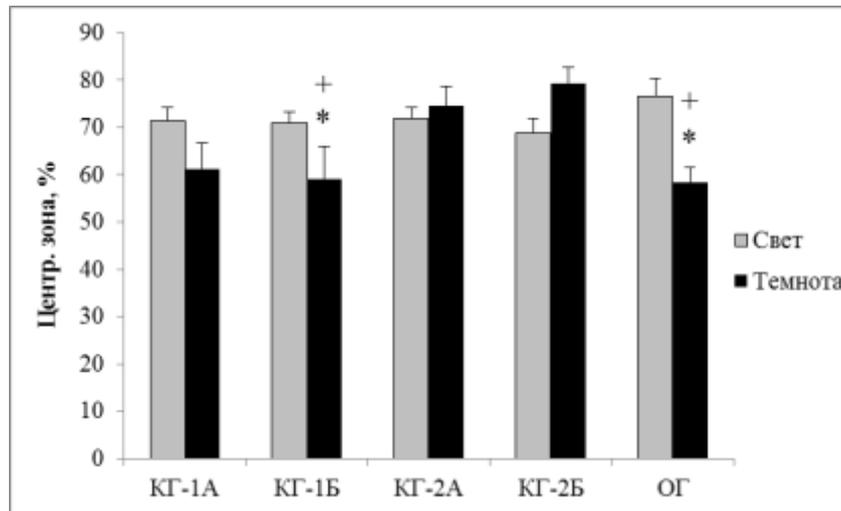


Рис. 3. Двигательная активность в центральной зоне (доля от суммарной двигательной активности) крыс-самцов Wistar на протяжении первых 10 мин «светлого» и «темного» периодов: * – *p*<0,05, статистически значимые изменения в сравнении с показателями в «светлый» период, критерий Уилкоксона; + – *p*<0,05, статистически значимое снижение в сравнении с показателями в группе КГ-2Б в «темный» период

Увеличение доли активности в ЦЗ в первые минуты экспозиции указывает на снижение уровня тревожности [7]. Некоторое увеличение подвижности в ЦЗ под действием Pro-Gly в «светлый» период относительно таковой в других экспериментальных группах (рис. 3) хорошо согласуется с данными о наличии у дипептида статистически значимого анксиолитического влияния на поведение

высокотревожных мышей в тесте «приподнятого крестообразного лабиринта» [6]. Известно, что стресс оказывает повреждающее действие на процессы памяти [9]. Нормализующее действие Pro-Gly на неассоциативное обучение на фоне стресса является несомненным преимуществом дипептида перед бензодиазепиновыми анксиолитиками, нарушающими мнестические функции.

Заключение. Pro-Gly (0,5 мг/кг, и/г), вводимый крысам Wistar с пассивным фенотипом реакции на стресс, подвергшихся принудительному плаванию (ПП), способствовал приближению параметров ритма к таковым у животных без ПП: нивелировал «патологические» 12-часовые ритмы ГДА, противодействовал миграции акрофазы 24-часовых ритмов вправо. В «светлый» период на фоне «новизны» обстановки Pro-Gly элиминировал 24-минутные ритмы ГДА.

Благодарности. Авторы выражают благодарность научному сотруднику Ольгомец Л.М. и заведующей виварием Крупской З.И. за содействие в проведении экспериментов.

Литература:

- [1]. Арушанян Э.Б., Батурин В.А. Изменение циркадного ритма двигательной активности у «депрессивных» крыс под влиянием трициклических антидепрессантов // Фармакол. и токсикол. 1988. Т. 51, № 3. С. 5–8.
- [2]. Арушанян Э.Б., Попов А.В. Особенности временной организации поведенческого ответа на кофеин // Эксп. и клин. фармакология. 2005. Т. 68, № 1. С. 10–12.
- [3]. Арушанян Э.Б., Попов А.В. Тофизопам и мелатонин ослабляют перестройку ритма суточной подвижности крыс при инъекционном стрессе // Эксп. и клин. фармакология. 2006. Т. 69, №2. С. 14–17.
- [4]. Кравченко Е.В., Ольгомец Л.М. Влияние изменений состояния нейромедиаторных и пептидергических систем мозга на циркадные ритмы и поведение крыс // Ж. высш. нервн. деят. им. И. П. Павлова. 2012. Т. 62, № 4. С. 453–464.
- [5]. Кравченко Е.В., Бизунок Н.А., Дубовик Б.В. Регуляция ультрадианных ритмов двигательной активности олигопептидами, структурно родственными окситоцину // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. 2021. Т.65, № 2. С. 191–198.
- [6]. Кравченко Е.В., Жебракова И.В., Насек В.М. и др. Влияние пролил-глицина и лейцил-пролина гидрохлорида на уровень тревожности лабораторных мышей // Новости мед.-биол. наук. 2020. Т. 20, № 3. С. 84–90.
- [7]. Avgustinovich D.F., Lipina T., Bondar N. et al. Features of the Genetically Defined Anxiety in Mice// Behav. Genetics. 2000. Vol. 30, № 2. P. 101–109.
- [8]. Gunn R.K., Keenan M.-E., Brown R.E. Analysis of sensory, motor and cognitive functions of the coloboma (C3Sn.Cg- Cm /J) mutant mouse Genes, Brain and Behav. 2011. Vol. 10. P. 579–588.
- [9]. Luethi M., Meier B., Sandi, C. Stress effects on working memory, explicit memory, and implicit memory for neutral and emotional stimuli in healthy men // Front. Behav. Neurosci. 2009. Vol. 2, № 5. P. 1–9.
- [10]. Neumann I.D., Landgraf R. Balance of brain oxytocin and vasopressin: implications for anxiety, depression, and social behaviors // Trends in neurosc. 2012. Vol. 35, № 11. P. 649–659.
- [11]. Zhang G., Cai D. Circadian intervention of obesity development via resting-stage feeding manipulation or oxytocin treatment // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2011. Vol. 301, № 5. P. 1004–1012.

O.N. SAVANETS, E.V. KRAVCHENKO

PRO-GLY MODIFIES THE RHYTHMS OF LOCOMOTOR ACTIVITY IN WISTAR RATS IN THE CONDITIONS OF INESCAPABLE STRESS

Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Summary

In Wistar rats with a passive stress response phenotype subjected to forced swimming (FS) Pro-Gly (0.5 mg/kg, i/g) contributed to the approximation of rhythm parameters to those in animals without FS: leveled the "pathological" 12-hour rhythms of HMA, counteracted the migration of acrophase of 24-hour rhythms to the right. In the "bright" period, in the novelty situation, Pro-Gly eliminated 24-minute HMA rhythms. Pro-Gly facilitated habituation disrupted by stress.

Key words: Pro-Gly, stress, circadian rhythm, ultradian rhythm, rats

УДК 159.937.54:616.891

Е.М. СТЕПАНОВА, А.Г. РАМЗА, А.А. МУХАМОВА

РОЛЬ АНТИЦИПАЦИИ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ НЕВРОТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ У СПОРТСМЕНОВ

РНПЦ спорта, Минск, Беларусь

Антиципационная концепция неврозогенеза рассматривает этиологию и патогенез невротических состояний неразрывно с психофизиологическими механизмами антиципации. Понимание процессов неврозогенеза позволит повысить эффективность диагностики на ранних этапах формирования невротических состояний. В данной работе рассмотрена роль сенсомоторного компонента пространственно-временной антиципации в генезе преморбидных состояний.

Ключевые слова: антиципация, неврозогенез, невротические состояния, реакция на движущийся объект, спортивная психология.

Введение. Спорт высших достижений, в силу систематического воздействия стрессогенных факторов (таких как психофизиологические перегрузки, высокая конкуренция, растущий уровень требований к спортивным результатам), приводит к развитию адаптивных форм реагирования, в том числе невротического характера, что зачастую затрудняет дифференциальную диагностику психических и физиологических симптомов, возникающих у спортсменов на фоне соревновательного стресса. В спорте высших достижений физиологическая цена усилий, затраченных в ходе систематических тренировочных нагрузок и соревновательного стресса, сопряжена с балансом функциональных структур организма. Адаптационные механизмы запускают специфические формы реагирования на стресс, к числу которых можно отнести мобилизацию как оптимальную реакцию на достаточно интенсивный раздражитель. Среди специфических и неспецифических реакций на стресс особое место занимают колебания психоэмоционального статуса. Например, у спортсменов встречаются проявления «пускового значения» психоэмоционального напряжения, при оптимальном уровне которого происходит активация психоэмоционального тонуса и адаптация к нагрузке. Однако длительное влияние стресс-факторов приводит к разбалансированности функциональных структур, что чревато возникновением преморбидных состояний и нозологических форм патологии [1]. В связи с высоким уровнем психологической и физиологической нагрузки спортсмены часто сталкиваются с такими проблемами, как перетренированность, личностные кризисы и невротические состояния [2]. Причиной может служить индивидуальная реакция на тренировочный процесс, трудности адаптации к нагрузке, недостаточное восстановление и другие факторы, провоцирующие психоэмоциональное напряжение и перегрузку нервно-мышечного аппарата. Как правило, спортсмену требуется волевое сдерживание первичных физиологических потребностей в процессе достижения требуемого физического состояния: функциональных (выносливости, скорости, координации) и/или антропоморфических характеристик (общий вес тела, мышечная масса и др.). Когда такое напряжение перерастает в стрессовое состояние, запускаются механизмы дисрегуляции [3]. Превышение адаптационных возможностей провоцирует защитную реакцию на стресс, сопровождаемую снижением работоспособности и проявлением соматических симптомов напряжения [1]. Например, ведущая роль в нейрофизиологической регуляции отведена зрительно-сенсорной системе, поэтому даже при первых признаках невротизации ассоциативная цепь зрительно-вестибулярно-кинестетических рефлексов слабеет. Координация движений человека связана с антиципацией, поэтому при невротических состояниях часто отмечают «моторную неловкость».

Обзор литературы показал, что изучению психологических закономерностей антиципационных механизмов посвящен ряд работ [4-8], в которых термин «антиципация» трактуется как способность человека к вероятностному прогнозированию развития событий на основании актуальной информации об окружающей и внутренней среде организма. В данной статье феномен сенсомоторной антиципации рассматривается в аспекте неврозогенеза.

Цель данной работы заключается в определении роли сенсомоторного компонента пространственно-временной антиципации в патогенезе невротических состояний. Опираясь на

теоретические положения Менделевича В.Д. об антиципационных механизмах неврозогенеза [4], была предложена гипотеза о том, что показатели сенсомоторной составляющей антиципации можно рассматривать в качестве предикторов возникновения невротических состояний.

Системный характер стрессовой реакции. Психосоматическая реакция отражает совокупность системных процессов, в которых задействованы психологические и физиологические механизмы, включающие в себя психоэмоциональные переживания, изменения вегетативных и двигательных функций. Именно высокий уровень развития нервной системы человека подразумевает значимость не только физических, но и эмоциональных раздражителей в механизме формирования стрессовой реакции [9]. G. Schwartz, опираясь на концепцию Г. Селье, описал возможность дифференциации и моделирования физиологических реакций, поскольку одни и те же функции контролируются различными регуляторными системами и активизация одной функции может приводить к подавлению другой [10]. Принцип «отрицательной обратной связи», возникший в рамках триггерной модели гуморальной и психической декомпенсации (G. Schwartz, 1977), иллюстрирует процессы истощения физиологических адаптационных резервов под влиянием интенсивных или продолжительных стрессовых факторов, что приводит к дезадаптации [3]. Согласно данной модели процесс дисрегуляции проходит четыре этапа: 1) воздействие внешнего стимула; 2) обработка информации центральной нервной системой (ЦНС); 3) нарушение регуляции ЦНС периферических органов и тканей; 4) сигнал о нарушении регуляции в периферических органах и/или тканях, поступающий обратно в ЦНС. При адаптивной реакции симпатической нервной системы повышается сенсорная чувствительность, ускоряются когнитивные процессы, внимание, скорость реакции. Однако длительное либо интенсивное воздействие стрессора «перегружает» симпатическую нервную систему и приводит к неадекватной реакции на нагрузку [11; 12]. На гуморальном уровне в этот момент происходит снижение уровня глюкокортикоидов в крови. Когда цикл триггерной модели приводит к отрицательной обратной связи, нарушается активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, что может приводить к глюкокортикоидной резистентности [11], которую связывают не только с процессами регуляции ЦНС и синаптической пластичностью, но и с развитием стресс-индуцированных психических расстройств [13]. Таким образом, интенсивное или повторяющееся стрессовое воздействие провоцирует ряд внутренних процессов, приводящих к замыканию отрицательной обратной связи между ЦНС и внутренними органами, что сперва активизирует, а затем истощает регуляторные резервы организма.

На практике психосоматический спектр жалоб спортсмена включает нарушения сна (бессонница, поверхностный сон, плохое засыпание, тревожное ожидание бессонницы), повышенную потливость, нарушения работы сердечно-сосудистой системы (кардиалгия, тахикардия), головные боли и др. Объективно отмечаются снижение физической работоспособности (особенно нарушение точности координации движений), повышение сухожильных рефлексов и различные дисфункциональные проявления. Следующей стадией является доминирование жалоб системного характера: общая слабость, усталость, нарушения циркадных ритмов, снижение мотивации к тренировке, вялость, рассеянность, заторможенность реакций, явления адинамии и апатии [14]. Перечисленные симптомы, как правило, в анамнезе имеют наличие психотравмирующих факторов и переутомление и, во избежание развития невротических расстройств, требуют своевременного вмешательства врачей спортивной медицины, спортивных психологов и психотерапевтов.

Антиципационная концепция неврозогенеза и сенсомоторные аспекты развития невроза.

Физиология стресс-индуцированных процессов проявляется изменениями эмоционального состояния и нарушениями когнитивных функций, в том числе памяти, внимания и др. Снижение антиципационных способностей, а также высокая степень нарушения фрактального соотношения сложности в иерархии подсистем организма, отвечающих за регуляцию деятельности, связаны с заболеваниями различной этиологии, в частности, с неврозами. Тип невроза зависит от сочетания и преобладания симптомов, психогенного или соматического характера. Невротическое расстройство имеет функциональный (обратимый) характер, однако длительное течение с регулярными обострениями оказывают негативное влияние на трудоспособность человека.

Преморбидный фон невроза, возникающий под влиянием выраженных стрессовых и психотравмирующих ситуаций, формирует т.н. антиципационную несостоятельность [7], т.е. неспособность прогнозировать собственные реакции и адекватно оценивать динамику внешних явлений социального (реакции других людей и др.) или физического характера (движущиеся объекты и др.). Происходит как бы «настройка» на единственный желаемый вариант развития событий и

«вытеснение» иных вариантов исхода. Таким образом, сталкиваясь с неблагоприятным сценарием, личность оказывается не готова справиться с незапланированными обстоятельствами и не имеет в запасе устойчивых конструктивных моделей совладающего поведения. При этом даже наличие высокого уровня жизнестойкости и развитой системы компенсаторных механизмов не позволяет в полной мере защитить индивида от серьезных антиципационных ошибок, что чревато выраженными эмоциональными переживаниями и формированием невроза [4].

Нарушение механизмов антиципации социально приемлемого поведенческого сценария может формировать дезадаптационный характер поведения. В своем исследовании тревоги в аспекте неуверенности и антиципации Grupe D.W. и Nitschke B.D. предложили пять дезадаптивных реакций: преувеличение вероятности и опасности угрозы, повышенное внимание к потенциальной угрозе и бдительность, недостаточные навыки безопасности, поведенческое и когнитивное избегание, способность реагировать на неопределенность [8].

Как правило, оценка нормативности и девиантности поведения включает анализ коммуникативного стиля внутри и вне профессиональной среды. Профессионально значимые качества в спорте включают активность, в крайней степени – агрессивность [15]. Поведенческие признаки невротизации у спортсменов могут включать колебания настроения, повышение чувствительности к различным раздражителям (замечания тренера, шумовые помехи и др.).

Тревога является прогностической эмоцией [16]. Отягощенная чувством долга направленность субъекта на будущее время: цели, задачи, ожидания. И когда будущее сопряжено с неопределенностью, в такой ситуации может развиваться ажитированная депрессия, которая сопровождается выраженным субъективным чувством вины, двигательным возбуждением, аутоагрессией. По некоторым данным [8] общей чертой тревожных расстройств является чрезмерная антиципация в условиях, характеризующихся неопределенностью, в этом отношении тревожные расстройства тесно связаны с ажитированной депрессией. Различие заключается в отношении к будущим событиям: при тревоге восприятие будущего сопряжено с неуверенностью, а при депрессии – с чувством безысходности.

Эмоциональный фон депрессивных расстройств выражен динамикой взаимосвязи апатии, тоски и тревоги. Причем психомоторные проявления в большей степени, чем когнитивные, зависят от доминирующего настроения. Основу симптоматики депрессии любого типа составляет депрессивная триада: снижение настроения, заторможенность мышления, двигательная заторможенность [17]. По данным трансдиагностической модели психопатологии, разработанной Ein-Dor T. и Dagon G., механизмы поведенческой реакции при депрессии представлены субъективным ощущением «потери себя», негативным эмоциональным фоном, сниженным восприятием отзывчивости со стороны других, сверхбдительностью к психотравмирующим триггерам [18]. Следовательно, можно предположить, что при данной разновидности невротической симптоматики антиципационные механизмы будут напряжены.

Истощение адаптивных возможностей повышает вероятность возникновения ошибочных действий, что отражается на скорости и точности сенсомоторных реакций. Моторные компоненты реакции отражают дискретные двигательные нарушения, возникающие при стресс-индуцированных нарушениях нейропластичности [11]. На фоне стресс-индуцированных изменений в работе глюкокортикоидных рецепторов происходит нарушение точности, траекторий и координации движений [11; 19]. По данным научных исследований под воздействием стресса нарушается качество регуляции движений на уровне корково-спинномозгового пути (*tractus corticospinalis*) [20], в том числе моторной коры, и в таких участках головного мозга, как красное ядро (*Nucleus ruber*) [21], полосатое тело (*corpus striatum*) [22; 23] и мозжечок (*cerebellum*) [24].

Невротические расстройства обусловлены дезадаптационными процессами, то есть неспособностью своевременной и адекватной стимулу адаптации морфофункциональных особенностей индивида к резкому интенсивному либо пролонгированному воздействию стрессоров. Примером такого воздействия является спорт высших достижений, где актуальной задачей является своевременное выявление и купирование ранних признаков формирования невроза [1], перетренированности и вероятности срыва.

Материалы и методы. В исследовании приняли добровольное участие 2 группы респондентов. В первую группу вошли 25 лиц с установленными аффективными и невротическими расстройствами различного генеза, средний возраст испытуемых 24,7±5,5 лет. Вторую группу представили 27 спортсменов высокой квалификации, средний возраст 23,9±4,8 года. Работа и сбор данных проводились в рамках научно-технической Союзной программы «Разработка инновационных

геногеографических и геномных технологий идентификации личности и индивидуальных особенностей человека на основе изучения генофондов регионов Союзного государства» на базе ГУ «РНПЦ спорта» и ГУ «РНПЦ психического здоровья».

Методологической основой столь полярной выборки является создание эмпирически широкого диапазона для измерения исследуемых показателей, таким образом испытываемая группа является «эмпирическим противовесом» контрольной группы. Аналогичные попытки сравнения данных представителей выборки уже успешно предпринимались в исследовании анализа невротических состояний у спортсменов высокой квалификации [25].

Исследования [5-7] показывают наличие взаимосвязи пространственной антиципации и личностных свойств. Фрустрация эмоциональных переживаний формируют преморбидный фон моторной неловкости, и наоборот, моторную ловкость связывают с эмоциональной стабильностью [6]. Поэтому в данном исследовании были выбраны показатели методики «Реакция на движущийся объект» (РДО), которые выступают характеристикой сенсомоторной составляющей антиципационных способностей. Данная методика уже показала свою состоятельность в аналогичных исследованиях антиципационных механизмов [7].

Нормальность распределения была рассчитана критерием Колмогорова-Смирнова для результатов теста РДО и «Клинического опросника» ($p > 0.05$). U-тест по методу Манна-Уитни позволил провести сравнение групп испытуемых на наличие достоверных различий между ними. Для выявления связи между исследуемыми признаками применялся коэффициент корреляции Тау-в Кендалла, поскольку сравниваемые данные имеют разное распределение. Статистика Кендалла позволяет оценить вероятности, то есть наличие различий между вероятностями порядкового соотношения наблюдаемых величин. Также был проведен анализ парной корреляции Кендалла и Спирмана для учета всех возможных взаимосвязей между исследуемыми величинами и оценка шансов (OR) в четырехпольных таблицах 2x2 при измерении однородности распределения χ^2 . Среди наиболее значимых показателей были выбраны: число точных реакций, сумма времени запаздываний, сумма времени опережений, средняя величина ошибки за тест.

Используемый тест «Реакция на движущийся объект» (РДО) является вариантом сложной сенсомоторной реакции и измеряет сенсорный и моторный компоненты реакции на комбинированный сигнал, включающий пространственно-временную антиципацию перемещающегося объекта. Комплекс измеряемых психомоторных характеристик включал особенности нервной системы, сбалансированность процессов возбуждения и торможения, определяемые показателями: базовыми (среднее значение времени реакции, точность реакции на движущийся объект, опережение и запаздывание реакции) и дополнительными (среднеквадратичное отклонение, медиана, мода, асимметричность, эксцесс, энтропия, среднее время реакции по модулю, сумма времени запаздывания, средняя величина ошибки за тест).

Клинический опросник для выявления и оценки невротических состояний (К.К. Яхин, Д.М. Менделевич) направлен на выявление основных невротических синдромов, выраженных в шкалах: тревоги, невротической депрессии, астении, истерического типа реагирования, обсессивно-фобических и вегетативных нарушений. Поскольку диагностика ненормативных форм поведенческих реакций как правило осложнена субъективными факторами, в своем исследовании мы придерживались феноменологического подхода, основываясь на методологическом подходе В.Д. Менделевича («Психология девиантного поведения», 2005 г.). Феноменологический подход учитывает психогенез и все особенности отклонения поведения от нормы, при этом предполагает принцип «презумпции психической нормальности», принцип «понимания, а не объяснения», принцип «воздержания от суждения», принцип беспристрастности и контекстуальности [15]. Разнообразие невротических проявлений требует концентрации на отдельных их аспектах, в данном разрезе дезадаптационный характер невроза связаны с нарушением механизмов антиципации социально-ожидаемых форм реагирования.

Анализ данных в группах сравнения проводился с использованием критерия Колмогорова-Смирнова и U-критерия Манна-Уитни. При оценке взаимосвязи исследуемых показателей использовались методы корреляционного, регрессионного, дисперсионного анализа. Математическое моделирование строилось по примеру моделирования психофункциональных качеств человека на основе показателей психомоторики, описанного О.А. Клиценко и О.В. Самородновым [26; 27]. Однако стоит отметить, что для построения моделей мы использовали показатели теста РДО, такие как количество точных реакций и разброс данных, которые не попали в число «рабочих показателей» в анализе, проведенном О.А. Клиценко и О.В. Самороднова по причине «наличия значений в

пересекающихся диапазонах» [26]. В настоящем исследовании данная проблема отсутствовала в связи с использованием совершенно иных принципов дифференцирования данных исходя из исследовательских задач. Также при моделировании вместо логистической регрессии использовалась линейная. Поскольку переменные «Клинического опросника» содержат отрицательные значения, Log-преобразование не может быть применено. Линейная регрессионная модель была выбрана с целью определения прогностической ценности показателей сенсомоторных реакций для ранней диагностики невротических изменений. Помимо перечисленных использовались дополнительные методы статистического анализа для оценки шансов изменения исследуемых показателей при различных видах невротических состояний.

Линейная регрессионная модель является популярным статистическим методом прогнозирования процессов. Однако по данным Northoff G. и Tumati S. в медико-биологических исследованиях такое моделирование может не сработать, поскольку значения «нормы» часто занимают определенный референсный интервал, а «патологию» определяют отклонения от этого интервала как в сторону снижения, так и в сторону повышения [12]. Поскольку линейное моделирование обнаружило свою несостоятельность в отношении изучения взаимосвязи некоторых процессов дополнительно, мы рассмотрели баланс возбуждения-торможения в рамках перевернутой квадратичной функции, аналогично закону Йеркса-Додсона [28], а также закону оптимума и пессимума частоты раздражения Н.Е. Введенского [16].

Результаты и их обсуждение. Анализ выбранных показателей методики РДО с переменными «Клинического опросника» показали, что точность реакций чувствительна к любому типу проявления невротических симптомов (рис.1). Очевидно, что при любом варианте дестабилизации нервных процессов нарушается способность к точности пространственно-временной антиципации.

Средняя величина ошибки по тесту РДО связана с состояниями тревоги ($p < 0.05$) и астении ($p < 0.05$), выявленными «Клиническим опросником» (Рис.2). Статистика χ^2 показала однородное распределение между исследуемыми группами только в отношении показателя астении, при этом вероятность совершения ошибочных реакций антиципации в состоянии астении возрастает в 6-7 раз ($\chi^2 = 7,59$; OR = 6,57; 95% CI: 1,57–27,4). Данную взаимосвязь можно рассматривать в контексте гиперэстезии, свойственной астеническому синдрому, что может проявляться повышенной лабильностью и/или возбудимостью. В данном исследовании слабую корреляционную связь с астенией показала сумма времени опережений ($p < 0.05$; $\chi^2 = 4,219$; OR = 4,95; 95% CI: 0,98–25,14) при статистически значимой однородности распределения χ^2 , что позволяет говорить о возрастании риска нарушения антиципации в сторону возбуждения почти в 5 раз при астенических расстройствах. Интересно, что сходные тенденции выявлены при невротической депрессии ($\chi^2 = 6,72$; OR = 7,1; 95% CI: 1,41–35,82), что само по себе парадоксально, поскольку депрессия характеризуется сниженным фоном настроения, безынициативностью, замкнутостью. Возможно, в данном случае сам процесс обследования явился мобилизующим (раздражающим) фактором для возникновения реакции возбуждения, чтобы минимизировать время социального взаимодействия, априори дискомфортного для людей с проявлениями невротической депрессии. Полученные результаты также подтверждают положения трансдиагностической модели Ein-Dor T. и Doron G. [18] о наличии в структуре факторов риска депрессии повышенной бдительности к психотравмирующим триггерам.

Выявлена связь суммы времени запаздываний по тесту РДО с истерическим типом реагирования ($p < 0.005$), обсессивно-фобическими нарушениями ($p < 0.05$) и вегетативными неврозом ($p < 0.005$). Все три типа невротических состояний объединены наличием интернальных переживаний: истерическое реагирование (желудочно-кишечные, кардиореспираторные синдромы, нервные тики и др.), иррациональный страх, симптоматические и парасимптоматические нарушения. Чрезмерная фиксация на внутренних ощущениях приводит к торможению сенсомоторной антиципации.

Аналогичные исследования показали взаимосвязь истероидных черт с неспособностью планировать двигательную реактивность с учетом изменения пространственных характеристик среды [5; 6]. В нашем исследовании анализ данных показал, что истерический тип реагирования примерно в 5 раз снижает точность сенсомоторных реакций пространственно-временной антиципации ($\chi^2 = 6,43$; OR = 5,63; 95% CI: 1,37–23,06). Это подтверждает факт сенсомоторной антиципационной несостоятельности при истерии.

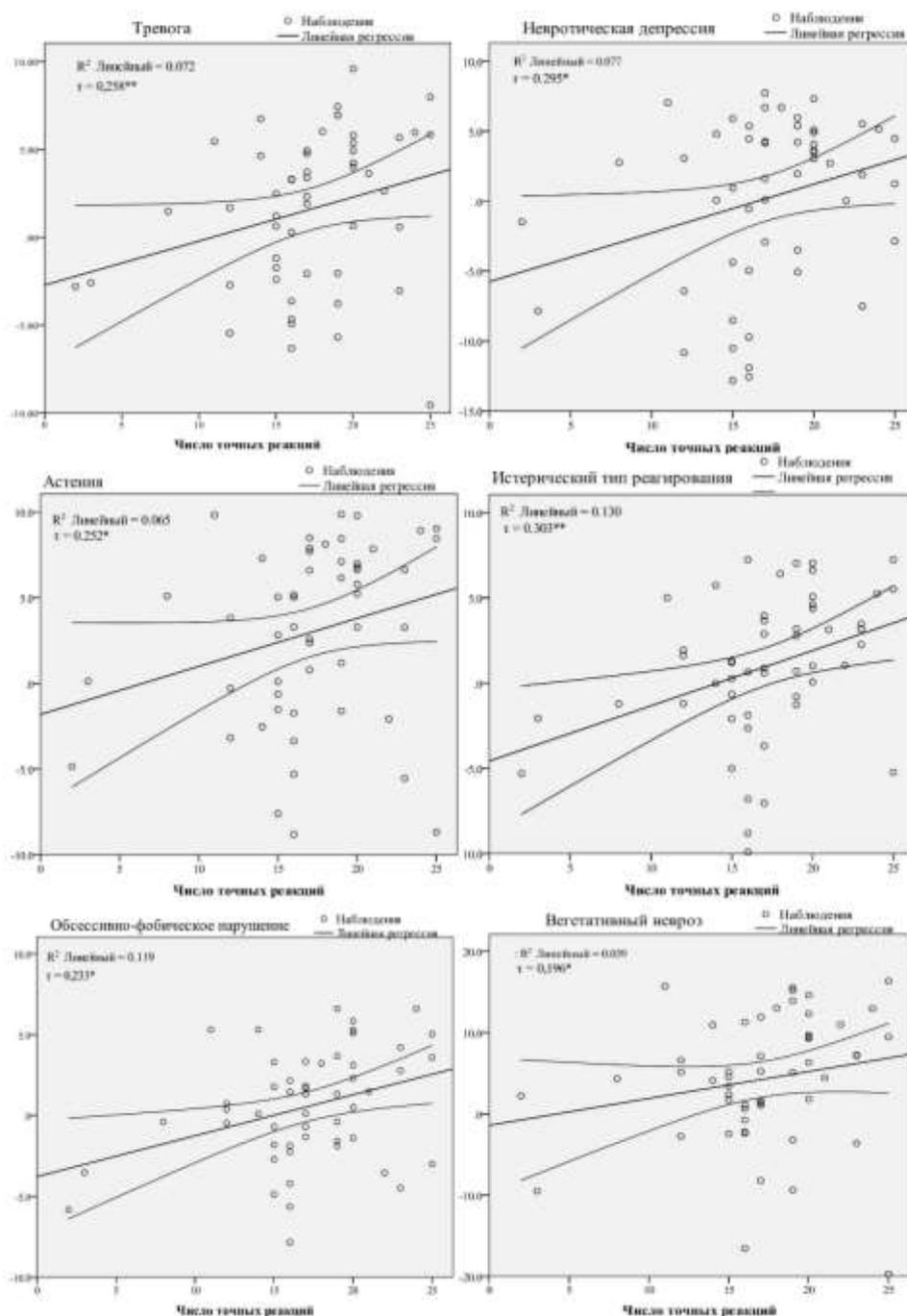


Рис. 1 Влияние различных невротических состояний (Клинический опросник) на показатель точности (тест РДО). * - корреляция значима на уровне 0.05 (2-сторонняя). ** - корреляция значима на уровне 0.01 (2-сторонняя).

Таким образом, на данном этапе анализ данных подтвердил наличие взаимосвязи между пространственно-временной антиципацией и различными формами невротических состояний. Как уже было описано выше, статистика χ^2 и оценка шансов показали следующее: при астении возрастает нервная возбудимость практически в 5 раз и риск ошибочных реакций антиципации в 6-7 раз; при невротической депрессии нервная возбудимость также повышается в 7 раз; при истерическом типе реагирования в 5 раз снижается точность реакций.

В рамках предложенной гипотезы о возможности использования показателей сенсомоторной антиципации в качестве предикторов возникновения невротических состояний была использована методика моделирования на основе линейной регрессии (рисунок 1, 2). Регрессионный анализ позволил произвести оценку вероятности предсказания ожидаемого уровня проявления

невротической симптоматики по среднему значению результирующей переменной, выявленной в ходе корреляционного анализа.

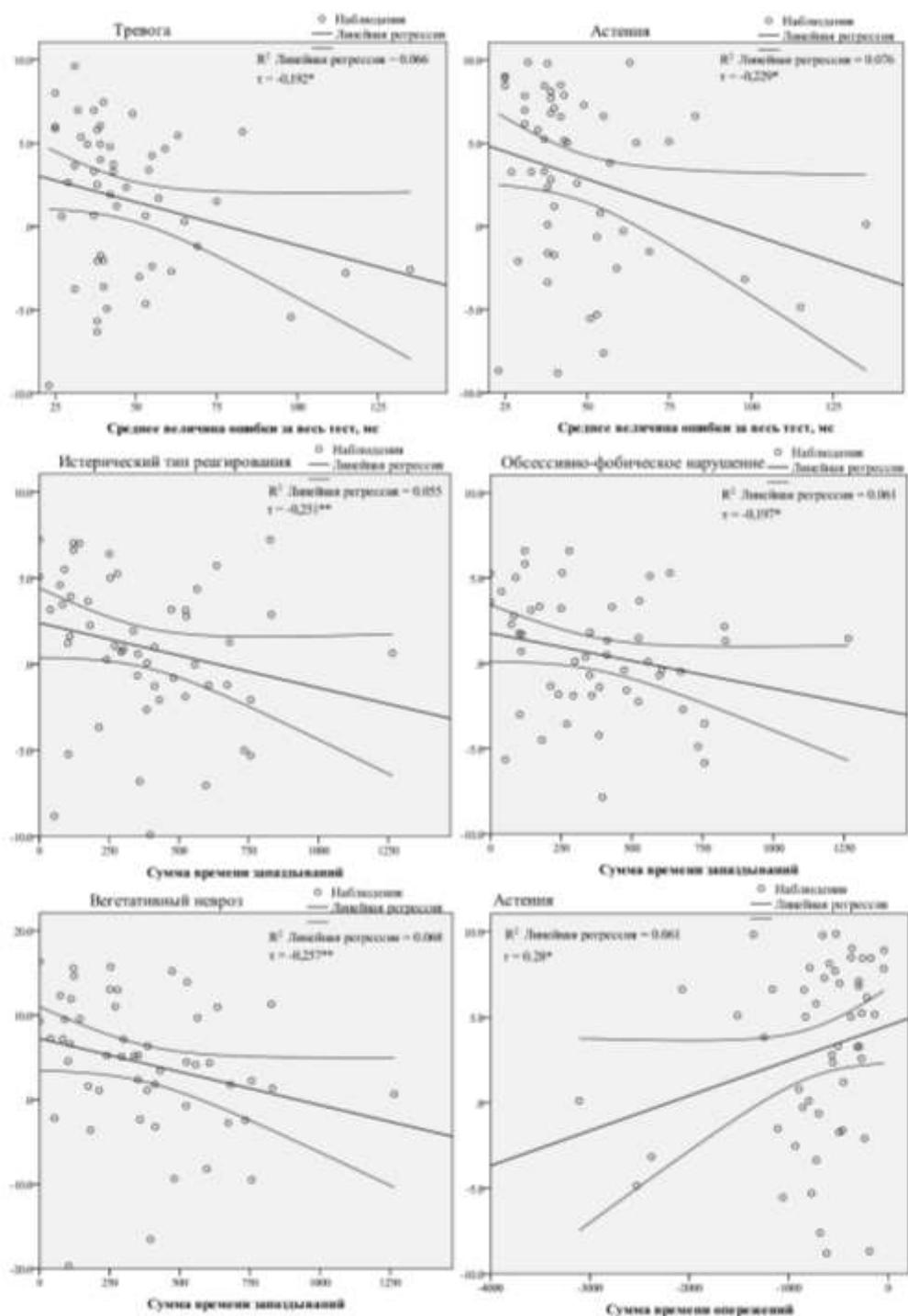


Рис. 2 Влияние различных невротических состояний (Клинический опросник) на показатели сенсомоторной реакции (тест РДО). * - корреляция значима на уровне 0.05 (2-сторонняя). ** - корреляция значима на уровне 0.01 (2-сторонняя).

Однако по результатам регрессионного анализа был получен достаточно низкий процент прогнозирования влияния исследуемых показателей, поэтому для описания динамических свойств временного ряда на данном этапе анализа была проведена автокорреляция остатков регрессии. Низкий коэффициент детерминации (R^2) построенных моделей регрессии говорит о низкой аппроксимации регрессионной модели, то есть незначительной доле объясненной вариации и высоком влиянии прочих факторов в патогенезе невротических состояний. Поскольку регрессионный

анализ сравнивает две группы испытуемых, он обнаруживает только групповые различия, и невротическая симптоматика при этом рассматривается только как присутствующая и отсутствующая (например, в бинарной модели, при оценке рисков), а соотношение сенсомоторных характеристик по всей дисперсии модулирует проявление соответствующего невротического расстройства. Данный способ моделирования, как показали расчеты авторов, не позволяет учитывать индивидуальные различия по когорте.

С аналогичной проблематикой столкнулись Northoff G. и Tumati S., которые также производили анализ сравнений данных групп «патологии» и «контроля». Так при сравнении частот нейронной активности с психомоторной скоростью они выявили, что замедление частотной активности мозга связано со снижением психомоторных реакций и может встречаться при депрессии, а вот повышение частотной активности связано с психомоторным возбуждением и встречается в маниакальной фазе биполярного расстройства [12]. В случае исследования нелинейных процессов авторы предлагают использовать модель в виде перевернутой U-образной кривой, которая отражает зону оптимума (рисунок 3, в центре) и патологические отклонения от оптимума.

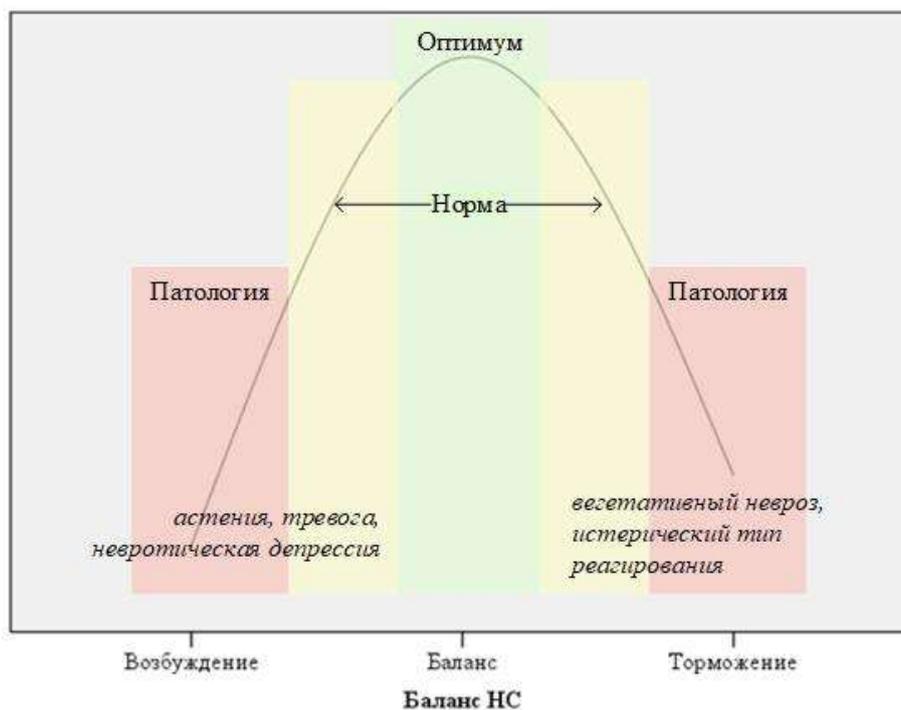


Рис. 3 Модель перевернутой квадратичной функции [12], совмещенная с графиком баланса возбуждения-торможения (тест РДО).

Закон Йеркса-Додсона иллюстрирует нелинейную взаимосвязь между сложностью выполнения задачи и уровнем возбуждения. В процессе выполнения задачи возрастание уровня возбуждения сначала приводит к оптимальной активизации, однако превышение условных референтных значений нагрузки вызывает стрессовое состояние [28]. Предполагается, что истоки закона Йеркса-Додсона уходят корнями в теорию оптимума и пессимума частоты раздражения Н.Е. Введенского, согласно которой умеренные (оптимальные) раздражения вызывают максимально эффективную реакцию тканей, а при избыточном раздражении наступает состояние повышенной реактивной способности [16]. Таким образом, эта теория представляет следующую последовательность реакции тканей на повышение интенсивности раздражителя: рефракторная фаза (пессимальное торможение), экзальтационная фаза, повышенная возбудимость.

Применительно к приведенным данным, можно заключить, что длительное воздействие стресс-факторов приводит к потере способности организма бороться со стрессорами, истощению адаптивных возможностей и развитию невротических состояний, которые влияют на когнитивные процессы, в том числе нарушают механизмы сенсомоторной антиципации, что повышает вероятность ошибочных действий.

Как известно, спецификация адаптационно-компенсаторных механизмов определяется, в первую очередь, врожденными особенностями протекания нервных процессов у индивида [1],

поэтому показатели теста РДО могут использоваться для комплексной оценки сенсомоторной антиципации при различных невротических расстройствах. Однако их использование в качестве предикторов невротизации затруднено, в силу многофакторной природы исследуемого феномена.

Своевременное выявление негативных симптомов и осознанное отношение к тренировкам на выносливость необходимо для повышения стрессоустойчивости, развития навыков преодоления стресса, улучшения общего самочувствия и повышения результативности работы [2]. Сформированная система взаимоотношения нервных центров, гуморальной и вегетативной регуляции является частью необходимой спортсмену функциональной системы, создающей основу устойчивой адаптации к нагрузкам и повышения эффективности деятельности.

Заключение. Невроз – заболевание, возникающее под влиянием психогенных и иных факторов, на фоне личностных особенностей с формированием невротического конфликта, проявляющееся функциональными нарушениями в эмоциональной, вегетативной и соматической системах. Антиципация как личностно-ситуативное прогнозирование в спорте проявляется в способности предвосхищать события и реакцию окружающих на атакующее или контратакующее действие. Антиципационная концепция неврозогенеза указывает на тесную взаимосвязь способности к прогнозированию и невротического статуса личности. Наше исследование позволило уточнить некоторые аспекты данной взаимосвязи, а именно: точность реакции антиципации чувствительна к любому изменению психоневрологического состояния, что приводит к повышению вероятности ошибочных действий. Однако, регрессионная модель вероятности развития невроза по сенсомоторному компоненту пространственно-временной антиципации не дала высоких прогностических результатов. Поэтому для диагностики преморбидных состояний невроза необходимо учитывать многофакторную природу неврозогенеза. Тем не менее, наше исследование показало, что использование методики РДО подходит для комплексной оценки психоневрологического состояния. Нам удалось определить, что при астении преобладание процессов возбуждения нервной системы повышается практически в 5 раз и возрастает риск ошибочных реакций антиципации в 6-7 раз; при невротической депрессии нервная возбудимость также повышается в 7 раз; при истерическом типе реагирования в 5 раз снижается точность реакций.

Для объяснения роли сенсомоторного компонента пространственно-временной антиципации в патогенезе невротических состояний можно использовать модель перевернутой квадратичной функции, которая отражает зону оптимума показателя скорости реакции и отклонения в сторону процессов возбуждения и торможения, характерных для разных форм неврозов.

В заключении можно сказать об актуальности раннего выявления невротических состояний у спортсменов. Неврозы могут развиваться вследствие значительной нервно-психической перегрузки. Которая, в свою очередь, обусловлена не только длительной интенсивной нагрузкой, но и должна учитывать индивидуальный уровень стрессоустойчивости и степень моральной поддержки социальным окружением, а также адекватность педагогического и психологического сопровождения спортсмена. Также нельзя игнорировать роль физиологических особенностей организма, преморбидные типологические и индивидуально-личностные факторы (текущие или перенесенные соматические заболевания, развитие интеллекта, степень выраженности эмоционально-волевых качеств, наследственность, воспитание). Поэтому акцентировать внимание специалистов необходимо не на способах эффективного лечения уже выявленного расстройства, а на методах первичной диагностики и психопрофилактики. Повышение стрессоустойчивости спортсмена является главной задачей для контроля влияния психотравмирующих факторов (эмоциональное перенапряжение, переоценка собственных возможностей на конкретном этапе спортивного становления, переутомление или перетренированность). Для этого важно формирование адаптивных стратегий реагирования на различные внешние средовые факторы и конструктивное отношение к внутренним переживаниям.

Литература

- [1]. Солодков А.С. История и современное состояние проблемы адаптации в спорте // Ученые записки университета им. П.Ф. Лесгафта, 2013. №6(100). С.123-130.
- [2]. Schinke R.J., Stambulova N.B., Sic G. and Moore Z. International society of sport psychology position stand: Athletes' mental health, performance, and development. International Journal of Sport and Exercise Psychology, Feb. 20, 2017. Date of access: 21.05.2019, https://www.issponline.org/images/isspdata/position_stands/International_Society_of_Sport_Psychology_Position_Stand.pdf.

- [3]. Юмашев А.В. Триггерная концепция стресса: роль стресса в этиологии и патогенезе психосоматических нарушений // Азимут научных исследований: педагогика и психология, 2018. №7 (2(23)). С. 441-445.
- [4]. Менделевич В.Д. Антиципационные механизмы невротогенеза. М.: ИД «Городец», 2018. 448 с.
- [5]. Менделевич В.Д., Соловьева С.Л. Неврология и психосоматическая медицина. М.: МЕДпресс-информ, 2002. 608 с.
- [6]. Сумина Н.Е., Ничиполенко Н.П. Взаимосвязь антиципационной состоятельности с личностными свойствами // Российский психологический журнал, 2007. №4(4). С. 22-29.
- [7]. Громова Ч.Р. Взаимосвязь антиципационных способностей детей и их родителей (в условиях нормы и невротических расстройств). Автореферат дис. на соиск. уч.ст. канд. психол. наук. Казань, 2004. 20 с.
- [8]. Grupe D.W., Nitschke J.B. Uncertainty and anticipation in anxiety // Nat. Rev. Neurosci., 2013. V. 14(7). P. 488-501.
- [9]. Селье Г. Стресс без дистресса. М.: Виеда, 1992. 112 с.
- [10]. Linden W. Self-regulation theory in behavioral medicine // Biological barriers in behavioral medicine. NY and London: Plenum Press, 1988. P. 1-11.
- [11]. Anderson G.S. et al. The impact of acute stress physiology on skilled motor performance: implications for policing / G.S. Anderson, P.M. Di Nota, G.A.S. Metz, J.P. Andersen // Front. Psychol., 2019. 10. 2501. P. 1-11.
- [12]. Northoff G., Tumati G. «Average is good, extremes are bad» – Non-linear inverted U-shaped relationship between neural mechanisms and functionality of mental features // Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 2019. V. 104. P. 11-25.
- [13]. Меркулов В.М., Меркулова Т.И., Бондарь Н.П. Механизмы формирования глюкокортикоидной резистентности в структурах головного мозга при стресс-индуцированных психопатологиях // Биохимия, 2017. – т.82, вып. 3. С. 494-510.
- [14]. Карпман В.Л. Спортивная медицина. М.: «Физкультура и спорт», 1987. 187 с.
- [15]. Менделевич В.Д. Психология девиантного поведения. СПб.: Речь, 2005. 445 с.
- [16]. Ильин Е.П. Психофизиология состояний человека. СПб.: Питер, 2005. 412 с.
- [17]. Gale C., Harris A., Deary I.J. Reaction time and onset of psychological distress: the UK health and lifestyle survey // J. Epidemiol. Community Health, 2016. V.70. P. 813-817.
- [18]. Ein-Dor T., Viglin D., Doron G. Extending the transdiagnostic model of attachment and psychopathology // Frontiers in Psychology, 2016. V.7. P. 1-5.
- [19]. Metz G. A., Jadavji N. M., Smith L. K. Modulation of motor function by stress: a novel concept of the effects of stress on behavior / Eur. J. Neurosci., 2005. V. 22. P. 1190-1200.
- [20]. Filli L. et al. Probing corticospinal control during different locomotor tasks using detailed time-frequency analysis of electromyograms / L. Filli, C. Meyer, T. Killeen, L. Lörcincz, B. Göpfert, M. Linnebank, V. von Tscherner, A. Curt, M. Bolliger, B. Zörner // Front. Neurol., 2019. V.10. A.17. P.1-12.
- [21]. Rizzi G., Coban M., Tan K.R. Excitatory rubral cells encode the acquisition of novel complex motor tasks // Nature Commun., 2019. 10(1). P.1-10.
- [22]. Lerner T.N. Interfacing behavioral and neural circuit models for habit formation. // J. Neurosci. Res., 2020. 98(6). P. 1031-1045. doi:10.1002/jnr.24581
- [23]. Bartoň M. et al. The role of the striatum in visuomotor integration during handwriting: an fMRI study. / Bartoň M., Fňašková M., Rektorová I., Mikl M., Mareček R., Rapcsak S.Z., Rektor I. // J. Neural Transm. (Vienna), 2020. 127(3). P. 331-337.
- [24]. Moreno-Rius J. The cerebellum under stress // Front. Neuroendocrinol., 2019. V.54. P.1-22.
- [25]. Чарыкова И.А. и др. Анализ невротических проявлений у спортсменов высокой квалификации / И.А. Чарыкова, Е.М. Степанова, А.Г. Рамза, А.А. Мухомова, И.С. Вербицкая // Прикладная спортивная наука, 2020. №2(12). С.21-32.
- [26]. Клиценко О.А., Самороднов О.В. Моделирование психофункциональных качеств человека на основе показателей психомоторики // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, 2012. №4(3). С. 82-86.
- [27]. Клиценко О.А., Самороднов О.В. Анализ взаимосвязей показателей психомоторики с психофункциональными качествами адаптированных лиц (спортсменов) по результатам моделирования // Современная наука, 2016. №3. С.69-74.
- [28]. Diamond D.M. Cognitive, endocrine and mechanistic perspectives on non-linear relationships between arousal and brain function // Nonlinearity Biol. Toxicol. Med., 2005. V. 3(1). P. 1-7.
- [29]. Шутова С.В., Муравьева И.В. Сенсомоторные реакции как характеристика функционального состояния ЦНС // Вестник российских университетов. Математика, 2013. – 18(5-3). С. 2831-2840.

E.M. Степанова, А.Г. Рамза, А.А. Мухамова

A. STSIAPANAVA, A. RAMZA, A. MUKHAMAVA

THE ROLE OF ANTICIPATION PROCESSES IN PREDICTION OF NEUROTIZATION IN ATHLETES

Republican Scientific and Practical Center of Sports, Minsk, Belarus

Summary

The anticipatory concept of neurozogenesis considers the etiology and pathogenesis of neurotic states inseparably with the psychophysiological processes of anticipation. Understanding the mechanisms of neurozogenesis makes it possible to increase the efficiency of diagnostics at the early stages of the formation of neurotic states. In this work an attempt was made to consider sensomotor spatio-temporal anticipation as a possible marker of premorbid states and a predictor of development neurosis.

Key words: anticipation, neurozogenesis, neuroticism, sensomotor reaction to a moving object, sport psychology.

УДК 616-003.821:616.9]:616.8-071

А.Н. АСТАШОНОК¹, Н.Н. ПОЛЕЩУК¹, Т.В. ДОКУКИНА², С.А. ГУЗОВ³

ИНФЕКЦИОННЫЕ ТРАНСМИССИВНЫЕ И НЕ ТРАНСМИССИВНЫЕ АМИЛОИДОЗЫ: КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ И ИММУНОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ДЕГЕНЕРАТИВНОГО ПРОЦЕССА ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

¹*Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Беларусь;*

²*Республиканский научно-практический центр психического здоровья, Минск, Беларусь;*

³*УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь*

Проведено клинично-инструментальное обследование 210 пациентов с нейродегенеративными заболеваниями различного генеза (болезнью Альцгеймера, сосудистой деменцией, болезнью Крейтцфельдта-Якоба (БКЯ)), находившихся на обследовании и лечении в ГУ «РНПЦ психического здоровья», ГУ «РНПЦ неврологии и нейрохирургии» в период с 2014-2021 гг. С использованием нейровизуализационного анализа охарактеризован паттерн патологических признаков, позволяющий оценивать глубину и выраженность дистрофических процессов в ЦНС. Иммунобиохимический анализ плазмы/сыворотки крови, а в ряде случаев и цереброспинальной жидкости (ЦСЖ), позволил во всех случаях установить выраженность экспрессии целого ряда патологических маркеров. Наиболее информативными методами для ранней диагностики БКЯ является сочетание клинично-инструментальных, патоморфологических, индикации PrP^{Sc}, а также иммунопатологических показателей плазмы крови и ЦСЖ уровней по таким критериям как фосфорилированный белок тау, нейрофиламенты легких цепей, нейронспецифическая енолаза, наличие определенных концентраций которых отражает аксональное повреждение нейронов, дезорганизацию микротрубочек цитоскелета, а также нарушение функциональной активности метаболической системы нейронов.

Ключевые слова: амилоидозы, болезнь Альцгеймера, болезнь Крейтцфельдта-Якоба, диагностика, иммунобиохимический анализ, патоморфология.

Введение. С гиперпродукцией амилоида связано более 30 различных патологий, затрагивающих различные органы и системы организма человека [1,2]. Некоторые из них являются нейродегенеративными заболеваниями (НДЗ), наиболее известными из которых считаются болезнь Альцгеймера (БА), сосудистая (васкулярная) деменция, болезнь Крейтцфельдта-Якоба (БКЯ) и др. [3]. Практически все НДЗ ассоциированы с дисфункцией нейроглиальных белков. Аберрантный механизм в ЦНС может инициироваться в результате действия ряда патологических факторов, приводящих к конформационным изменениям в укладке церебральных белков, нарушениям их пространственной ориентации, аномальному протеолитическому расщеплению, снижению клиренса деградированного белка и т.д. [4]. Конформационно-измененные белки также накапливаются в ЦНС из-за неэффективности клеточных механизмов их удаления, что приводит к нарушению работы всего нейроглиакапиллярного комплекса, и, как следствие, определяет нейропатологические проявления.

Наиболее существенной особенностью всех этих патологических состояний является образование внутри- и вне клеток ЦНС агрегированных фибриллоподобных структур, именуемых амилоидом [5]. Амилоид представляет собой β-складчатую супервторичную структуру, формирующуюся в результате преобразования пептидов или белков из их растворимых функциональных состояний в сложноорганизованные агрегаты, откладывающихся в виде бляшек. Большинство церебральных амилоидозов носят спорадический характер, но некоторые из них связаны с генетическими мутациями, которые в большинстве случаев влияют на скорость развития заболевания и тяжесть его течения [6].

Существует особый класс инфекционных трансмиссивных нейродегенеративных патологий, которые могут передаваться от носителя к восприимчивому организму. Эти болезни связаны с аберрантно свернутым амилоидоподобным прионным белком, именуемым PrP^{Sc}, PrP^{RES} или PrP²⁷⁻³⁰ [7]. Прижизненная диагностика прионных заболеваний по ряду причин остается весьма сложной

задачей. Они демонстрируют очень разные клинические проявления у людей вследствие того, что проявляются в виде спорадических (спорадическая болезнь Крейтцфельда-Якоба (спБКЯ), фатальная семейная бессонница (спФСБ), прионопатия с переменной устойчивостью к протеазам) и генетических заболеваний, связанных с мутацией в гене PrP^C (гБКЯ, гФСБ, синдром Герстманна-Штреусслера-Шейнкера) [8]. Также прионные заболевания возникают при трансмиссии от инфицированных животных к человеку (новый вариант БКЯ) и проведении медицинских манипуляций или использовании препаратов животного происхождения (ятрогенные формы БКЯ.) [8,9]. Каждые из этих форм характеризуются полиморфизмом. Сходство многих признаков прионных расстройств с симптомами других неврологических заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, лобно-височная дегенерация, паркинсонизм и т.д. затрудняет их клинико-инструментальную дифференциальную диагностику. В этой связи актуальным является выявление косвенных биомаркеров в крови и цереброспинальной жидкости (общий и фосфорилированный тау-белок, β -амилоид A β 42, нейрофиламенты L-цепей и др.). До настоящего времени углубленные исследования по количественному лабораторному определению данных показателей при различных амилоидозах фрагментарны, их систематизация не проводилась. Также практически не изучалась и возможная взаимосвязь концентрации биомаркеров с тяжестью клинического течения нейродегенеративного процесса. Неясно какова патогномоничная картина отдельных нозоформ амилоидозов, имеются ли различия между гистопатологическими изменениями, уровнем экспрессии биомаркеров нейродегенерации и клинической картины заболевания.

Целью работы явилось клинико-инструментальное обследование и анализ уровня иммунопатологических нейродегенеративных маркеров у пациентов с амилоидозами инфекционного и неинфекционного генеза.

Материалы и методы. *Характеристика групп пациентов и критерии выбора.* В основу работы положены результаты клинико-инструментального обследования 210 пациентов, находившихся на обследовании и лечении в ГУ «РНПЦ психического здоровья», ГУ «РНПЦ неврологии и нейрохирургии» в период с 2014-2021 гг. Из них 76 пациентов с деменцией при болезни Альцгеймера (БА) составили основную анализируемую группу (возраст – 66-89 лет). Группа сравнения включала 134 пациента, из которых 126 (возраст – 69-90 лет) с деменцией сосудистого генеза (СД), 8 (возраст – 56-65 лет) – с деменцией мультифокального типа, т.е. болезнью Крейтцфельда-Якоба (БКЯ).

Клинико-неврологическое обследование включало уточнение жалоб, сбор анамнеза. Степень когнитивных дисфункций определяли по результатам оценки клинической рейтинговой шкалы деменции (CDR). Для клинической верификации предполагаемого диагноза БА использовали международные диагностические критерии NINCDS-ADRDA и NIA-AA [10]. Диагноз СД устанавливали на основании наличия в анамнезе сосудистых взаимоотягачивающих факторов: артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, дислипидемии и др.).

Критериями установления вероятной БКЯ являлась прогрессирующая деменция, включающая двигательные расстройства и поведения, нарушения корковых функций, зрения (зрительная диплопия), сочетание пирамидной и экстрапирамидной недостаточности, мозжечковая атаксия и др.

Нейропсихологическая диагностика проводилась для объективизации когнитивных нарушений, связанных с памятью, вниманием, мышлением и речью у пациентов с БА и СД. Использовались следующие методики и шкалы: краткая шкала оценки когнитивного статуса; тест «5 слов» тест рисования часов [11].

Для определения локализации и характера выраженности атрофии, выявления признаков нейродегенерации, сосудистого повреждения или другой патологии проводили нейровизуализационную диагностику методом магнитно-резонансной томографии (МРТ). Использовали аппарат «General Electric Optima 450 W» (производство США) с напряженностью поля 1,5 Тл для получения стандартных изображений в различных плоскостях. Оценивали наличие кортикальных поражений, инфарктов серого вещества мозга, состояние перивентрикулярного и подкоркового белого вещества, очагов хронического ишемического повреждения (микроангиопатии), таламических, ствольных нарушений, атрофии гиппокампа и т.д.

Лабораторные методы исследования. Для исследования забирали образцы крови, взятые путем венопункции из локтевой вены. Сыворотку крови получали сразу после взятия путем центрифугирования при 3000 оборотов в течение 15 минут. Надосадочную жидкость отделяли и хранили при -20°C для дальнейшего использования. Для получения плазмы использовали специальные пробирки, содержащие антикоагулянт. Образцы крови выдерживали в холодильнике

при +4 °С в течение 50 минут и центрифугировали при 3000 оборотов в течение 10-15 мин. Надосадочную жидкость переносили в отдельные пробирки, вносили коктейль ингибиторов протеаз (1мМ) и подвергали глубокой заморозке (-70°С) до использования.

Иммуноферментный анализ. Для количественного определения уровня маркеров нейродегенерации в клиническом материале использовали следующие коммерческие тест-системы: Аβ42 Elisa Kit (ЕН2685, Китай); МАРТ (Microtubule associated protein tau) Elisa Kit (ЕН2030, Китай), Human Tau [pT181] phosphoELISA Kit (КНО0631, США), Human neurofilament- (light) (NF-L) chain Elisa Kit (EiAab, США), Human neuron specific enolase (NSE), Elisa Kit (Wuhan, США). Всего для проведения работы на каждый из анализируемых биомаркеров было протестировано 210 проб клинического материала (сыворотка и/или плазма крови), включая 46 проб цереброспинальной жидкости.

Патоморфологический анализ. Постмортальное исследование ткани головного мозга было проведено на секционном материале 4 умерших пациентов с диагнозом БА, 3 – с СД и 2 – с БКЯ. Для гистологического исследования вырезали фрагменты из наиболее информативных участков коры больших полушарий головного мозга (поля 1, 4, 10, 17, 21, 22, 39), мозжечка, таламуса, гиппокампа, стриопаллидарной системы, которые фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина в течение 2 недель с последующей заливкой в парафин. Из парафиновых блоков приготавливали серийные срезы толщиной 5 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином, по Ван-Гизону, Кловер-Барреру.

Макроскопически оценивали массу головного мозга, наличие атрофического процесса в виде истончения извилин больших полушарий головного мозга, наличие заместительной наружной внутренней гидроцефалии, очагов серого и красного размягчения, ремалейционных кист.

Для БКЯ определяли присутствие типичной патоморфологической картины, включающей спонгиозное состояние головного мозга, гибель нейронов, астроцитарный глиоз, наличие или отсутствие амилоидных бляшек. Выраженность патологических процессов оценивали по 4-х крестной системе: – (отсутствие изменений), + (вариабельность изменений); + (единичные изменения), ++ (умеренные); +++ (тяжелые).

Дополнительно для подтверждения диагноза использовали сконструированные сенсорные покрытия, позволяющие выявлять протеазорезистентный прионный белок PrP^{Sc} [12].

Электронная микроскопия. Материал для электронной микроскопии, взятый из тех же областей мозга, что и для гистологического исследования, пропитывали и заливали смесью смол марки Spurr. Ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме Ultracut E (Reichert Jung, Австрия) и исследовали на микроскопе JEM-1011 (Jeol, Япония) при увеличениях х6000–х200 000.

Статистическая обработка результатов. Статистический анализ проводили в программе Statistica 7.0. Нормальность распределения значений параметров оценивали с использованием критерия Шапиро–Уилка. Результаты представлены как М (медиана) и интерквартильный размах [Q1;Q3 – процентиля]. Для сравнения количественных данных трех и более независимых выборок использовали непараметрический критерий Краскела–Уоллиса. Для статистического анализа различия считали статистически достоверными при достигнутом уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. *Клинико-инструментальное обследование.* В группе исследования деменция при БА с ранним началом (F00.0) была установлена в 11 случаях, деменция при БА с поздним началом (F00.1) – в 41 случае, деменция при БА атипичная или смешанного типа (F00.2) – в 24 случаях. Мужчин было 31, женщин – 45.

Неврологический статус пациентов с БА характеризовался очаговой симптоматикой. Выявленные расстройства затрагивали в основном рефлекторную сферу. Неврологические знаки отмечены у 26%. Слабость конвергенции выявлена у 7%, отклонение языка от средней линии – у 4%, незначительная асимметрия носогубных складок – у 13%, легкая асимметрия сухожильных и надкостничных рефлексов – у 8%. Частота встречаемости пирамидного синдрома составляла 22%, мозжечковых нарушений – 13%, бульбарного синдрома – 5%.

Глубина нарушений психических функций у пациентов с БА коррелировала с тяжестью и длительностью заболевания. У большинства пациентов (78%) отмечалась умеренная и тяжелая деменция. В клинической картине доминировали нарушения памяти (100%), у 55% пациентов выявлялась оптико-пространственная агнозия. Психопатологические проявления в виде дезориентировки в месте и времени, раздражительности, эмоциональной лабильности, спонтанной агрессии, сопротивлению помощи и уходу имели место в 72% случаев, бредовая симптоматика – у 38%. Снижение или утрата критичности к своему состоянию и заболеванию выявлялись у 100%

обследованных. Заболевание носило прогрессивный характер течения. При нейровизуализации (МРТ) у 72% пациентов выявлены признаки различной степени выраженности атрофические изменения гиппокампальной области височной доли, медиобазальных (медиальных) отделов коры головного мозга, увеличение размеров III желудочка, умеренное расширение рогов боковых желудочков, атрофия теменной области.

В нозологической структуре деменций сосудистого типа (F01) преобладали смешанная корковая и подкорковая деменция (F01.3) – 46%, мультиинфарктная деменция (F01.1) – 36%. Диагноз СД с острым началом (F01.0) установлен в 9%, подкорковая деменция (F01.2) – 5%, неуточненная СД (F01.9) – 4%. Мужчин было 59, женщин – 67.

Психопатологические и неврологические проявления имели связь с эпизодами острой недостаточности мозгового кровообращения, стойкой артериальной гипертензией. Слабость конвергенции выявлена у 27%, отклонение языка от средней линии – у 44%, незначительно выраженная асимметрия носогубных складок – у 24%, Повышение глубоких сухожильных рефлексов отмечено в 65%, разгибательные подошвенные ответные реакции – в 38%, мозжечковые нарушения – в 19,9%, бульбарная симптоматика (включая дизартрию и дисфагию) – в 38%, псевдобульбарный синдром с патологическими смехом и плачем – в 6% случаев. У 8% отмечались эпилептические приступы.

Расстройства психических функций у пациентов с СД были представлены нарушениями памяти, регуляторной функции деятельности и внимания разной степени выраженности – 100% случаев, у 65% пациентов выявлялись расстройства речи (афазия, агнозия, апраксия, парафразия). Раздражительность, эмоциональная лабильность, спонтанная агрессия, имели место в 68% случаев, бредовая симптоматика – в 44%. Признаки снижения или утраты способности ориентироваться в собственной личности, месте, времени, критичности к своему состоянию и заболеванию выявлялись у 100% обследованных. Заболевание носило волнообразный характер течения. При нейровизуализации у пациентов с СД на фоне изменений корковых структур выявлялись патологические процессы в глубоком белом веществе мозга в виде лакунарных инфарктов (микро, умеренного или выраженного «сливного» лейкоареоза) у 80%, у 56% – перивентрикулярный лейкоареоз; у 68% – корковая атрофия и гидроцефалия.

Диагноз БКЯ (F02.1) был установлен в 8 случаях, Мужчин было 3, женщин – 5. Неврологически симптоматика включала признаки мозжечковой атаксии – 88%, миоклонус – у 75%, гипокинезию – у 13%, зрительные нарушения в виде дефектов поля зрения, нечеткости, диплопии – у 63%, экстрапирамидные расстройства – 13% пациентов. Нарушения памяти и снижение внимания имели место у 88% пациентов с БКЯ. Тревожно-депрессивная симптоматика выявлена в 63% случаев, галлюцинации – в 38%. Данные нейровизуализации показали полиморфный характер патологических изменений. В режимах FLAIR и DWI усиление сигнала от коры имело место в 63% случаев, усиление сигнала от гиппокампа, таламуса, мозжечка и структур среднего мозга – в 75%, изменения только в коре головного мозга – в 24% случаев.

Количественное определение концентрации биомаркеров нейродегенерации в крови и ЦСЖ. На следующем этапе для выявления глубины выраженности дегенеративного процесса в ЦНС проводили иммуноферментный анализ (ИФА) образцов плазмы/сыворотки крови пациентов на наличие биомаркеров: β -амилоид 42 (A β 42), общий тау, фосфорилированный Тау-белок (фосфоТау), нейрофиламенты L-цепей (НейрL), нейронспецифическая енолаза (НСЕ). Результаты суммированы в таблице 1.

Табл. 1. Уровень экспрессии маркеров нейродегенеративного процесса у пациентов с дементными состояниями

Клинический диагноз/число пациентов в группе	Концентрация анализируемых биомаркеров в крови и ЦСЖ				
	Плазма (пг/мл)	Плазма (пг/мл)	Плазма (пг/мл)	Сыворотка (пг/мл)	ЦСЖ (нг/мл)
	A β 42	Общий тау	ФосфоТау	НейрL	НСЕ
БА (n=76)	11,02 [0;18]	67,9 [17,4;121,5]	11 [8,2;87,9]	31 [0;70,8]	9 [0;11,5]
СД (n=126)	9,04 [6,95;12,8]	34,03 [25,47;37,61]	38 [18;57]	14,85 [0;41]	8 [0;10]
БКЯ (n=8)	8,5 [2,5;11]	88,22 [17,51;103,37]	100,5 [9,5;133,5]	59,7 [49,55;66,1]	35 [10;99,5]

В концентрации белков (Аβ42, общий тау) у пациентов с БА, СД и БКЯ не было выявлено статистически значимых различий (для Аβ42: $p=0,15-0,72$, ($P>0,05$); для общего тау: $p=0,28-0,72$ ($p>0,05$), соответственно). Примечательно, что у пациентов с БКЯ отмечено незначительное снижение в плазме крови β-амилоида Аβ42 и повышение уровня общего белка тау. Причины низких количеств маркера нейродегенерации (Аβ42) в крови пациентов при выраженных неврологических проявлениях дискуссионны. Существует ряд гипотез, объясняющих снижение уровня Аβ42 при различных дементных состояниях, включая БКЯ. Амилоид Аβ42 секретируется в межклеточное пространство по круговому потоку, в котором циркулирует ЦСЖ. При физиологических состояниях этот белок существует в водорастворимой форме, и только лишь его отдельные фрагменты участвуют в амилоидогенезе [14]. Поскольку Аβ42 более гидрофобный, то его именно короткие фрагменты могут агрегировать и откладываться в виде амилоидных бляшек в ткани ЦНС. Более длинные полимерные фрагменты этого белка не выделяются в межклеточное пространство, что обусловлено особенностями анатомического строения глиолимфатической системы мозга [14]. Это затрудняет обнаружение агрегированных форм Аβ42 методом иммуноферментного анализа. Тем не менее, по мнению ряда исследователей, считается, что низкие количества Аβ42 являются предиктором неблагоприятного исхода заболевания, что актуально для проведения более углубленного нейровизуализационного анализа [14].

В отношении других биомаркеров (фосфоТау, НейрL, НСЕ) выявлены более статистически значимые различия в их концентрации (рисунок 1).

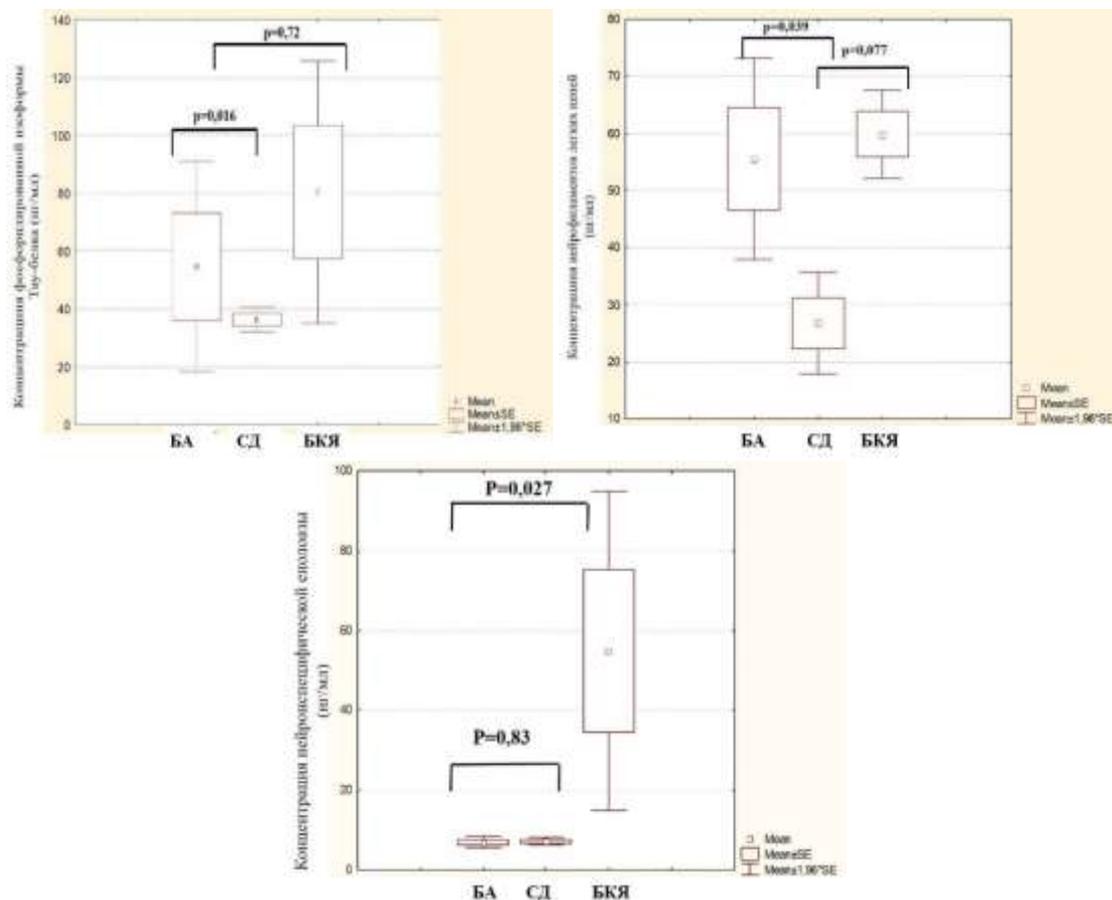


Рис. 1. Значимость различий в концентрации биомаркеров нейродегенерации по критерию Краскела-Уоллиса в группе пациентов с БА, СД и БКЯ

Установлено, что концентрации маркеров (фосфоТау, НейрL, НСЕ) были более значимо повышены в плазме/сыворотке крови у пациентов с БА и БКЯ. По уровню НейрL, в частности, удалось четко разделить пациентов с БКЯ и СД. Самый низкий результат по этому показателю при БКЯ более чем в два раза превышал количественные значения при СД. Концентрация в плазме крови фосфоТау, хотя и указывала некоторое совпадение между пациентами СД и БА, но более статистически значимые различия выявлены именно у пациентов с БКЯ. Это свидетельствует о значимой роли данного биомаркера для количественной оценки степени активности и

прогрессирования заболевания. Известно, что нейрофиламенты состоят из трех субъединиц: легкой (НейрL), средней и тяжелой цепи [15]. Выявление их выше показателей нормы (0-40 пг/мл) свидетельствует об аксональном повреждении нейронов. В ряде исследований также указывалось, что чаще всего высокие концентрации НейрL отмечались у лиц со спорадической БКЯ, имеющих генотипы MV2 и VV2 в 129 кодоне прионного гена PRNP [16].

Еще одним важным перспективным маркером, отмеченным в исследовании, была НСЕ. Достоверно чаще высокие уровни данного биомаркера регистрировались у лиц с БКЯ по сравнению с БА и СД. Известно, что НСЕ представляет собой один из типов гликолитического фермента енолазы. НСЕ является гамма-гомомером, доминирующим в нейронных и нейроэндокринных тканях. Концентрация этого биомаркера в сыворотке или ЦСЖ наиболее часто повышена при заболеваниях, которые ассоциируются с прогрессирующей гибелью нейронов. С учетом клинико-инструментальных данных данный тест, определяющий содержание фермента, может применяться в дифференциальной диагностике дементных состояний. Повышенная концентрация НСЕ (>20 нг/мл), как правило, свидетельствует о мультифокальном амилоидозе, таком, как болезнь БКЯ. Высокие уровни НСЕ указывают на неблагоприятный исход заболевания.

Патоморфологический анализ при БА, СД и БКЯ. С целью выявления специфических признаков, патогномичных для каждой формы нейродегенеративного процесса, у пациентов с диагнозами БА, СД и БКЯ, умерших в РНПЦ психического здоровья, проведена аутопсия.

При БА выявлялись признаки как сосудистого поражения головного мозга, так и атрофического нейродегенеративного процесса (сенильные амилоидные бляшки, нейрофибрилярные внутриклеточные сплетения). Макроскопически отмечали следующие признаки: общее уменьшение размеров мозга, различной степени выраженности атрофия вещества головного мозга (преимущественно височной и теменной доли), умеренно-выраженное расширение желудочковой системы и борозд коры, сосудистая ангиопатия. При микроскопическом исследовании регистрировалось диффузное уменьшение количества нейронов различных слоев (главным образом III и VI), отсутствие характерной радиальной исчерченности, изменение миелоархитектоники коры больших полушарий, а также цитоархитектоники нейрональных клеток (набухание тел нервных клеток, отсутствие вещества Ниссля, наличие в цитоплазме включений по типу липофусцина, формирование клеток-теней, нейронофагия).

Для СД в зависимости от коморбидной патологии макроскопически отмечали следующие признаки: уменьшение средних размеров мозга (с 1360 до 1030 и ниже), наличие очагов серого и красного размягчения, кист (преимущественно в области подкорковых ядер и белого вещества мозга), атрофия извилин больших полушарий, выраженная наружновнутренняя гидроцефалия. При микроскопическом исследовании наблюдалось заметное уменьшение количества нейронов коры больших полушарий (главным образом на уровне III наружного пирамидального слоя полей 4,17,21,22,39) с нарушением послойной и радиальной исчерченности. В белом веществе преобладали признаки диффузной пролиферации клеток макроглии, а в субэпендимальных отделах – мелкие кровоизлияния и очаги энцефаломалиции.

Учитывая, что при БА основным механизмом гибели нейронов является апоптоз, заключающийся в набухании сомы нейронов, конденсации и фрагментации ядра, разрушении цитоскелета с дегрануляцией эндоплазматического ретикулула и деструкции митохондриального матрикса). Такие характерные изменения нейронов отмечались гораздо реже при СД, что может свидетельствовать о важном патогенетическом признаке такого типа патологии.

При БКЯ макроскопически обнаруживалось снижение объема и массы головного мозга, сужение извилин, расширение борозд на конвексимальной поверхности коры больших полушарий, главным образом лобных и теменных долей, расширение III и боковых желудочков. Патоморфологические изменения головного мозга характеризовались триадой ключевых признаков: 1) спонгиозное состояние ткани мозга (*status spongiosus*); 2) гибель нейроглиальных клеток всех слоев коры (преимущественно III-V слой) по типу очаговой или диффузной мозаичности; 3) изменения цитоархитектоники астроцитов в виде их пролиферации и резко выраженной гипертрофии.

Ранняя диагностика и лечение заболеваний, приводящих к когнитивным расстройствам – одна из важнейших медицинских и социальных проблем современного общества. Каждое из нейродегенеративных заболеваний имеет различную эпидемиологию, клиническую симптоматику, лабораторные и нейровизуализационные особенности, невропатологию и лечение. Нейродегенеративные расстройства патологически характеризуются отложением аномальных белков в головном мозге. До настоящего времени не была разработана надежная и объективная

прижизненная диагностика заболевания. Также до настоящего времени не существовало эффективных методов идентификации биомаркеров, пригодных для широких скрининговых исследований, что влечет за собой искажение реальных данных в отношении эпидемиологической ситуации по данным нозологическим формам в РБ, в том числе и отсутствие возможности дифференциальной диагностики с различной неврологической патологией.

В этой связи актуальной задачей является экстраполирование полученных научных данных для систематизации патоморфологических, биохимических и наномолекулярных биомаркеры прогрессирования нейродегенеративного процесса для дифференциальной диагностики амилоидозов различного генеза (таблица 2).

Табл. 2. Сравнительная характеристика клинико-патоморфологических особенностей амилоидозов различного генеза – БА, СД и БКЯ

Патологические признаки	Амилоидозы		
	БКЯ	БА	СД
<i>1. Общие клинические паттерны заболевания</i>			
– Нарушения психических функций организма (память, мышление, речь, восприятие)	+++	+++	+++
– Псевдобульбарный синдром	+	+-	+
– Миоклонус	++	–	–
– Пирамидная и экстрапирамидная недостаточность	+++	+-	–
– Повышение функции сухожильных и надкостничных рефлексов	+	–	–
– Снижение мышечного тонуса, парезы конечностей	–	–	–
– Эпилептические припадки	–	+-	+-
– Атрофия, фибрилляции мышц конечностей, туловища	+-	–	–
– Гиперкинезы	++	–	–
– Офтальмологические нарушения	++	+	+
– Мозжечковые нарушения	++	+	+
– Снижение массы тела на терминальной стадии, кахексия	++	++	++
– Патологический тип дыхания	Бульбарный	Смешанный	Смешанный
<i>2. Основные патоморфологические признаки</i>			
– Гибель нейронов передних рогов спинного мозга	–	–	–
– Гибель нейронов коры больших полушарий, подкорковых и базальных ядер	+++	–	–
– Диффузное уменьшение числа нейронов всех слоев коры больших полушарий	+++	+++	+++
– Спонгиоз белого вещества спинного и головного мозга	+-	–	–
– Спонгиоз серого вещества головного мозга (нейропиля)	+++	–	–
– Пролиферация астроглии, клазматодендроз астроцитов	+++	+-	+-
– Демиелинизация белого и серого вещества головного и спинного мозга	–	–	–
– Сосудистая-инфильтративная реакция	–	–	–
– Периваскулярный отек головного мозга с признаками периваскулярной энцефаломалиции	–	+-	+++
– Умеренно выраженные признаки внутренней и наружной атрофии головного мозга в виде расширения желудочковой системы	+-	+++	+++
– Наличие в субэпендимальных отделах мелких кровоизлияний и очагов энцефаломалиции	–	+-	+++

Известно, что различные нозологические формы деменций (кортикальные, субкортикальные, смешанные, мультифокальные) имеют четкую патоморфологическую основу, связанной с активацией и пролиферацией астроглии, прогрессирующей гибели нейронов различных слоев коры, подкорковых структурах, белом веществе мозга [4]. Однако истинные причины и механизмы, обуславливающие развитие данного процесса для многих заболеваний ЦНС остаются по-прежнему малоизученными. Таким образом, актуальным является поиск и исследование ранних (на додементной стадии) высокочувствительных и специфичных биомаркеров с использованием не инвазивных или малоинвазивных методов диагностики.

Заключение. Охарактеризован паттерн патологических признаков, позволяющий оценивать глубину и выраженность дистрофических процессов в ЦНС. Выявлены статистически значимые различия в концентрации трех биомаркеров (фосфоТау, НейрL, НСЕ), что позволило получить дополнительные маркеры выраженности и локализации нейродегенеративного процесса и уже на лабораторном уровне дифференцировать не трансмиссивные амилоидозы (болезнь Альцгеймера, сосудистая деменция) от инфекционных (трансмиссивных) – болезни Крейтцфельда-Якоба. Полученные данные позволили расширить возможности оценки структурно-функционального состояния нейроглиакапиллярного комплекса и более достоверно спрогнозировать течение и исход заболевания.

Литература

- [1]. *Picken M.M.* The pathology of amyloidosis in classification: A review // *Acta Haematologica*. 2020. Vol. 143. P. 322–334.
- [2]. *Aneeqa N., Saima Z., Inga Z.* Neurodegenerative proteinopathies in the proteoform spectrum – tools and challenges // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. Vol. 22. P. 1–15.
- [3]. *Dugger B.N., Dickson D.W.* Pathology of Neurodegenerative Diseases // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2017. Vol. 9. P. 1–22.
- [4]. *Jellinger K.A.* Basic mechanisms of neurodegeneration: a critical update // *J. Cell Mol. Med.* 2010. Vol. 14. P. 457–487.
- [5]. *Treusch S., Cyr D.M., Lindquist S.* Amyloid deposits: Protection against toxic protein species? // *Cell Cycle*. 2009. Vol. 8. P. 1668–1674.
- [6]. *Rostagno A., Holton J. L., Lashley T., Revesz T., Ghiso J.* Cerebral amyloidosis: amyloid subunits, mutants and phenotypes // *Cell Mol. Life Sci.* 2010. Vol. 67. P. 581–600.
- [7]. *Sigurdson C.J., Bartz J.C., Glatzel M.* Cellular and molecular mechanisms of prion disease // *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. 2019. Vol 14. P. 497–516.
- [8]. *Saá P., Harris D.A., Cervenakova L.* Mechanisms of prion-induced neurodegeneration // *Expert Reviews in Molecular Medicine*. 2016. Vol. 18. P. 1–18.
- [9]. *Diack A.B., Bartz J.C.* Experimental models of human prion diseases and prion strains // *Handbook of Clinical Neurology*. 2018. Vol. 153. P. 69–84.
- [10]. *Jack C.R., Albert J.M., Knopman D.S., McKhann G.M., Sperling R.A., Carillo M., Thies W., Phelps C.H.* Introduction to Revised Criteria for the Diagnosis of Alzheimer’s Disease: National Institute on Aging and the Alzheimer Association Workgroups // *Alzheimers Dement.* 2011. Vol. 7. P. 257–262.
- [11]. Метод определения когнитивных нарушений при болезни Альцгеймера: инструкция по применению № 125-1120: утв. М-вом здравоохранения Республики Беларусь 07.12.2020 / Т.В. Докукина [и соавт.]. – Минск, 2020. – 16 с.
- [12]. *Асташинок А.Н., Докукина Т.В., Полецук Н.Н., Рубаник Л.В., Махров М.В., Шеремет Е.А.* Вариабельность биомаркеров (амилоидов Аβ40, Аβ42, белков тау, PrP₂₇₋₃₀) у пациентов с болезнью Альцгеймера по сравнению с другими психическими и нейродегенеративными заболеваниями // *Здравоохранение*. 2017. № 12. С. 33–40.
- [13]. *Fagan A.M., Head D., Shah A.R., Marcus D., Mintun M., Morris J.C., Holtzman D.M.* Decreased CSF Aβ42 correlates with brain atrophy in cognitively normal elderly // *Ann Neurol*. 2009. Vol. 65. P. 176–183.
- [14]. *Janelidze S., Stomrud E., Palmqvist S., Zetterberg H., Westin D. van, Jeromin A., Song L., Hanlon D., Hehir C.A Tan, Baker D., Blennow K., Hansson O.* Plasma β-amyloid in Alzheimer’s disease and vascular disease // *J. Nature*. 2016. Vol. 6. P. 1–11.
- [15]. *Yuan A., Nixon R.A.* Neurofilament Proteins as Biomarkers to Monitor Neurological Diseases and the Efficacy of Therapies // *Front Neurosci.* 2021. Vol. 15. P. 1–28.
- [16]. *Kanata E., Golanska E., Villar-Piqué A., Karsanidou A., Dafou D., Xanthopoulos K., Schmitz M., Ferrer I., Karch A., Sikorska B., Liberski P., Sklaviadis T., Zerr I., Llorens F.* Cerebrospinal fluid neurofilament light in suspected sporadic Creutzfeldt-Jakob disease // *J. Clin. Neurosci.* 2019, Vol. 60. P. 124-127.

A.N. ASTASHONOK¹, N.N. POLESHCHUK¹, T.V. DOKUKINA², S.A. GUZOV³

INFECTIOUS TRANSMISSIBLE AND NON-TRANSMISSIBLE AMYLOIDOSES: CLINICAL LABORATORY AND IMMUNOPATHOLOGICAL MARKERS OF THE DEGENERATIVE PROCESS IN CENTRAL NERVOUS SYSTEM

¹*Republican Research & Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Belarus;*

²*Republican Research and Practice Mental Health Center, Minsk, Belarus;*

³*Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus*

Summary

The clinical and instrumental examination of 210 patients with neurodegenerative disorders (Alzheimer's disease, vascular dementia, Creutzfeldt-Jakob disease (CJD), was performed. Using brain imaging analysis, the pattern of pathological signs, allowing us to evaluate the depth and severity of dystrophic processes in the CNS, was characterized. Immunobiochemical analysis of blood plasma or serum and in some cases of cerebrospinal fluid (CSF) allowed to determine in all cases the expression of a number of pathological biomarkers. The most informative methods for early diagnosis of CJD is clinical and instrumental examination of patient, pathomorphological analysis, as well as laboratory analysis of blood plasma and CSF levels of the tau phosphorylated, neurofilaments light chain and neuronspecific enolase.

Key words: amyloidosis, Alzheimer's disease, Creutzfeldt-Jakob disease, diagnosis, immunobiochemical analysis, pathomorphology.

УДК 616-001.18/19-073.65

А.Л. ВАЛЕНТЮКЕВИЧ¹, В.Д. МЕЛАМЕД¹, С.А. ЧИЖИК², А.И. ОСЛАВСКИЙ¹
**ТЕМПЕРАТУРНАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ КАК МЕТОД ДИАГНОСТИКИ
ТЯЖЕСТИ ХОЛОДОВОЙ ТРАВМЫ**

¹Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь;

²Национальная академия наук Беларуси, Минск, Беларусь

Исследована возможность использования динамического тепловидения при экспериментальных отморожениях. Установлено, что температурная визуализация эффективна в качестве неинвазивного метода верификации степени тяжести повреждения на начальных этапах и позволяет прогнозировать жизнеспособность тканей, подвергшихся холодовому воздействию, что может служить критерием выбора дальнейшей тактики лечения. Полученные термографические результаты, характерные для поверхностных и глубоких отморожений, коррелируют с проведенными морфо-гистологическими исследованиями.

Ключевые слова: крысы, холодовая травма, диагностика, тепловизор, морфо-гистологические исследования.

Введение. Лечение и профилактика холодовой травмы остается одной из сложных медицинских и социальных проблем. Клиническое течение криотравмы сложно прогнозировать из-за многообразия патофизиологических процессов в тканях [3, 8]. Отсутствие признанной диагностики и тактики лечения пациентов как с поверхностными, так и глубокими отморожениями обуславливает развитие осложнений и констатацию большого процента инвалидизации [1]. К сожалению, выбор лечебной тактики зачастую основывается лишь на опыте хирурга при оценке степени холодового повреждения, несмотря на существующие методы диагностики [4].

Одним из наиболее важных и информативных параметров организма при различных патологических состояниях является локальная температура тела [7]. Действие низких температур приводит к развитию патологических процессов в органах и тканях, вызывая нарушение теплового баланса и значительные изменения этого показателя, значения которого могут в значительной мере определять лечебную тактику [5].

Разновидностью тепловидения, при которой исследуются временные изменения температурных полей, называют динамическим тепловидением [2]. Применение тепловизора в комбустиологии позволяет определить динамику температуры тканей, подвергнутых холодовому воздействию, а также перифокальных зон [6,9,11]. Динамическая регистрации температурных изменений дает возможность прогнозировать степень криоповреждения и возможную обратимость процессов поврежденных тканей, однако экспериментальных исследований, посвященных обоснованию данного метода при холодовой травме, нами не найдено.

Разработка новых способов диагностики включает доклинические экспериментальные исследования, предусматривающие создание экспериментальной модели холодовой травмы с возможностью температурной визуализации, которая может быть критерием ранней оценки жизнеспособности тканей, подвергшихся криовоздействию, для последующей адекватной тактики лечения.

Цель исследования заключалась в оценке результатов применения температурной визуализации тканей при холодовой травме для диагностики степени повреждения и обосновании ее достоверности морфо-гистологическими исследованиями в эксперименте.

Материалы и методы. Исследование по моделированию контактных отморожений и их температурной визуализации было проведено на 30 белых лабораторных крысах в возрасте 5-6 месяцев массой тела 210,2 ±20,3 грамм. Подопытные животные находились на стандартном рационе питания. Эксперимент проводился в условиях операционной вивария УО «Гродненский государственный медицинский университет» при комнатной температуре 22°C. Работа с животными выполнена с соблюдением «Правил и норм гуманного обращения с биологическими объектами исследований» УО «Гродненский государственный медицинский университет» (протокол №1 от 30.01.2018), а также в соответствии с «Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных,

используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 1986). Все этапы эксперимента проводились по собственной разработанной схеме с использованием эфирного наркоза по закрытому контуру. Наркотизированным лабораторным животным непосредственно перед проведением эксперимента осуществляли удаление шерсти в межлопаточной области путем выщипывания с последующим выбриванием.

Моделирование холодовой травмы производилось посредством «Устройства для моделирования отморожений различной степени тяжести» [10], позволяющим воспроизводить стандартизированные по площади и глубине контактные криповреждения.

Лабораторные животные были разделены на 2 группы по 15 крыс. В первой группе моделировали поверхностные отморожения (5-секундный контакт устройства с кожей крысы). Во 2-й группе для воспроизведения глубокого контактного холодового повреждения необходимо было 30-секундное воздействие.

При моделировании холодовой травмы для динамической фиксации температуры и ее визуального отображения использовали профессиональный тепловизор Seek Thermal Shot Pro (модель KIT FB0110, США) - аппарат для измерения тепловой картины заданных областей с возможностью их отображения. Модель оснащена профессиональной тепловизионной камерой и позволяет получить фото- и видеoinформацию в тепловом диапазоне с возможностью вывода на компьютер. Прибор обладает следующими характеристиками: температурный диапазон от -40° до 330° C, угол обзора составляет 57° , разрешение: 320×240 . Съемка в тепловом диапазоне производилась со стационарного штатива на расстоянии 0,3 метра до животного.

Для верификации достоверности полученных тепловизионных показателей последние сопоставляли с морфо-гистологическими данными, определяя характер и глубину холодового повреждения посредством забора материала путем иссечения скальпелем участков, подвергнутых холодовому воздействию, и прилежащих интактных тканей в межлопаточной области. Готовили гистологические препараты с их последующим изучением и микрофотографированием с помощью исследовательского микроскопа и цифровой фотокамеры (Canon EOS 700D). Визуально оценивалось состояние раны и покрывающего её новообразованного эпителия, состояние подлежащей соединительной ткани и выраженность воспалительных изменений.

Результаты и их обсуждение. Для моделирования поверхностного отморожения производилось прикладывание холодового контейнера, заполненного жидким азотом, к депилированному участку кожи крысы в межлопаточной области продолжительностью 5 секунд. При этом интактная температура указанной зоны составляла $36 \pm 0,5^{\circ}$ C.

На термограммах зона отморожения была представлена синим цветом. Вокруг тканей, подвергшихся контактному воздействию, визуализировалась перифокальная зона толщиной до 2 мм, в виде ярко-красного ободка, а интактные кожные покровы имели жёлтый окрас (рис. 1).

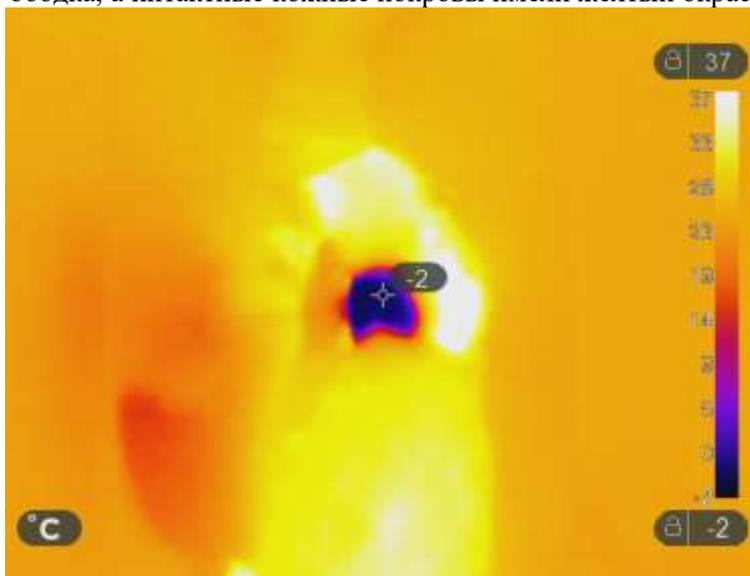


Рис. 1. Температурная визуализация кожных покровов крысы после 5-секундного холодового воздействия

Непосредственно при моделировании поверхностного отморожения происходило резкое снижение температуры в зоне контакта со скоростью $7,6 \pm 0,5^\circ\text{C}$ в секунду, а в перифокальных тканях - $5,2 \pm 0,4^\circ\text{C}$ в секунду. Температурные показатели при этом распределялись равномерно в области криповреждения и регистрировались не ниже $-2 \pm 0,4^\circ\text{C}$. При этом температурный режим в пограничной области был минимальным, и к 5-ой секунде моделирования снизился до $10 \pm 0,6^\circ\text{C}$. После удаления устройства с поверхности кожи температурные показатели в пораженной области и пограничных тканях вернулись к исходному значению в $36 \pm 0,5^\circ\text{C}$ в течение 60 секунд (рис. 2).

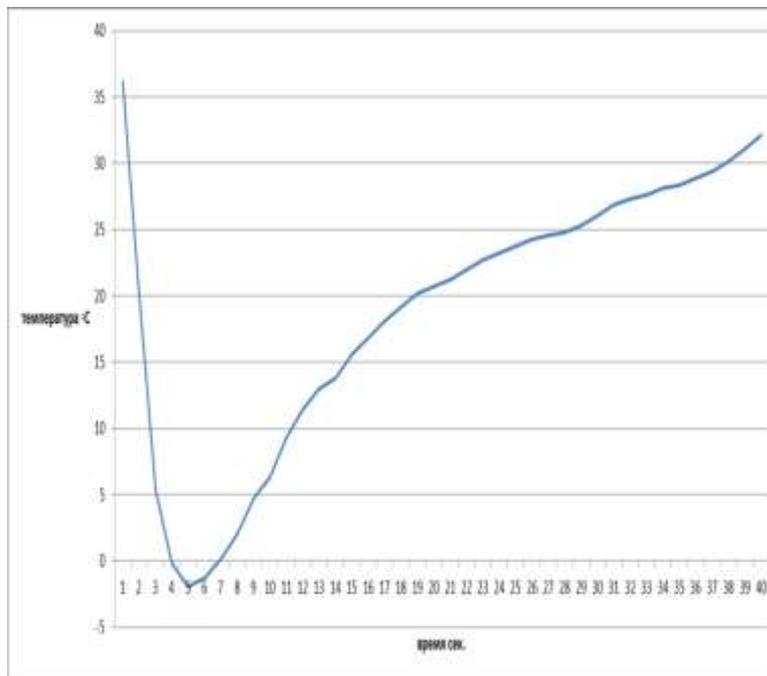


Рис. 2. График изменения температуры кожи крысы в зоне контакта при моделировании поверхностного отморожения

Макроскопически после 5-секундной холодовой экспозиции отмечались признаки поверхностного отморожения: кожа приобрела умеренно выраженный белый цвет, который через один час постепенно сменился незначительной гиперемией, ограниченной зоной воздействия (синий цвет на термограмме). При гистологическом исследовании роговой слой эпидермиса был разрыхлен, местами частично отслоен от эпителия. В подкожной клетчатке на границе с дермой определялось умеренно выраженное венозное полнокровие. Признаки некротических и воспалительных изменений в эпидермисе, дерме, подкожной клетчатке и мышечной ткани отсутствовали.

На 3-и сутки в месте нанесения поверхностного отморожения визуализировалась незначительная гиперемия и пастозность тканей. При микроскопическом исследовании роговой слой эпидермиса в исследуемой зоне подвергся десквамации. Местами он сохранился в виде истонченной, частично отслоенной от эпидермиса, полоски. В дерме и подкожной клетчатке определялось умеренно выраженное венозное полнокровие и слабо выраженный диффузный отек.

На протяжении 5-ти суток после моделирования в зоне холодового воздействия наблюдалась слабо выраженная воспалительная реакция и шелушение эпидермиса. К 7-м суткам кожные покровы стали эластичными, обычного цвета, макроскопически и гистологически не отличаясь от интактных тканей. При интерпретации термограмм температура кожных покровов сохраняла исходное значение, что подтверждало воспроизведение поверхностного отморожения.

Таким образом, пятисекундное холодовое воздействие не привело к значительному повреждению тканей, вызвав локальную сосудистую реакцию, которая была зарегистрирована при температурной визуализации. Быстрое восстановление температурного режима пораженных тканей не позволило развиваться необратимым изменениям в зоне контактного отморожения, что сопоставимо с морфо-гистологическими результатами.

При моделировании глубоких отморожений на термограммах область криповреждения была представлена черным цветом, окруженным синей ареолой по периферии. Вокруг тканей, соприкасавшихся с устройством, визуализировался фиолетовый и ярко-красный ободок перифокальной зоны толщиной 2 мм (рис. 3).

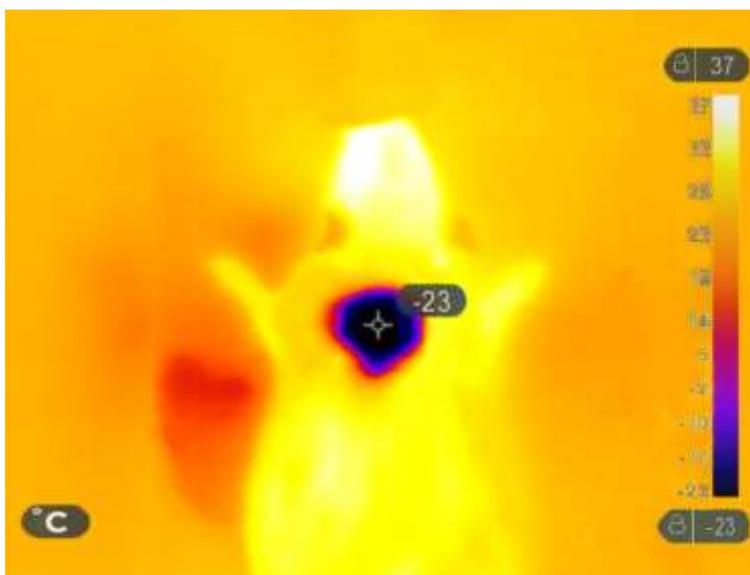


Рис. 3. Температурная визуализация зоны отморожения непосредственно после 30-секундного холодого воздействия

Кожная температура в зоне холодого воздействия снизилась до $-23 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. В последующем тепловой режим исследуемой области постепенно повышался, однако возврат к исходной температуре был зафиксирован более, чем через 2 часа (рис. 4).

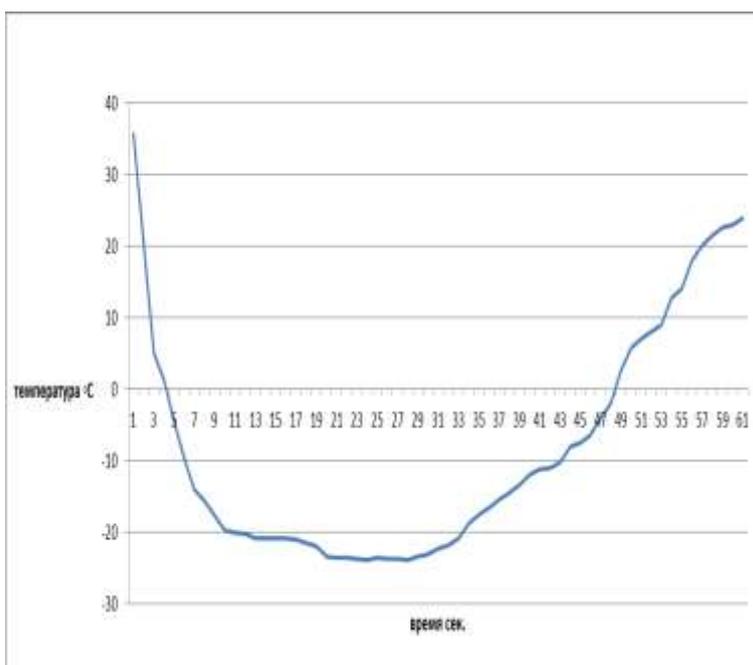


Рис. 4. График изменения температурного показателя кожи крысы в зоне контакта при моделировании глубокого отморожения

Температура пограничных контактного воздействию тканей (ярко-красная перифокальная зона на представленной ниже термограмме) снизилась до $-5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ и восстановилась до исходного значения ($36 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$) в течение 60 секунд (рис. 5). Эти показатели сопоставимы с ранее описанными при моделировании поверхностных отморожений и свидетельствуют о возможности обратимости происходящих изменений в тканях.

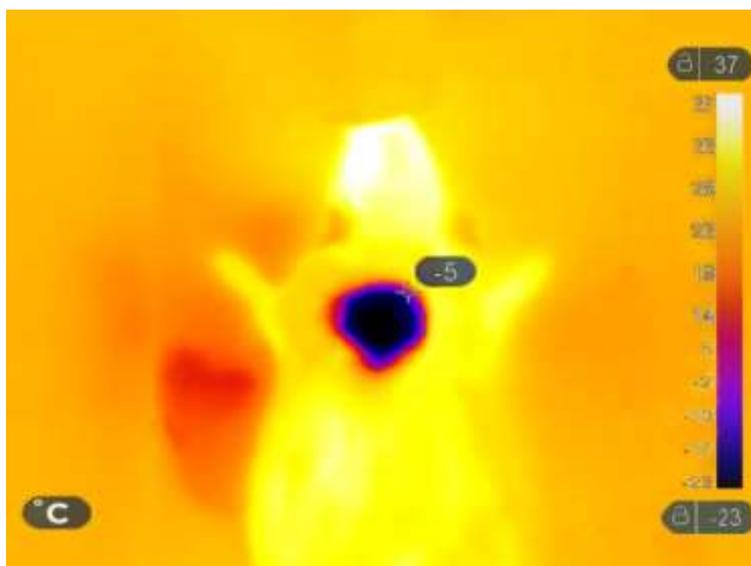


Рис. 5. Температура перифокальной зоны по окончании холодового воздействия

При завершении моделирования глубокого отморожения макроскопически зона криповреждения представляла собой четко отграниченную гомогенную белую поверхность с диффузно расположенными петехиями различного размера и ярко-белым окрасом перифокальной области.

Через 30 минут в зоне контактного воздействия белое пятно сменилось гиперемией. Через 1 час зона отморожения стала синюшного цвета, кожа практически на всем протяжении плотная, в складку не собиралась. Гистологически роговой слой эпидермиса сильно разрыхлен, повсеместно отслоен от эпителия за счет отека, ядра клеток базального и зернистого слоев местами с признаками кариопикноза. Дерма, подкожная клетчатка и подлежащая мышечная ткань с признаками отека и, преимущественно в подкожной клетчатке, определялась слабо выраженная очаговая нейтрофильно-клеточная инфильтрация. Признаки некроза в эпителии, дерме, подкожной клетчатке и мышечной ткани не определялись.

На 3-и сутки в зоне отморожения кожные покровы были резко утолщены, не смещаемы, в складку не собирались, бурого цвета с четкими границами. Микроскопически эпидермис и дерма разрушены, дно дефекта представлено подкожно-жировой клетчаткой и мышечной тканью. Перифокальная зона бледнее интактной кожи на расстоянии 2 мм от места криповреждения, гистологически эпидермис истончен, с выраженными дистрофическими изменениями.

На 7-е сутки после холодового воздействия в области отморожения определялся темно-бурый плотный сухой струп, который по периферии отслаивался. В перифокальной зоне визуальных изменений не наблюдалось, однако микроскопически ещё обнаруживалась незначительная инфильтрация, представленная нейтрофилами, макрофагами и плазмощитами. При этом в области холодового воздействия гистологически выявлялся глубокий очаг некроза с вовлечением в процесс кожи, подкожной клетчатки и мышечной ткани и наличием неравномерно выраженной лейкоцитарной инфильтрации. Дерма и гиподерма были представлены тканевым детритом, в котором невозможна дифференцировка на слои. Мышечная ткань со стертыми границами и некрозом миоцитов. Венозные сосуды расширены, их стенки в состоянии мукоидного и фибриноидного набухания. Имелись очаги формирования грануляционной ткани с множественными фибробластами, фиброцитами и вновь образованными сосудами. В краях эпидермального пласта и дистальнее зоны некроза отмечалась очаговая гиперплазия эпидермиса, который в этих зонах имел признаки дистрофии и вакуолизации цитоплазмы.

Таким образом, аргументирована имеющая место корреляция между полученными результатами температурной визуализации тканей и морфо-гистологическими данными, что характерно для глубокого отморожения в реактивном периоде.

Заключение. Температурная визуализация может быть использована в качестве доступного и неинвазивного метода оценки степени тяжести отморожений на начальных этапах, что позволяет прогнозировать жизнеспособность тканей, подвергшихся холодовому воздействию.

Литература:

- [1]. *Fabian C.J.* Retrospective cohort study examining treatments and operative interventions for frostbite in a tertiary care hospital// Original Research. 2017. Vol. 19, iss. 2. P. 88–95.
- [2]. *Fricova J., Janatova M., Anders M., Albrecht J., Rokyta R.* Thermovision: a new diagnostic method of orofacial pain? // Journal of Pain Research. 2018. Vol. 11. P. 3195–3203.
- [3]. *Goertz O., Baerreiter S., Ring A., Jettkant B., Hirsch T.* Determination of microcirculatory changes and angiogenesis in a model of frostbite injury in vivo// The Journal of surgical research. 2011. Vol. 168. P. 155–161.
- [4]. *Hu J., Hua L., Xiliang G., Lin J., Hongping S., Lin L., Mingke J.* Pathophysiologic Determination of frostbite under high altitude environment simulation in sprague-dawley rats// Wilderness and environmental medicine. 2016. Vol. 27. P. 355–363.
- [5]. *Radecka A., Pluta W., Lubkowska A.* Assessment of the dynamics of temperature changes in the knee joint area in response to selected cooling agents in thermographic tests// International journal of environmental research and public health. 2021. Vol. 18. P. 5326.
- [6]. *Sessler D.* Perioperative thermoregulation and heat balance// Lancet. 2016. Vol. 387. P. 2655–2664.
- [7]. *Takeda F., Moro A., Martins N.* Thermographic images to measure health risks of workers exposed to artificially refrigerated environments// Brazilian journal of poultry science. 2018. Vol. 2. P. 245–254.
- [8]. *Винник Ю.С., Салмина А.Б., Юрьева М.Ю., Теплякова О.В.* Локальная холодовая травма: вопросы патогенеза, оценки тяжести и лечения// Московский хирургический журнал. 2011. №1. С. 42–48.
- [9]. *Лантева В.И., Резников К.М., Борисова Е.А.* Клиническое обоснование применения метода дифференциальной термометрии биологически активных точек для оценки действия жидкости с отрицательным окислительно-восстановительным потенциалом// Научные ведомости. Серия: Медицина. Фармация. 2014. №11. С. 87–92.
- [10]. Устройство для моделирования отможенных различной степени тяжести: пат. BY 12002 / А. Л. Валентюкевич, В. Д. Меламед. – Опубл. 01.04.2019.
- [11]. *Харина В.И., Бережнева Т.А., Резников К.М., Филин А.А.* Дифференциальная термометрия при оценке фармакотерапии доксорубициновой кардиомиопатии в эксперименте// Вестник новых медицинских технологий. 2018. Т. 25, №2. С. 135–141.

A.L. VALENTYUKEVICH¹, V.D. MELAMED¹, S.A. CHIZHIK², A.I. OSLAVSKY¹

THERMAL IMAGING AS A METHOD FOR THE COLD INJURY SEVERITY DIAGNOSTIC

¹Grodno State Medical University, Grodno, Belarus;

²National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Summary

The possibility of using dynamic thermal imaging in experimental frostbite is investigated. It has been established that temperature imaging is effective as a non-invasive method of verifying the severity of damage at the initial stages and allows predicting the viability of tissues exposed to cold exposure, which can serve as a criterion for choosing further treatment tactics. The obtained thermographic results, characteristic of superficial and deep frostbite, correlate with morpho-histological studies.

Key words: rats, experiment, cold injury, diagnostics, temperature, morphological and histological studies.

УДК 616.345-006-07:577.112.853

О.Е. КУЗНЕЦОВ^{1,2}, В.М. ЦЫРКУНОВ²

РОЛЬ ЭКСПРЕССИИ МУЦИНОВ В ПРОГРЕССИИ ОПУХОЛИ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА И ИХ ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

¹Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, Гродно, Беларусь

²Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Описано много биологических маркеров, определение которых способствует выявлению злокачественной опухоли. Потенциальным маркером рака толстой кишки могут быть мембранно-связанные муцины (MUC-1 и MUC-13). Исследованы образцы тканей и сыворотки крови пациентов со злокачественным новообразованием толстого кишечника в которых оценена роль антител к рецепторам MUC-1 и MUC-13 в прогрессии рака толстого кишечника. Установленные пределы колебаний показателей антител в сыворотке крови у здоровых лиц имели отличия от показателей у пациентов с опухолью ($p=0,02$). У пациентов с раком толстого кишечника показатели антител к рецепторам MUC-1 и MUC-13 в ткани опухоли выше, чем в не пораженной опухолью ткани кишечника. Уровень экспрессии MUC-1 и MUC-13 в ткани опухоли не зависит от размера опухоли, поражения лимфатических узлов, наличия отдаленных метастазов, возраста и пола пациентов.

Ключевые слова: опухоль, муцин, ткань, сыворотка, толстый кишечник.

Введение. Ежегодно в мире выявляется около 1,1 миллиона новых случаев опухолей толстого кишечника, являющихся причиной смерти у половины пациентов. В экономически развитых странах рак толстого кишечника, колоректальный рак (РТК/КРР) являются распространенными болезнями, в структуре которых заболеваемость раком ободочной и прямой кишки составляют 58,7/100 тысяч и 28,8/100 тысяч населения, соответственно, а пятилетняя выживаемость – 60%. Последний показатель в странах с ограниченными ресурсами равен менее 40% [1]. Статистические данные об экономических потерях от указанной онкопатологии не доступны, но в странах с высоким уровнем дохода составляют около 6,5 млрд. долларов в год [2].

В Республике Беларусь ежегодно выявляется около 50 тыс. пациентов с впервые установленным злокачественным новообразованием. Страна входит в группу стран с относительно не высокими уровнями заболеваемости рака толстого кишечника, мало отличающимися от стран соседей. За последнее десятилетие заболеваемость РТК/КРР увеличилась в три раза [3]. Ежегодно выявляется около 2,5 тыс. новых случаев опухолей толстой кишки и 1,9 тыс. случаев рака прямой кишки, 35% из них диагностируется на III и IV стадиях. Пятилетняя выживаемость пациентов, в зависимости от стадии заболевания, варьирует от 60,6 до 14,5% [4].

К настоящему времени описано множество биологических маркеров, определение которых в клетках, тканях или жидкостях организма может способствовать выявлению злокачественной опухоли, служить индикатором ее биологических особенностей или распространенности в организме. Маркеры, определение которых позволит оценить риски развития заболевания, диагностировать опухоль и служить биологическим индикатором опухолевого процесса, являются предметом исследований в настоящее время [5].

Потенциальным маркером опухолей толстой кишки могут быть мембранно-связанные муцины (МУК, MUC) – высокомолекулярные гликопротеины, привлекающие внимание исследователей на протяжении последних лет [6]. В норме в организме человека MUC экспрессируются клетками однослойного эпителия, локализируются на апикальной поверхности клеток и входят в состав молекулярной системы, которая способствует устойчивости эпителиального барьера при поражении. В своей структуре MUC содержат tandemные повторы из таких аминокислот, как пролин, треонин и серин; именно по двум последним идет гликозилирование. У человека выделяют до 21 вида мукопротеинов, которые по месту своего расположения подразделяются на мембранные и секретируемые (таблица 1) [7].

В злокачественных опухолях можно обнаружить повышенную, по сравнению с нормальным эпителием, экспрессию MUC, изменение их внутриклеточной локализации и увеличение содержания

гипогликозилированных форм гликопротеина, а также MUC, представленные на поверхностной мембране опухолевых клеток, которые можно рассмотреть как идеальную мишень для таргетной терапии [8].

В ряде клинико-морфологических исследований, при раке различной локализации (молочная железа, легкое, желудок, кишечник, эпителиальные злокачественные новообразования других органов) описан высокий уровень корреляции экспрессии MUC в клетках опухоли с неблагоприятным прогнозом заболевания. Клинические наблюдения подтверждаются экспериментальными исследованиями, которые свидетельствуют о том, что сверхэкспрессия MUC и его аномальная внутриклеточная локализация могут способствовать увеличению инвазивного и метастатического потенциала злокачественных клеток [9].

В других исследованиях было показано, что связь уровня MUC с клиническими характеристиками опухоли неоднозначна: экспрессия MUC выявляется при КРР и характеризует высокую гистологическую стадию процесса [10]. Увеличение MUC в крови, например, при раке молочной железы, связано со степенью дифференцировки, размером опухоли, отношением к рецептору эстрогена [11]. У пациентов с опухолевым процессом в кишечнике экспрессия MUC может быть связана со стадией TNM-характеристики опухоли и наличием метастазов. Экспрессия мембранно-связанных MUC в опухоли выявлена у 58,5% живых пациентов с КРР с благоприятным исходом в первые 5 лет [12, 13].

Таким образом, MUC, как объект исследования, представляют интерес для понимания биологии злокачественных новообразований эпителия и предшествующих их развитию фоновых процессов, а также для совершенствования методов диагностики и прогноза при онкологическом заболевании [14].

Многие аспекты потенциальной роли MUC в возникновении и прогрессии злокачественных опухолей, а также возможность практического приложения накопленных экспериментальных и клинических данных, на сегодняшний день остаются изученными недостаточно.

Цель исследования – оценить экспрессию высокомолекулярных гликопротеинов MUC-1 и MUC-13 в качестве маркеров опухолевых процессов толстого кишечника.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования являлись образцы тканей и сыворотки крови 106 пациентов со злокачественным новообразованием толстого кишечника (РТК). Пациенты находились на лечении в Гродненском онкологическом диспансере. Возраст обследуемых на момент постановки диагноза составил 29-87 лет; медиана возраста (Me) – $61,8 \pm 13,7$ лет, нижний квартиль (Q25) – 52 года, верхний квартиль (Q75) – 72 года.

Среди обследуемых с опухолевым процессом кишечника было 45 женщин (42,5%) и 61 мужчина (57,5%). Опухоль чаще локализовалась в прямой кишке (54/ 50,9%), сигмовидной кишке (8/7,6%), поперечно ободочной кишке (7/6,6%), рак слепой кишки и печёночного изгиба ободочной кишки (37/34,9%). Диагноз онкологического заболевания подтвержден морфологически. Распределение пациентов (Международная клиническая классификация TNM): T3 – 52,8% (n=56); T4 – 23,6% (n=25), T2 – 16,0% (n=17), T1 – 7,6% (n=8). У 31,4% (n=33) пациентов на момент постановки диагноза отмечены метастазы в регионарные лимфатические узлы (N1), у 9,4% (n=10) – отдаленные метастазы (M1). Частота встречаемости опухоли с низкой степенью злокачественности (высокодифференцированные, G1) составила 70,8% (75 человек), опухоли средней степени злокачественности (низкодифференцированные, G2) – 17,9% (19 человек), опухоли высокой степени злокачественности (недифференцированные, G3) – 11,3% (12 человек).

Исследованы образцы тканей пациентов с РТК из архива Гродненского областного клинического патологоанатомического бюро и образцы крови тех же пациентов, полученные при обращении за медицинской (консультативной, лечебной) помощью в онкологический диспансер (в рамках обязательного медицинского обследования в соответствии с действующими протоколами диагностики и лечения). Исследование в образцах экстракта ткани кишечника выполнялось в двух зонах: в зоне опухоли и на участке ткани с морфологически не описанными критериями злокачественности (n=34).

Группа контрольных исследований представлена образцами крови 35 практически здоровых лиц с отсутствием злокачественного новообразования и вирусных инфекций. Исследования проведены в рамках профилактических исследований у 20 мужчин (57,1%) и 15 женщин (42,9%), среднего возраста $56,5 \pm 8,3$ года (минимум 42 года, максимум 68 лет).

Исследование уровня антител к муцинам (MUC-1, MUC-13, нг/мл) проводили при помощи метода иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах ткани и сыворотки крови пациентов при

помощи набора реагентов производства «Wuhan Fine Biological Technology Co. Ltd» (Китай) на иммуноферментном анализаторе «Mindray 96RA» (Китай). Из блоков ткани готовили серийные срезы. В соответствии со стандартным протоколом проводили пробоподготовку образцов ткани к исследованию набором реагентов производства «MagneSil Genomic, Fixed System» (Promega, США).

Образцы биологического материала (сыворотки крови) получали стандартным способом с использованием вакуумных систем «Vacuette» с активатором свертывания производства «Greiner Bio-One», Австрия. Подготовка проб крови для исследования проводилась унифицированным способом: центрифугирование (центрифуга «Fenox-24M», Китай) при 3000g в течение 10 минут. Образцы сыворотки крови отбирали в отдельные системы, в которых выполнялось исследование.

Результаты, полученные в ходе исследования, заносились в оригинальную базу данных. Статистическая обработка данных проводилась с использованием стандартного пакета прикладных статистических программ SPSS. Различия между изучаемыми параметрами признавали достоверным при $p < 0,05$. Среди методов математической обработки использовали:

– изучение вида распределения и получение числовых характеристик. В случае нормального распределения переменную характеризовали с помощью математического ожидания (среднего) – M и среднего квадратического отклонения ($\pm\sigma$). Если распределение переменных не соответствовало Гауссовскому, то для их описания использовали величины верхнего ($Q75$) и нижнего квартилей (Q) и медианы (Me);

– выявление отклика на воздействие в двухвыборочной задаче: при нормальном распределении для проверки гипотезы о равенстве средних значений двух групп переменной использовали критерий Стьюдента (t), если распределение переменной не соответствовало нормальному, сравнение двух независимых групп изучаемой переменной проводили с помощью теста Манна-Уитни (U), а зависимых групп – теста Вилкоксона (Z);

– при сравнении долей (процентов) использовался метод Хила;

– выявление взаимосвязи между двумя переменными: при нормальном распределении для оценки линейности связи между переменными использовали коэффициент корреляции Пирсона (r), если распределение переменных не соответствовало нормальному, для оценки связи между ними применяли непараметрический корреляционный анализ Спирмана (R).

Результаты и их обсуждение. Установленные в образцах сыворотки крови концентрации антител к рецепторам MUC-1 и MUC-13 у практически здоровых лиц в популяции и в образцах крови у лиц с диагностированным опухолевым процессом толстого кишечника представлены в таблице 1.

Табл. 1. Концентрация антител в сыворотке крови к рецепторам MUC-1/MUC-13 у здоровых лиц и у пациентов с опухолями толстого кишечника

Группа, сыворотка	Показатель, нг/мл	n	M	min	max	m	p
Здоровые (p_k)	MUC-1, (p_{1k})	35	0,247	0,105	0,477	0,097	$p_{muc1k-o}=0,02$ $p_{muc13k-o}=0,00001$
	MUC-13, (p_{13k})	35	0,325	0,084	0,622	0,131	
Пациенты (p_o)	MUC-1, (p_{1o})	38	0,316	0,220	0,520	0,066	
	MUC-13, (p_{13o})	38	0,806	0,450	1,630	0,287	

Как видно из таблицы 1, референтные величины концентраций антител к муцинам у практически здоровых лиц к рецептору MUC-1 и MUC-13 составили $0,247 \pm 0,097$ нг/мл и $0,325 \pm 0,131$ нг/мл, соответственно. Полученные результаты полностью совпали с результатами нашего ранее проведенного исследования экспрессии муцинов в возрастных группах $20,1 \pm 1,1$ год, концентрация которых к рецептору MUC-1 составила $0,25 \pm 0,04$ нг/мл [15]. Концентрация антител к рецепторам MUC-1 и MUC-13 в сыворотке крови пациентов с РТК имела достоверные отличия от группы контроля ($p=0,02$ и $p=0,00001$ соответственно). Концентрация уровня MUC-1 и MUC-13 в экстракте ткани опухоли и на участке ткани с морфологически не описанными критериями злокачественности представлена в таблице 2.

Табл. 2. Концентрация уровня MUC-1 и MUC-13 в экстракте ткани

Группа, ткань	Показатель, нг/мл	n	M	min	max	m	p
Опухоль (p_o)	MUC-1, (p_{1o})	62	1,345	0,243	2,330	0,617	$p_{muc1o-3}=0,0000001$ $p_{muc13o-3}=0,000001$
	MUC-13, (p_{13o})	60	0,986	0,245	1,530	0,318	
Здоровая (p_3)	MUC-1, (p_{13})	33	0,175	0,140	0,210	0,020	
	MUC-13, (p_{133})	34	0,554	0,250	0,715	0,101	

Как видно из таблицы 2, средние значения концентраций антител к рецепторам MUC-1 и MUC-13 в экстракте ткани опухоли и на участке ткани с морфологически не описанными критериями злокачественности, имели достоверные различия ($p < 0,05$). Концентрация MUC-1 и MUC-13 в ткани опухоли была достоверно выше, чем в ткани, не пораженной опухолью (с морфологически не описанными критериями злокачественности, Вилкоксон, Z-Test): MUC-1 – $Z=5,01$, $p=10^{-7}$; MUC-13 – $Z=4,66$, $p=10^{-6}$, рисунок 1.

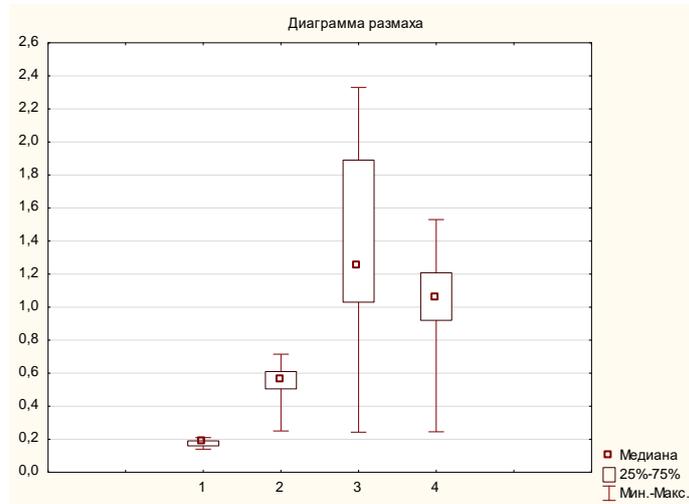
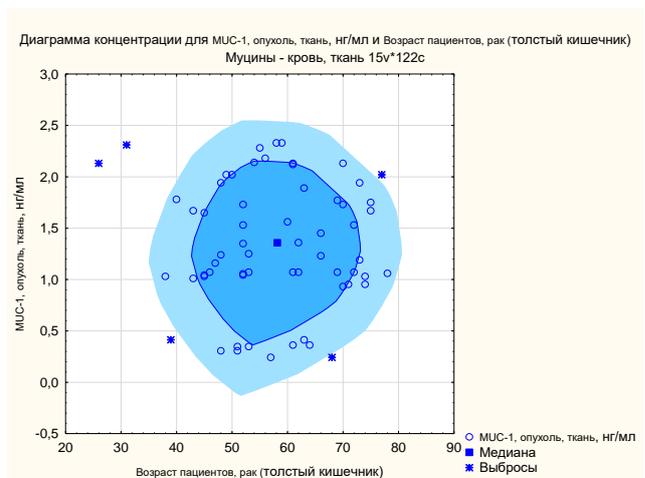
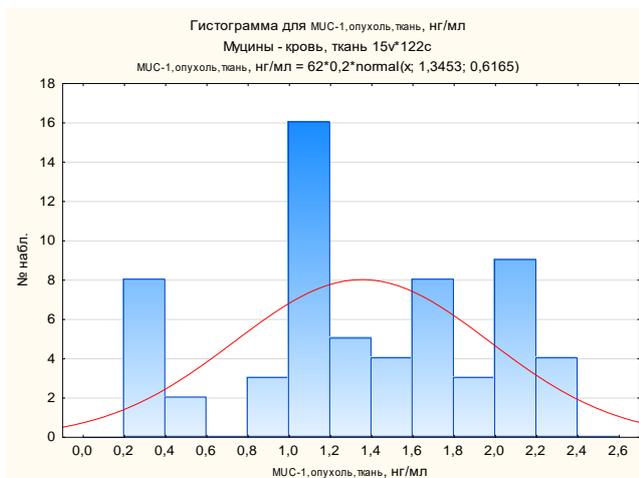


Рис. 1. Экспрессия MUC-1 и MUC-13 в экстракте ткани опухоли и здоровой ткани толстого кишечника у пациентов с РТК (ось абсцисс: 1 – ткань с морфологически не описанными критериями злокачественности, рецептор MUC-1, 2 –ткань с морфологически не описанными критериями злокачественности, рецептор MUC-13; 3 – ткань опухоли, рецептор MUC-1, 4 – ткань опухоли, рецептор MUC-13, ось ординат: концентрация муцинов в нг/мл

Полагаем, что избыточная экспрессия муцинов (MUC-1, MUC-13) в ткани опухоли могла быть связана с устойчивостью эпителия к апоптозу при РТК [16]. Опираясь на литературные данные, стоит предположить, что при проведении хирургических вмешательств при РТК, определение муцина в ткани можно рассматривать для контроля полноты объема резекции опухоли [17].

Анализ связей между уровнем экспрессии MUC-1 и MUC-13 в ткани опухоли и клиническими характеристиками опухоли не установил достоверных зависимостей ни с размером опухоли (MUC-1 – $p=0,143$; MUC-13 – $p=0,558$), ни с поражением лимфатических узлов (MUC-1 – $p=0,117$; MUC-13 – $p=0,776$), ни с наличием отдаленных метастазов (MUC-1 – $p=0,105$; MUC-13 – $p=0,78$).

Достоверных корреляционных связей между уровнем экспрессии MUC-1 и MUC-13 в экстракте ткани кишечника, пораженной опухолью, с возрастом пациентов не установлено (MUC-1 – $R=0,096$, $p=0,652$; MUC-13 – $R=0,18$, $p=0,121$), рисунок 5 (Spearman), рисунок 2.



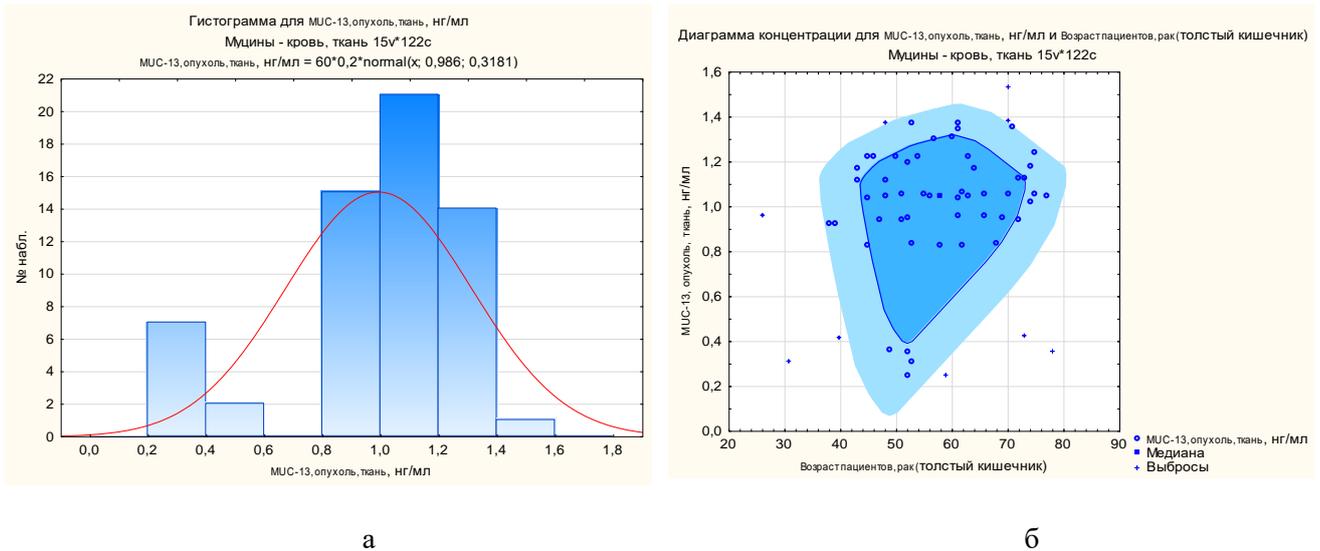


Рис. 2. Зависимость экспрессии MUC-1 (а) и MUC-13 (б) от возраста пациента

Анализ распределения концентраций муцинов (переменные) MUC-1 и MUC-13 в экстракте ткани при РТК внутри возрастных групп представлен на рисунке 3.

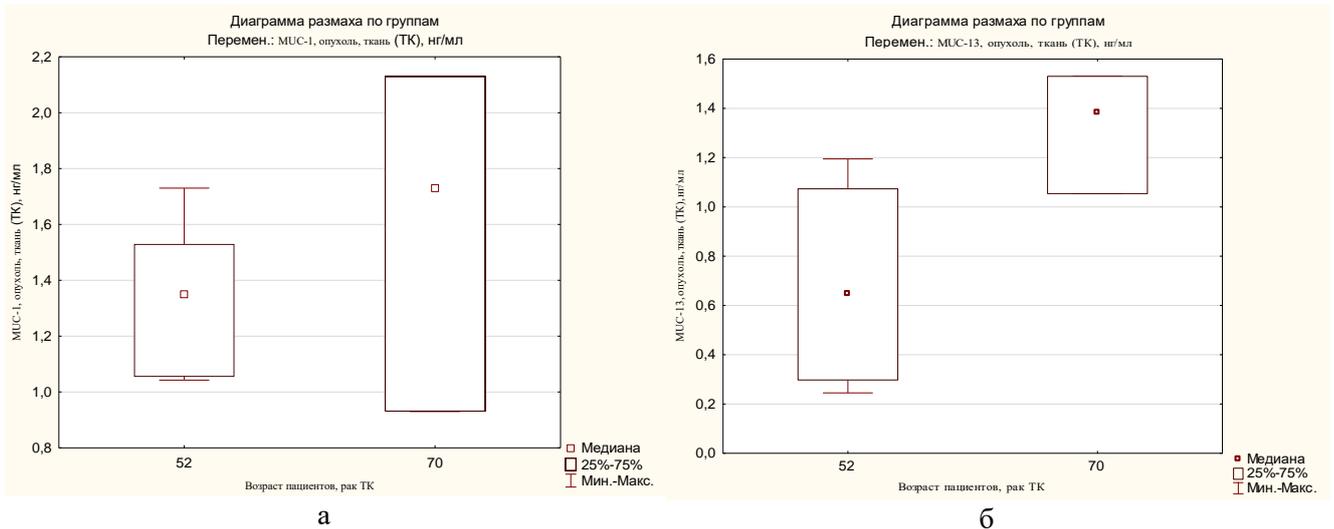
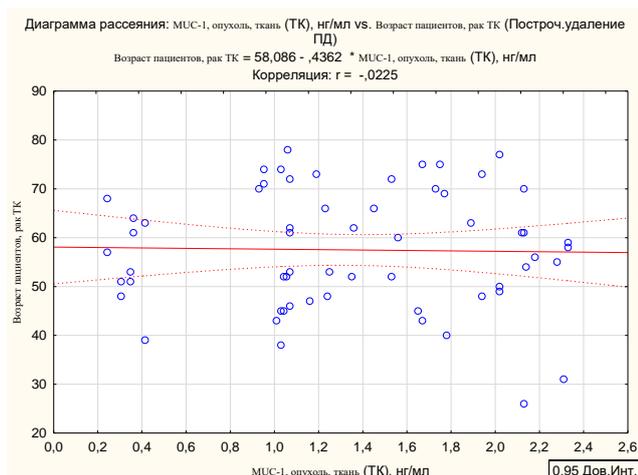


Рис. 3. Диаграмма размаха зависимости экспрессии муцинов MUC-1 (а) и MUC-13 (б) в ткани от возраста пациента

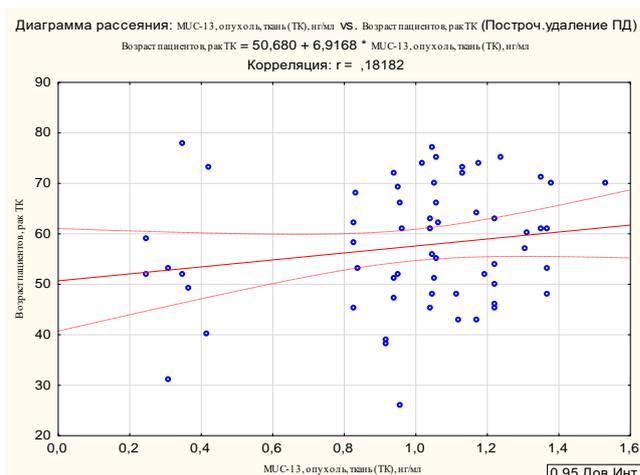
Как видно из рисунка 3, распределение минимального размаха концентрации муцинов (переменной) MUC-1 и MUC-13 в экстракте ткани при РТК внутри возрастных групп установлено в возрастной категории 52 года и 70 лет.

С учетом размаха переменной экспрессии муцинов MUC-1 и MUC-13 в возрастных группах лиц с установленным диагнозом РТК проведена оценка множественной регрессии переменных MUC-1 и MUC-13 (рисунок 4).



MUC-1, число наблюдений – 60

а



MUC-13, число наблюдений - 60

б

Рис. 4. Множественная регрессия экспрессии для переменных MUC-1 (а) и MUC-13 (б) в экстракте ткани в зависимости от возраста пациента

Как показано на рисунке 4, в модели связей возраста и концентрации муцинов MUC-1 и MUC-13 в ткани у лиц с установленным диагнозом РТК установлены зависимости концентраций от возраста: MUC-1 – $p=0,0005$ ($R=0,03386413$; $F=0,0688858$; свободный член $1,445408403$; стандартная ошибка $0,3895034$; $t(60) = 3,7109$; MUC-13 – $p=0,0007$ ($R=0,18181942$; $F=1,982934$; свободный член $0,711223623$; стандартная ошибка $0,1993622$; $t(58) = 3,5675$).

По результатам множественной регрессии MUC-1 и MUC-13 с учетом возрастных групп лиц с установленным диагнозом РТК (размах переменной: 52 года, 70 лет) оценено предсказанное значение концентрации муцинов MUC-1 и MUC-13 для лиц со злокачественными процессами РТК, таблица 3.

Табл. 3. Предсказанное значение концентраций MUC-1 и MUC-13 для лиц со злокачественными процессами РТК (опухоль, экстракт ткани, нг/мл)

MUC-1	РТК, ткань опухоли		
	В-Веса	Возраст, лет	В-Веса - значение
	-0,001738	52	-0,090382
	Свободный член		1,445408 нг/мл
	Предсказанное		1,355026 нг/мл
MUC-1	РТК, ткань опухоли		
	В-Веса	Возраст, лет	В-Веса - значение
	-0,001738	70	-0,121668
	Свободный член		1,445408 нг/мл
	Предсказанное		1,323740 нг/мл
MUC-13	РТК, ткань опухоли		
	В-Веса	Возраст, лет	В-Веса - значение
	0,004779	52	0,248528
	Свободный член		0,711224 нг/мл
	Предсказанное		0,959752 нг/мл
MUC-13	РТК, ткань опухоли		
	В-Веса	Возраст, лет	В-Веса - значение
	0,004779	70	0,334557
	Свободный член		0,711224 нг/мл
	Предсказанное		1,045781 нг/мл
MUC-13	РТК, ткань опухоли		
	В-Веса	Возраст, лет	В-Веса - значение
	0,004779	70	0,334557
	Свободный член		0,711224 нг/мл
	Предсказанное		1,045781 нг/мл
MUC-13	РТК, ткань опухоли		
	В-Веса	Возраст, лет	В-Веса - значение
	0,004779	70	0,334557
	Свободный член		0,711224 нг/мл
	Предсказанное		1,045781 нг/мл
MUC-13	РТК, ткань опухоли		
	В-Веса	Возраст, лет	В-Веса - значение
	0,004779	70	0,334557
	Свободный член		0,711224 нг/мл
	Предсказанное		1,045781 нг/мл
MUC-13	РТК, ткань опухоли		
	В-Веса	Возраст, лет	В-Веса - значение
	0,004779	70	0,334557
	Свободный член		0,711224 нг/мл
	Предсказанное		1,045781 нг/мл
MUC-13	РТК, ткань опухоли		
	В-Веса	Возраст, лет	В-Веса - значение
	0,004779	70	0,334557
	Свободный член		0,711224 нг/мл
	Предсказанное		1,045781 нг/мл
MUC-13	РТК, ткань опухоли		
	В-Веса	Возраст, лет	В-Веса - значение
	0,004779	70	0,334557
	Свободный член		0,711224 нг/мл
	Предсказанное		1,045781 нг/мл
MUC-13	РТК, ткань опухоли		
	В-Веса	Возраст, лет	В-Веса - значение
	0,004779	70	0,334557
	Свободный член		0,711224 нг/мл
	Предсказанное		1,045781 нг/мл
MUC-13	РТК, ткань опухоли		
	В-Веса	Возраст, лет	В-Веса - значение
	0,004779	70	0,334557
	Свободный член		0,711224 нг/мл
	Предсказанное		1,045781 нг/мл
MUC-13	РТК, ткань опухоли		
	В-Веса	Возраст, лет	В-Веса - значение
	0,004779	70	0,334557
	Свободный член		0,711224 нг/мл
	Предсказанное		1,045781 нг/мл
MUC-13	РТК, ткань опухоли		
	В-Веса	Возраст, лет	В-Веса - значение
	0,004779	70	0,334557
	Свободный член		0,711224 нг/мл
	Предсказанное		1,045781 нг/мл
MUC-13	РТК, ткань опухоли		
	В-Веса	Возраст, лет	В-Веса - значение
	0,004779	70	0,334557
	Свободный член		0,711224 нг/мл
	Предсказанное		1,045781 нг/мл
MUC-13	РТК, ткань опухоли		
	В-Веса	Возраст, лет	В-Веса - значение
	0,004779	70	0,334557
	Свободный член		0,711224 нг/мл
	Предсказанное		1,045781 нг/мл
MUC-13	РТК, ткань опухоли		
	В-Веса	Возраст, лет	В-Веса - значение
	0,004779	70	0,334557
	Свободный член		0,711224 нг/мл
	Предсказанное		1,045781 нг/мл

Как показал анализ, предсказанное значение концентрации муцинов MUC-1 и MUC-13 в ткани при наличии РТК составило: MUC-1 в 52 года – 1,36 нг/мл, MUC-1 в 70 лет – 1,32 нг/мл, MUC-13 в 52 года – 0,96 нг/мл, MUC-13 в 70 лет – 1,05 нг/мл.

Оцененное предсказанное значение концентрации муцинов MUC-1 и MUC-13 в сыворотке крови для лиц с РТК представлено в таблице 4.

Табл. 4. Предсказанное значение концентраций MUC-1 и MUC-13 для лиц с РТК (опухоль, сыворотка крови, нг/мл)

MUC-1	РТК, сыворотка		
	В-Веса	Возраст, лет	В-Веса - значение
	0,001050	52	0,054577
	Свободный член		0,255509 нг/мл
	Предсказанное		0,310087 нг/мл
	-95,0%		0,286348 нг/мл
+95,0%		0,333825 нг/мл	
MUC-1	РТК, сыворотка		
	В-Веса	Возраст, лет	В-Веса - значение
	0,001050	70	0,073470
	Свободный член		0,255509 нг/мл
	Предсказанное		0,328979 нг/мл
	-95,0%		0,298475 нг/мл
+95,0%		0,359482 нг/мл	
MUC-13	РТК, сыворотка		
	В-Веса	Возраст, лет	В-Веса - значение
	0,000268	52	0,013922
	Свободный член		0,790082 нг/мл
	Предсказанное		0,804004 нг/мл
	-95,0%		0,698709 нг/мл
+95,0%		0,909300 нг/мл	
MUC-13	РТК, сыворотка		
	В-Веса	Возраст, лет	В-Веса - значение
	0,000268	70	0,018741
	Свободный член		0,790082 нг/мл
	Предсказанное		0,808824 нг/мл
	-95,0%		0,673522 нг/мл
+95,0%		0,944125 нг/мл	

Значение концентрации муцинов MUC-1 и MUC-13 в сыворотке крови при наличии РТК составило: MUC-1 в 52 года – 0,32 нг/мл, MUC-1 в 70 лет – 0,33 нг/мл, MUC-13 в 52 года – 0,80 нг/мл, MUC-13 в 70 лет – 0,81 нг/мл.

Связи между концентрацией MUC-1 и MUC-13 в ткани и гендерной принадлежностью пациентов с РТК не выявлено: MUC-1 – $p=0,757$, MUC-13 – $p=0,916$ (Mann–Whitney U Test).

По результатам проведенных исследований и на основании анализа зависимости уровня экспрессии муцинов MUC-1 и MUC-13 в образцах ткани опухолевой природы и на участке ткани с морфологически не описанными критериями злокачественности, высказано предположение о том, что концентрация MUC-1 и MUC-13 в ткани не зависит от клинко-анатомической локализации опухоли, возраста и пола пациентов. Поскольку содержание MUC-1 и MUC-13 в ткани не коррелирует с клинической характеристикой опухоли, полом и возрастом пациента, представляется целесообразным осуществлять определение MUC-1 и MUC-13 у пациентов при любой форме РТК, независимо от пола и возраста.

Заключение. Результаты исследования подтвердили роль показателей антител к рецепторам MUC-1 и MUC-13 в качестве возможных диагностических маркеров в процессе уточняющей диагностики РТК при различной клинко-анатомической форме опухоли. Установленные пределы колебаний показателей антител в сыворотке крови к MUC-1 и MUC-13 у здоровых лиц (MUC-1 – $0,247\pm 0,097$ нг/мл и MUC-13 – $0,325\pm 0,131$ нг/мл) имели достоверные отличия от аналогичных показателей у пациентов с РТК (MUC-1, $p=0,02$, MUC-13, $p=0,00001$).

У пациентов с диагнозом РТК показатели антител к рецепторам MUC-1 и MUC-13 в ткани опухоли достоверно выше, чем в ткани кишечника с морфологически не описанными критериями злокачественности (MUC-1 – $p=10^{-7}$; MUC-13 – $p=10^{-6}$).

Уровень экспрессии MUC-1 и MUC-13 в ткани опухоли не зависит от размера опухоли (MUC-1 – $p=0,143$; MUC-13 – $p=0,558$), поражения лимфатических узлов (MUC-1 – $p=0,117$; MUC-13 – $p=0,776$), наличия отдаленных метастазов (MUC-1 – $p=0,105$; MUC-13 – $p=0,78$), возраста (MUC-1 – $p=0,652$; MUC-13, $p=0,121$) и пола пациентов (MUC-1, $p=0,757$; MUC-13, $p=0,916$).

Определение концентрации антител к MUC-1 и MUC-13 в ткани опухоли может быть рассмотрено в качестве дополнительного критерия контроля полноты объема резекции опухоли толстого кишечника при проведении хирургических вмешательств.

Выявление концентрации антител к MUC-1 и MUC-13 выше предсказанных значений в ткани опухоли равной 1,36 нг/мл для MUC-1 и 0,96 нг/мл для MUC-13 у пациентов на 52 году жизни и уровней 1,32 нг/мл для MUC-1 и 1,05 нг/мл для MUC-13 у пациентов 70 лет, может свидетельствовать о вероятности наличия скрытого опухолевого процесса, когда клинические методы обследования не выявляют признаков.

Концентрация антител к MUC-1 и MUC-13 в сыворотке крови, превышающая 0,32 нг/мл для MUC-1 и 0,80 нг/мл для MUC-13, может указывать на риск наличия опухолевого процесса, при отсутствии клинических признаков.

При окончательной клинической интерпретации результатов определения концентрации антител к MUC-1 и MUC-13 у пациентов необходимо учитывать клинко-анатомические и гистологические характеристики опухоли. Различные уровни циркулирующего муцина, отмеченные нами при РТК, могут быть следствием сочетания нескольких факторов, связанных как с биологическими свойствами новообразований, так и с особенностями развития патологического процесса. Среди этих факторов могут быть уровень экспрессии MUC-1 и MUC-13 в опухолевых клетках, характер кровоснабжения опухоли, степень вовлечения лимфатических сосудов в опухолевый процесс, строение лимфатических коллекторов, выраженность реактивных изменений окружающих тканей [18].

Высокомолекулярные гликопротеины муцины представляет не только теоретический, но и практический интерес для специалистов в качестве дополнительных маркеров оценки опухолевых процессов в толстом кишечнике.

Литература

- [1]. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / F. Bray [et al.] // *CA Cancer J Clin.* – 2018. – Vol. 68, № 6. – P. 394-424. – doi: 10.3322/caac.21492.
- [2]. Акуленко, Л. В. В чьей компетенции решение проблемы ранней диагностики и профилактики семейного рака? Онкологический скрининг, канцерогенез и ранние стадии рака в практике гинеколога / Л. В. Акуленко, Е. Т. Лильин, Н. А. Хохлова // Сборник научных трудов Пленума межведомственного научного Совета по акушерству и гинекологии. – Ижевск, 2000. – С. 190-195.
- [3]. Cancer Today : International Agency for Research of Cancer, IARC [Electronic resource]. – Mode of access: <https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-map?v=2020>. – Date of access: 14.01.2022.
- [4]. Статистика онкологических заболеваний в Республике Беларусь (2008-2017) / А. Е. Океанов [и др.] ; под ред. О. Г. Суконко ; Министерство здравоохранения Республики Беларусь, Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова». – Минск : Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии, 2018. – 284 с.
- [5]. Онкомаркеры, их характеристика и некоторые аспекты клинко-диагностического использования (обзор литературы) / М. Л. Алексеева [и др.] // *Проблемы репродукции.* – 2005. – Т. 11, № 3. – С. 65-79.
- [6]. Горчакова, О. В. Маркеры опухолевого процесса - муцины / О. В. Горчакова, О. Е. Кузнецов, А. И. Хрищанович // *Актуальные проблемы медицины : материалы ежегодной итоговой научно-практической конференции* / отв. ред. В. А. Снежицкий. – Гродно, 2019. – С. 161-165.
- [7]. Mucins in the mucosal barrier to infection / S. K. Linden [et al.] // *Mucosal Immunol.* – 2008. – Vol. 1, iss. 3. – P. 183-97. – doi: 10.1038/mi.2008.5.
- [8]. Prognostic and clinicopathological value of MUC-1 expression in colorectal cancer / C. Li [et al.] // *A meta-analysis.* – *Medicine (Baltimore).* – 2019. – Vol. 98, iss. 9. – P. e14659. – doi: 10.1097/MD.00000000000014659.
- [9]. MUC-1 expression in colorectal carcinoma: Clinicopathological correlation and prognostic significance / C. Diaz Del Arco [et al.] // *Rev Esp Patol.* – 2018. – Vol. 51, iss. 4. – P. 204-209. – doi: 10.1016/j.patol.2018.03.002.
- [10]. Co-expression of HER3 and MUC1 is associated with a favourable prognosis in patients with bladder cancer / T. O. Nielsen [et al.] // *BJU Int.* – 2014. – Vol. 115, iss. 1. – P. 163-165. – doi: 10.1111/bju.12658.
- [11]. Expression of mucins (MUC-1, MUC-2, MUC3, MUC4, MUC5AC and MUC6) and their prognostic significance in human breast cancer / E. A. Rakha [et al.] // *Mod Pathol.* – 2005. – Vol. 18, iss. 10. – P. 1295-1304. – doi: 10.1038/modpathol.3800445.

- [12]. Mucin (*MUC*) gene expression in human pancreatic adenocarcinoma and chronic pancreatitis: a potential role of *MUC4* as a tumor marker of diagnostic significance / M. Andrianifahanana [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2001. – Vol. 7, iss. 12. – P. 4033-4040.
- [13]. New developments in goblet cell mucus secretion and function / G. M. Birchenough [et al.] // *Mucosal Immunol.* – 2015. – Vol. 8, iss. 4. – P. 712-719. – doi: 10.1038/mi.2015.32.
- [14]. Intestinal barrier dysfunction in inflammatory bowel diseases / M. A. McGuckin [et al.] // *Inflamm. Bowel Dis.* – 2009. – Vol. 15, iss. 1. – P. 100-113. – doi: 10.1002/ibd.20539.
- [15]. Горчакова, О. В. Муцины (*MUC1/MUC13*) в диагностике опухолей толстого кишечника / О. В. Горчакова, О. Е. Кузнецов, М. Н. Курбат // Молекулярная диагностика : сборник трудов X Юбилейной международной научно-практической конференции, Москва, 01 января-31 2021 г. – Тамбов, 2021. – Т. 1. – С. 64-65.
- [16]. Применение слитого конструкта ТИМП-ГФИ и способ лечения повреждений кожи для предотвращения или ингибирования образования рубца : патент RU № 2 428 479 С2 / Нелсон Питер Джон (DE). – Опубл. 10.09.2011.
- [17]. Внутрипротоковая папиллярная муцинозная опухоль поджелудочной железы / В. И. Пантелеев [и др.] // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2019. – № 11. – С. 81-87. – doi: 10.17116/hirurgia201911181.
- [18]. ИКО25-реактивный муцин *MUC1* в сыворотке крови у больных раком легкого / Т. А. Кармакова [и др.] // Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. – 2012. – № 2. – С. 35-41.

A.E. KUZNIATSOV^{1,2}, V.M. TSYRKUNOV¹

CLINICAL SIGNIFICANCE OF MUCINS AS MARKERS OF COLON TUMOR

¹Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

²Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Belarus

Summary

Currently, many biological markers have been described, the determination of which contributes to the detection of a malignant tumor. Membrane-associated mucins (*MUC-1* and *MUC-13*) may be a potential marker for colon cancer. Tissue and serum samples from patients with malignant neoplasms of the large intestine were studied in which the role of antibodies to the *MUC-1* and *MUC-13* receptors in the progression of colon cancer was evaluated. The established limits of fluctuations in serum antibodies in healthy individuals differed from those in patients with a tumor ($p=0.02$). In patients with colon cancer, the levels of antibodies to *MUC-1* and *MUC-13* receptors in the tumor tissue are higher than in non-tumour-affected intestinal tissue. The level of expression of *MUC-1* and *MUC-13* in the tumor tissue does not depend on the size of the tumor, lymph node involvement, the presence of distant metastases, age and sex of patients.

Keywords: tumor, mucin, tissue, serum, colon cancer.

УДК 616.97 (075)

*М.В. ТАЛАБАЕВ, А.Ю. СОЛОВЬЕВА, С.Л. КУЛИКОВА, Ю.Г. ШАНЬКО,
К.Ф. ВЕНЕГАС*

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ УДАЛЕНИЯ НОВООБРАЗОВАНИЙ, РАСПОЛОЖЕННЫХ В ФУНКЦИОНАЛЬНО ЗНАЧИМЫХ ОТДЕЛАХ КОРЫ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

*Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, Минск,
Республика Беларусь*

Проанализированы функциональные результаты удаления новообразований, локализующихся в функционально значимых областях коры больших полушарий головного мозга. Полученные результаты демонстрируют, что радикальное удаление, удалось выполнить у 73% пациентов и бессобытийная выживаемость пациентов с низкоккачественными глиомами составила 100%, а при высококкачественных $67\pm 16\%$. Судороги до оперативного лечения встречались у 65,4% пациентов, из них послеоперационный результат, соответствующий Engel I, был получен у 73,8%. У 92,2% пациентов, развившиеся после удаления новые неврологические нарушения полностью регрессировали в течение нескольких месяцев. Проведенное оперативное лечение не привело к ухудшению функционального статуса у 85,9% детей.

Ключевые слова: функционально значимые области, опухоль, детская нейрохирургия, выживаемость, эпилепсия.

Введение. Большинство исследований последних десятилетий показывают связь между радикальностью удаления глиальной опухоли головного мозга и показателями общей и безрецидивной выживаемости [1]. Этот вывод справедлив, как для низкоккачественных (НЗГ), так и высококкачественных (ВЗГ) глиальных и смешанных нейронально-глиальных опухолей. Кроме улучшения выживаемости, более радикальное удаление более эффективно и в отношении судорог, связанных с опухолью. Однако, повреждение функционально значимых отделов (ФЗО) головного мозга (ГМ) нередко приводит к стойкому неврологическому дефициту, снижению качества жизни, что может быть поводом для более позднего назначения адьювантного лечения и, как итог, сокращение показателей выживаемости. Таким образом, сегодня становится весьма актуальным соблюдение онко-функционального баланса. Это не обязательно выбор между тем, что лучше, жить дольше или жить лучше, хирургическое вмешательство может служить обеим целям. Оценка функционального состояния пациентов детского возраста проводится с использованием шкалы игровых показателей Ланского [4]. Шкала была разработана для оценки общего состояния и реакции ребенка на проводимое лечение у детей с онкологическими заболеваниями.

Цель исследования. Оценить функциональные результаты нейрохирургического лечения пациентов с первичными опухолями ГМ, расположенными в ФЗО супратенториальной локализации.

Материалы и методы. Представлены результаты обследования и нейрохирургического лечения 64 пациентов детского возраста с новообразованиями, расположенными в ФЗО больших полушарий. Обязательным условием включения в исследование было вовлечение в процесс коры головного мозга. Возраст пациентов составил от 0,68 до 18,2 лет. Средний возраст 11 лет, медиана возраста 11,58 лет, из них 28 (43,75%) мальчиков, 36 (56,25%) девочек. Медиана наблюдения 2,85 года (минимум 0,51 года, максимум 8,2 года). Все пациенты были оперированы на базе РНЦ неврологии и нейрохирургии. Функциональная активность пациентов до и после нейрохирургического вмешательства были оценены по шкале Ланского (табл. 1).

Табл. 1. Шкала Ланского

100	нормальная активность, нет симптомов заболевания
90	небольшое ограничение физической активности, требующей усилий
80	активный, но быстро утомляется
70	Значительное ограничение физической активности, уменьшение времени активных игр
60	участие в активных играх минимальное, продолжает заниматься спокойными играми
50	участвует только в спокойных играх
40	в основном лежит в кровати, иногда участвует в спокойных играх
30	находится только в кровати, необходима помощь даже в спокойных играх
20	часто спит, игры ограничены пассивным участием
10	не играет, не встаёт с постели
0	не реагирует на внешние раздражители

Для оценки выраженности гемипареза, использовалась стандартная оценка мышечной силы, в которой нормальной силе и полному объему движений соответствует 5 баллов, а отсутствию произвольных движений, параличу – соответствует ноль баллов.

Динамика течения эпилепсии, связанной с опухолью, оценивалась по шкале Engel (табл. 2).

Табл. 2. Шкала исходов хирургического лечения эпилепсии по J. Engel

I класс	Отсутствие приступов, отрицательно влияющих на качество жизни
I A	Полное отсутствие приступов
I B	Наличие только аур
I C	Наличие приступов, нарушающих качество жизни после операции, но отсутствие таковых в течение последних 2 лет.
I D	Генерализованные приступы только при отмене антиконвульсантов
II класс	Редкие приступы, нарушающие качество жизни
II A	Полное отсутствие приступов, нарушающих качество жизни после операции, но наличие редких приступов на момент оценки
II B	Редкие приступы, нарушающие качество жизни
II C	Частые приступы после операции, но редкие на момент обследования
II D	Приступы, проявляющиеся только во время сна
III класс	Существенное улучшение
III A	Существенное снижение частоты приступов
III B	Отсутствие приступов, влияющих на качество жизни в течение не менее 2 лет после операции, но их рецидив на момент обследования
IV класс	Несущественное улучшение
IV A	Снижение частоты без улучшения качества жизни
IV B	Отсутствие динамики
IV C	Учащение приступов

В работе использованы стандартные методы вариационной статистики. Оценка выживаемости включала расчеты по методу Kaplan – Meier. Сравнение данных в различных группах осуществлялось с использованием критерия χ^2 и W-критерия Вилкоксона. Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Локализация. У 39 (60,9%) пациентов процесс располагался в проекции первичной и дополнительной двигательной коры; у 16 (25%) в проекции первичных речевых центров, из них у 9 в задней трети верхней височной извилины, у 7 в задней трети нижней лобной извилины, доминантного для функции речи полушария; у 6 (9,4%) в инсулярной области; у троих (4,7%) в отделах коры соответствующих корковым центрам зрения.

Морфология новообразований. Гистологически новообразования были представлены: НЗГ у 40 (62,5%) пациентов, ВЗГ у 12 (18,75%), не опухолевое поражение, включая каверномы и фокальные кортикальные дисплазии 2 типа (ФКД) у 12 (18,75%) пациентов. Включение в исследование пациентов с ФКД связано не только с признаком общей локализации, но и с тем, что дооперационная дифференциальная диагностика этой патологии методом МРТ нередко весьма затруднительна, и окончательный диагноз устанавливается только после гистологического исследования, а также в связи со сложностью в определении границ резекции, что характерно и для опухолей.

Радикальность удаления. Радикальность операции и показатели выживаемости изучены только для пациентов с первичными опухолями головного мозга, которых в исследование вошло 52. Полнота удаления опухолей оценивалась по результатам МРТ до и после контрастирования,

выполненной в первые 24 часа после операции. Тотальное удаление выполнено 38 (73,0%) пациентам, не радикальное 14 (27,0%).

Выживаемость. Бессобытийная выживаемость ожидаемо зависела от степени злокачественности опухоли. При НЗГ она составила 100%, при ВЗГ $67\pm 16\%$, медиана наблюдения 2,85 года. Все события наступили у пациентов с ВЗГ ($p=0,0003$) (рис. 1).

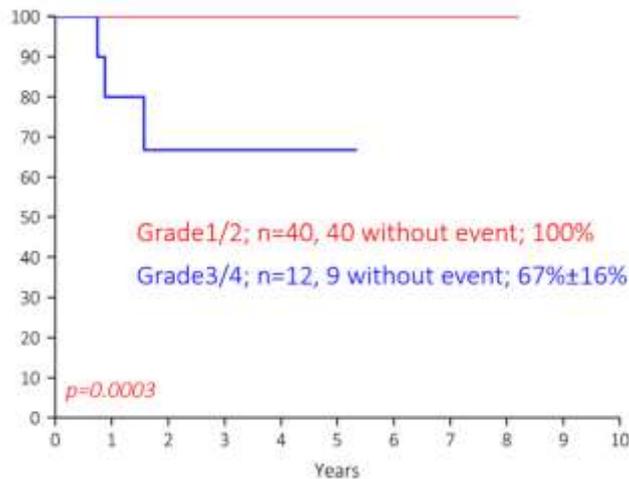


Рис. 1. Бессобытийная выживаемость пациентов в зависимости от степени злокачественности опухоли

Не выявлено зависимости бессобытийной выживаемости от радикальности удаления опухоли. При тотальном (радикальном) удалении, выживаемость составила $97\pm 3\%$, при нерадикальном $84\pm 11\%$, медиана наблюдения 2,85 года, что может быть связано с коротким периодом наблюдения. События регистрировались только у пациентов с ВЗГ (рис. 2).

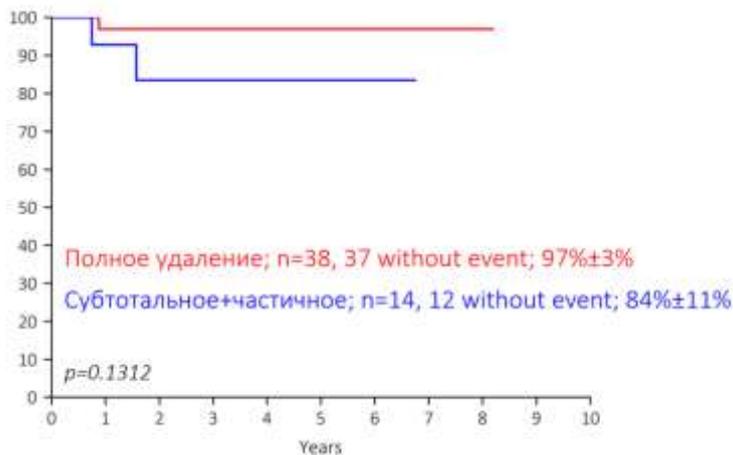


Рис. 2. Зависимость бессобытийной выживаемости от радикальности удаления опухоли

Неврологический дефицит. Из 64 пациентов неврологические нарушения до операции диагностированы у 11 (17,2%), у всех в виде парезов в конечностях. Из них 6 с ВЗГ, 4 с каверномами и 1 с НЗГ. При ВЗГ очаговый неврологический дефицит (парезы) встречались статистически значимо чаще ($p<0,05$). У 4 (36,4%) после операции парез регрессировал до 5 баллов. Из 7 без улучшения, нарастание пареза у 1 и у 6 частичное улучшение или на дооперационном уровне.

Из 53 пациентов без неврологических нарушений, после операции в раннем послеоперационном периоде развился очаговый неврологический дефицит у 13 (24,5%). Парезы в конечностях у 11, нарушение речи у 1 и зрения у 1. Полное восстановление функции в течение одного – трёх месяцев после операции наступило у 12 (92,2%), не восстановилось только выпадения полей зрения у пациента с опухолью в проекции коркового представительства функции.

Оценка функционального состояния. Изучение функционального состояния пациентов до и после нейрохирургического вмешательства проводилась по шкале Ланского. Оценка выполнялась до операции и через 3-4 недели после операции, т.е. до начала онкологического лечения, которое стандартно проводится пациентам с ВЗГ. Полное сохранение нормальной активности, соответствующее 100 баллам и легкое ограничение активности ребенка (90 баллов) до операции

имело место у 53 (82,9%), а после нейрохирургического этапа лечения у 55 (85,9%), т.е. ухудшения общего функционального состояния пациентов для всей группы не наступило. Количество детей, соответствующих 100 баллам уменьшилось на 2, они стали соответствовать 90, одновременно ещё двое улучшили свой статус, перейдя в группу, соответствующую 90 баллам (табл.3). Статистически значимых различий у пациентов до и после операции не установлено ($p=0,9870$).

Табл. 3. Распределение пациентов по шкале Ланского до и после нейрохирургического этапа лечения

Lansky Scale	До операции n=64	После операции n=64	P (χ^2)	W-критерий Вилкоксона
70	1 (1,6%)	1 (1,6%)	-	0,9870
80	10 (15,6%)	8 (12,5%)	0,6111	
90	1 (1,6%)	5 (7,8%)	0,0943	
100	52 (81,3%)	50 (78,1%)	0,6603	

Течение эпилепсии. Особенности течения эпилепсии при опухолях, расположенных в ФЗО описаны в нашей предыдущей работе [5]. 42 (65,4%) пациента на момент первичной диагностики имели в анамнезе эпилепсию. У 31 (73,8%) из них результат операции соответствует Engel I, и Engel II-IV у 11 (26,2%). Всего после операции судороги зарегистрированы у 13 (20,3%). Из 22 пациентов у которых не было судорог до операции, они развились после удаления у двоих (9,1%).

Обсуждение. Первичные опухоли головного мозга составляют до 20% в структуре детского рака [6,7,9]. Все используемые в нейроонкологии методы лечения, такие как операция, химио- и лучевая терапия достаточно агрессивны для развивающегося мозга и каждый из них может приводить к нарушению поведенческих, когнитивных, сексуальных функций, вызывать серьезные ограничения в повседневной жизни, учебе и социализации. Химиотерапия и облучение центральной нервной системы являются хорошо известными факторами, нарушающими функциональную активность и, практически, все составляющие качества жизни, именно им принадлежит основной вклад в снижении интеллекта и нарушении когнитивных функций [7].

Большинство исследований последних десятилетий показывают связь между радикальностью удаления глиальной опухоли головного мозга и показателями выживаемости [1]. Этот вывод справедлив, как для НЗГ, так и ВЗГ. Кроме улучшения выживаемости, более радикальное удаление эффективно и в отношении купирования судорог, связанных с неоплатическим процессом [12,13]. Однако, операция в проекции ФЗО коры ГМ грозит развитием стойкого неврологического дефицита, что может стать поводом для более позднего назначения адьювантного лечения и как итог, сокращению показателей выживаемости [1,2,3]. Достижения в области лечения привели к улучшению выживаемости, в результате чего до 80% детей, с диагнозом опухоль головного мозга, выживают, по крайней мере пять лет [9]. Многочисленные исследования показывают, что выживаемостью пациентов с НЗГ на протяжении 10 лет составляет 60% и более, что делает актуальным сохранить эти годы с достойным качеством жизни [7]. Таким образом, сегодня становится весьма актуальным соблюдение онко-функционального баланса.

J. Roth и соавторы (2020) в своей работе, обобщая результаты хирургии 52 пациентов детского возраста показал, что, используя все современные технологии, позволяющие сохранить качество жизни, удалось тотально удалить опухоль у 63,5% [10]. Наилучший функциональный результат при удалении опухолей, расположенных в двигательной коре у 51 взрослого пациента, описал M. Rossi и соавторы (2019), выполнив тотальное удаление у 85,3% пациентов и получив стойкий неврологический дефицит в 2% наблюдений [11]. В изучаемой группе пациентов с опухолями, расположенными в ФЗО, радикальное удаление, подтвержденное результатом МРТ исследования, удалось выполнить у 73% пациентов. В нашей группе бессобытийная выживаемость пациентов с НЗГ составила 100%, а при ВЗГ $67\pm 16\%$, что очевидно является хорошим результатом.

Судороги являются частым проявлением опухолей ГМ, наблюдаясь как при новообразованиях низкой, так и высокой степени злокачественности, встречаясь у 40% детей, а частота их увеличивается с течением времени [12,13,14]. При глиомах низкой злокачественности судороги являются одним из самых частых симптомов, приводя к значительному снижению качества жизни пациента и его семьи [12,13,15]. В нашей группе пациентов судороги случались у 65,4%, из них результат операции соответствует Engel I у 73,8%.

Ph. C. De Witt Hamer опубликовал (2020) системный обзор, посвященный изучению функционального результата операций по удалению ОГМ. В изученных публикациях чаще всего сообщается о неврологическом исходе (58%), реже изучается способность выполнения действий

повседневной жизни (25%), оценка результата течения эпилептических припадков (13%), оценка когнитивных функций (8%) и качества жизни, связанного со здоровьем (6%). В 27% исследований не было рассмотрено ни одного функционального результата [1]. Проведенные ранее исследования по изучению различных аспектов, отражающих качество жизни, показали, что у детей с опухолями ЦНС оно хуже по сравнению со здоровыми, что достаточно очевидно, но ещё и то, что у детей с первичными опухолями ЦНС, эти показатели хуже, чем у детей с раком других локализаций [6].

В исследуемой группе пациентов дооперационный неврологический дефицит статистически значимо чаще встречался у пациентов с ВЗГ. Это может быть объяснено медленным и экспансивным характером роста НЗГ и феноменом нейропластичности. Операции с использованием современных методов интраоперационного контроля за сохранностью функций, тщательное планирование удаления патологического процесса и применение концепции удаления в пределах функциональных границ позволяют не проводить достаточно полное удаление с низким риском развития стойкого неврологического дефицита. У 92,2% пациентов, развившиеся после удаления новые неврологические нарушения полностью регрессировали в течение нескольких месяцев после операции.

Заключение. Функциональное состояние, которое для детей в первую очередь определяется способностью играть и быть физически активным, и течение эпилепсии являются прямыми показателями, отражающими качество жизни ребенка и, несомненно, его родителей [1,6]. Оценка функционального состояния пациентов детского возраста проводится с использованием шкалы Ланского, которая была разработана для оценки общего состояния, и реакции на проводимое лечение у детей с онкологическими заболеваниями [4,8]. Выполненная операция не привела к ухудшению функционального статуса детей, 90-100 баллом соответствовало 85,9%.

Литература:

- [1]. *De Witt Hamer P. C., Klein M., Hervey-Jumper S.L., Wefel J.S., Berger M.S.* Functional Outcomes and Health-Related Quality of Life Following Glioma Surgery // *Neurosurgery*. 2021. Vol. 88(4). P. 720–732. <https://doi.org/10.1093/neuros/nyaa365>
- [2]. *Gorlia T., Wu W., Wang M., Baumert B.G., Mehta M., Buckner J.C., Shaw E., Brown P., Stupp R., Galanis E., Lacombe D., van den Bent M.J.* New validated prognostic models and prognostic calculators in patients with low-grade gliomas diagnosed by central pathology review: a pooled analysis of EORTC/RTOG/NCCTG phase III clinical trials // *Neuro Oncol*. 2013. Vol. 15(11). P. 1568–1579. <https://doi.org/10.1093/neuonc/not117>
- [3]. *Rahman M., Abbatematteo J., De Leo E.K., Kubilis P.S., Vaziri S., Bova F., Sayour E., Mitchell D., Quinones-Hinojosa A.* The effects of new or worsened postoperative neurological deficits on survival of patients with glioblastoma // *J Neurosurg*. 2017. Vol. 127(1). P. 123–131. <https://doi.org/10.3171/2016.7.JNS16396>
- [4]. *Lansky S.B., List M.A., Lansky L.L., Ritter-Sterr C., Miller D.R.* The measurement of performance in childhood cancer patients // *Cancer*. 1987. Vol. 60(7). P. 1651–1656. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19871001\)60:7<1651::aid-cncr2820600738>3.0.co;2-j](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19871001)60:7<1651::aid-cncr2820600738>3.0.co;2-j)
- [5]. *Талабаев М.В., Куликова С.Л., Соловьева А.Ю., Венегас К.Ф.* Особенности клинической манифестации новообразований функционально значимых отделов коры головного мозга у детей // *Неврология и нейрохирургия, восточная Европа*. 2021, № 3, С. 306–314. <https://doi.org/10.34883/PI.2021.11.3.043>
- [6]. *Macartney G., Harrison M.B., VanDenKerkhof E., Stacey D. Patricia McCarthy.* Quality of Life and Symptoms in Pediatric Brain Tumor Survivors: A Systematic Review // *Journal of Pediatric Oncology Nursing*. 2014. Vol. 31(2). P. 65–77. <https://doi.org/10.1177/1043454213520191>
- [7]. *Gupta P., Jalali R.* Long-term Survivors of Childhood Brain Tumors: Impact on General Health and Quality of Life // *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2017. Vol. 17(12). P. 99. <https://doi.org/10.1007/s11910-017-0808-0>
- [8]. *Zattra M.C., Broggi M et al.* Surgical outcome and indicators of postoperative worsening in intra-axial thalamic and posterior fossa pediatric tumors: Preliminary results from a single tertiary referral center cohort // *Interdisciplinary Neurosurgery: Advanced Techniques and Case Management*. 2021. Vol. 24. P. 101054. <https://doi.org/10.1016/j.inat.2020.101054>
- [9]. *Bell H., Ownsworth T., Lloyd O., Sheeran N., Chambers S.* A systematic review of factors related to children's quality of life and mental health after brain tumor // *Psychooncology*. 2018. Vol.27(10). P. 2317–2326. <https://doi.org/10.1002/pon.4850>
- [10]. *Roth J., Korn A., Sala F., Benvenisti H., Jubran M., Bitan-Talmor Y., Ekstein M., Constantini S.* Intraoperative neurophysiology in pediatric supratentorial surgery: experience with 57 cases // *Childs Nerv Syst*. 2020. Vol.36(2). P. 315–324. <https://doi.org/10.1007/s00381-019-04356-0>
- [11]. *Rossi M., Conti Nibali M., Viganò L., Puglisi G., Howells H., Gay L., Sciortino T., Leonetti A., Riva M., Forna L., Cerri G., Bello L.* Resection of tumors within the primary motor cortex using high-frequency stimulation: oncological and functional efficiency of this versatile approach based on clinical conditions // *J Neurosurg*. 2019. Vol.9. P. 1–13. <https://thejns.org/doi/abs/10.3171/2019.5.JNS19453>

- [12]. Roth J., Bercovich O., Roach A., Mangano F.T., Mohan A.C., Aldave G., Weiner H.L., Thomale U.W., Schaumann A., Uliel-Sibony S., Constantini S. Seizures following surgery for supratentorial extratemporal low-grade tumors in children: a multicenter retrospective study // *J Neurosurg Pediatr.* 2020. Vol. 26(1). P. 27–33. <https://doi.org/10.3171/2020.2.PEDS19673>.
- [13]. Fattal-Valevski A., Nissan N., Kramer U., Constantini S. Seizures as the clinical presenting symptom in children with brain tumors // *J Child Neurol.* 2013. Vol. 28(3). P. 292–296.
- [14]. Ullrich N.J., Pomeroy S.L., Kapur K., et al. Incidence, risk factors, and longitudinal outcome of seizures in long-term survivors of pediatric brain tumors // *Epilepsia.* 2015. Vol. 56(10). P. 1599–1604.
- [15]. Englot D.J., Berger M.S., Barbaro N.M., Chang E.F. Predictors of seizure freedom after resection of supratentorial low-grade gliomas. A review // *J Neurosurg.* 2011. Vol. 115(2). P. 240–244.

M.V. TALABAEV, H.Y. SALAUYEVA, S.L. KULIKOVA, Y.G. SHENKO, K.F. VENEGAS

FUNCTIONAL RESULTS AFTER REMOVAL OF ELOQUENT BRAIN AREA TUMORS

Republican Research and Clinical Center for Neurology and Neurosurgery, Minsk, Republic of Belarus

Summary

The functional results of the removal of eloquent brain area tumors were analysed. The results obtained demonstrate, that gross total resection was performed in 73% of patients and the event-free survival of patients with low-grade gliomas was 100%, and high-grade gliomas 67 ±16%. Seizures before operation occurred in 65,4% of patients, a postoperative result Engel I was obtained in 73,8% of patients. In 92,2% of patients with new neurological deficit after the treatment completely regressed for several months. The performed neurosurgical treatment did not lead to deterioration of the performance status in 85,9% of patients.

Keywords: eloquent brain area, tumor, pediatric neurosurgery, event-free survival, epilepsy.

М.Э. СУЛТАНЛЫ

УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АКСО-ДЕНДРИТИЧЕСКИХ И АКСО-СОМАТИЧЕСКИХ СИНАПСОВ В ОРБИТО-ФРОНТАЛЬНОЙ КОРЕ БЕЛЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС НА ФОНЕ МАЛОБЕЛКОВОЙ ПИЩИ ПОСЛЕ ОСТРОГО ЗВУКОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Научно-исследовательский институт физиологии им. акад. А. Караева Национальной Академии Наук, г. Баку, Азербайджан

Актуальность. Ультраструктурные изменения аксо-дендритических (ахо-dendritic synapses; ADS) и аксо-соматических синапсов (ахо-somatic synapses; ASS) в орбито-фронтальной коре (ОФК) головного мозга белых лабораторных крыс при белковом дефиците в пище после острого звукового воздействия остаются малоизученными.

Цель. Электронно-микроскопическое изучить состояние аксо-дендритических и аксо-соматических синапсов в I-IV слоях ОФК половозрелых белых лабораторных крыс в условиях сбалансированной и малобелковой пищи после острого звукового воздействия

Материал и методы. Опыты выполнены на 64-х белых нелинейных половозрелых лабораторных крысах-самцах массой 180,0-230,0 гр (8 – интактных, 56– экспериментальных) После непрерывного звонка интенсивностью 120 db в течении 120 секунд 56 крыс разделены на 2 группы: с сбалансированной пищей (контрольная - 28) и малобелковой пищей (основная – 28); с 2-мя подгруппами в каждой из них: стресс-устойчивые (по 12) и стресс-неустойчивые (по 16 животных). Прием воды – без ограничений. Животные из эксперимента выведены на 10-е, 20-е, 30-е и 40-е сутки после звукового воздействия. Параллельно с гистологическими и иммуногистохимическими анализами образцы I-IV слоев ПФК изучены также трансмиссионной электронной микроскопией.

Результаты. Электронно-микроскопические изменения строения ADS и ASS выявлены во всех слоях ПФК. Отмечены нарушения тонкой структуры как пресинаптического, так и постсинаптического полюсов. Максимальная выраженность ультраструктурных изменений присуща ADS поверхностного (I, молекулярного), наружного зернистого (II), пирамидного (III) и внутреннего зернистого (IV) слоев ПФК. Дезорганизация ASS отмечена преимущественно в контактах, постсинаптический полюс которых сформирован телами мелких пирамидных нейронов III слоя, а также - пирамидных и звездчатых нейронов IV слоя ПФК. Во всех сроках наблюдений нарушения тонкой организации наиболее выражены у стресс-неустойчивых животных основной группы опытов, особенно – на 10-е и 20-е сутки после воздействия.

Заключение. Острое звуковое воздействие инициирует нарушения тонкой организации аксо-дендритических и аксо-соматических синапсов в I-IV слоях ПФК белых лабораторных крыс. Очаговая деструкция части отмеченных синапсов у крыс с малобелковой пищей после острого аудиогенного стресса имеет необратимый характер и может рассматриваться как проявление нарушений межнейрональных связей в ПФК у животных в условиях малобелковой пищи.

Ключевые слова: орбито-фронтальная кора, электронная микроскопия, крыса, стресс, малобелковая пища.

Актуальность. Орбито-фронтальная кора (ПФК) – часть сложной интегративной функциональной системы, регулирующей в том числе и поведенческие реакции у различных млекопитающих. В настоящее время комплексно изучаются морфологические, нейрохимические и физиологические особенности ПФК в динамике адаптации центральной нервной системы к стрессу [1, 2, 3]. При этом недостаточно освещены вопросы тонкой (ультраструктурной) организации различных морфологических типов межнейрональных контактов в условиях различных экстремальных воздействий, в частности, синаптических связей в I-IV слоях ОФК у белых лабораторных крыс – важнейших объектов при моделировании различных патологических состояний [2, 3, 4]. Не систематизированы ультраструктурные нарушения двух основных морфологических типов синапсов – аксо-дендритических (ахо-dendritic synapses; ADS) и аксо-соматических (ахо-

somatic synapses; ASS) – в ОФК, а также динамика их восстановления у крыс с малобелковым пищевым рационом после острого звукового воздействия.

Учитывая вышеизложенное, **целью** настоящего исследования явилось электронно-микроскопическое изучение аксо-дендритических и аксо-соматических синапсов в I-IV слоях ОФК половозрелых белых лабораторных крыс в условиях сбалансированной и малобелковой пищи после острого звукового воздействия.

Материал и методы. Объектом исследования послужили 64 белых нелинейных половозрелых лабораторных крыс-самцов массой 180,0-230,0 гр. Из них 8 животных содержались в условиях вивария с достаточной шумоизоляцией, адекватными освещением и вентиляцией, без ограничения приема пищи и воды, выводились из опытов параллельно животным контрольной и основной групп эксперимента (интактные животные; «норма»). Остальные 56 крыс в специальной камере-клетке были подвержены непрерывному звуковому воздействию звонком интенсивностью 120 дБ (db) в течении 120 секунд. При подборе фактора-раздражителя за основу были взяты данные о стрессогенности острого звука у крыс [4, 5]. Показателями неустойчивости к острому стрессорному звуковому воздействию послужили появление судорог у животных, избегание освещенных участков клетки, избегание центральных квадратов в клетке, резкое увеличение продолжительности неподвижности, уменьшение числа пищевых болюсов, уменьшение числа вертикальных стоек и вращательных движений головы, хаотичный и продолжительный груминг [4, 5]. По совокупности вышеперечисленных параметров подопытные животные после звукового воздействия были разделены на «стресс-устойчивые» (24) и «стресс-неустойчивые» (32). Далее были сформированы 2 группы по 28 животных в каждой (12 – стресс-устойчивые; 16 – стресс-неустойчивые): 1) «контрольная (с сбалансированным пищевым рационом) и 2) «основная» (с малобелковой пищей).

Животные контрольной группы с момента звукового воздействия до конца опытов (40-е сутки) получали сбалансированную или богатую белками пищу по рецепту, предложенному М. Nikinorov et al. 6 (табл. 1).

Табл. 1. Состав пищи у животных контрольной группы опытов (из расчета на 100,0 гр массы животного)

Ингредиенты	Количество
Казеин	20,0 гр
Крахмал	65,0 гр
Растительное масло	5,0 мл
Клетчатка (целлюлоза)	5,0 гр
Комплекс витаминов	1,0 гр
Пищевая соль (NaCl)	0,4 гр

Примечание: Прием воды – без ограничений (свободный доступ к резервуару воды).

В основной экспериментальной группе в пищевом рационе 80,0% белка казеина (16,0 гр из 20,0 гр на 100,0 гр массы животного) было заменено крахмалом и растительной клетчаткой. Следовательно, животные основной группы с момента звукового воздействия до конца опытов - 40-х суток – содержались на бедной белками пище. Как и у животных контрольной группы, ограничений в приеме воды не было.

Животные из эксперимента выводились внезапной массивной воздушной эмболизацией на 10-е, 20-е, 30-е и 40-е сутки после звукового воздействия. Сразу после умерщвления животных извлекались орбито-фронтальные области обоих полушарий головного мозга. При уходе за животными и их умерщвлении были соблюдены принципы декларации Европейского сообщества о животных (86/609/ЕЕС), используемых в экспериментах, а также для других научных целей [7]. Руководствуясь атласами и стереотаксическими картами головного мозга белой лабораторной крысы [1, 8], в каждом случае были обозначены 3 зоны ОФК с обеих сторон: 1) медиальная; 2) вентральная и 3) латеральная. Наряду с гистологическими и иммуногистохимическими анализами, часть материала была взята на электронно-микроскопические исследования. Так, кусочки ПФК объемом 1-2 мм³ были зафиксированы в смеси 2,5% глутарового альдегида, 2,0% параформальдегида, 4,0% глюкозы и 0,1% пикриновой кислоты на 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,4) с последующей промывкой 0,1 М фосфатным буфером (рН 7,4) и постфиксацией 1,0% четырехокисью осмия (OsO₄) и 1,5% красной кровяной солью в течении 1,5 ч. В дальнейшем, после очередной промывки 0,1 М фосфатным буфером (рН 7,4) кусочки были проведены через ряд спиртов 50⁰-96⁰, ацетона и залиты в эпон-аральдитовую смесь. На основе предварительного (ориентировочного) изучения окрашенных 0,5% метиленовой синью + 0,1% фуксином полутонких срезов (0,5-1,0 мкм) соответствующих

блоков были отобраны наиболее информативные участки и нарезаны из них ультратонкие срезы (50,0-60,0 nm) на микротоме "Leica EM UC7". Последние были окрашены 2,0% уранилацетатом и 0,6% цитратом свинца. Готовые контрастированные ультратонкие срезы были исследованы в трансмиссионном электронном микроскопе JEM-1400 (JEOL) при напряжении катода 80,0 kv. При выполнении электронно-микроскопических процедур обработки материала и интерпретации результатов анализа руководствовались общепринятыми научно-методическими изданиями [9, 10].

Интенсивность (выраженность) электронно-микроскопических изменений была оценена визуально-полуколичественно по 4-х бальной шкале: 0,0 - отсутствие изменения; 1,0+ - до 25,0% изученных синапсов; 2,0+ - 26,0-50,0% изученных синапсов; 3+ - 51,0-75,0% изученных синапсов; 4,0+ - более 75,0% изученных синапсов.

Результаты и их обсуждение. Полученные авторами изображения по ультраструктурной организации ADS и ASS в ОФК у интактных белых лабораторных крыс, в целом, совпадает с результатами ранее проведенных работ [11, 12]. У экспериментальных животных электронно-микроскопические изменения строения ADS и ASS с той или иной частотой и степенью выраженности выявлены во всех слоях исследованных зон ОФК. Отмечены нарушения тонкой структуры составных частей как пресинаптического, так и постсинаптического полюсов обоих типов синапсов. В синапсах ADS типа максимальная выраженность ультраструктурных изменений присуща синапсам в поверхностном (I, молекулярном), наружном зернистом (II), пирамидном (III) и внутреннем зернистом (IV) слоях во всех изученных зонах ОФК. Дезорганизация ASS же отмечена преимущественно в контактах, постсинаптический полюс которых сформирован телами мелких пирамидных нейронов III слоя, а также пирамидных и звездчатых нейронов IV слоя ПФК. Обнаруженные изменения синапсов касаются как электронной плотности матрикса аксоплазмы, дендроплазмы, перикариона, так и тонкого строения их субструктур. Различные проявления нарушений электронно-микроскопической организации ADS и ASS частично отражены в сводной таблице (табл.2).

Табл. 2. Динамика основных электронно-микроскопических нарушений тонкого строения аксо-дендритических (ADS) и аксо-соматических (ASS) синапсов в орбито-фронтальной коре головного мозга у белых лабораторных крыс после острого звукового воздействия

	Контрольная группа (балансированная пища)				Основная группа (малобелковая пища)			
	Стресс-устойчивые		Стресс-неустойчивые		Стресс-устойчивые		Стресс-неустойчивые	
	I	II	I	II	I	II	I	II
Набухание пресинаптического конца (терминаля) аксона	+	-	++	-	++	+	+++	++
Отек и просветление матрикса пре- и постсинаптических полюсов	+	-	++	+	++	+	+++	++
Агглютинация, перераспределение и частичная деструкция синаптических везикул	++	-	++	+	++++	++	++++	+++
Отек, просветление матрикса и частичная фрагментация крист митохондрий	++	-	++	-	+++	+	++++	++
Сморщивание и уплотнение матрикса митохондрий	+	-	++	+	+++	+	+++	++
Накопление электронно-плотных остаточных микротелец	-	-	-	+	+	++	+	+++
Частичная или точечная фрагментация пресинаптической мембраны	-	-	+	-	++	+	+++	++
Частичная или точечная фрагментация постсинаптической мембраны	-	-	+	+	++	+	+++	+++
Деформация и редукция синаптической щели	-	-	+	-	++	-	++	+
Расширение синаптической щели с отложениями аморфного электронно-плотного субстрата в ней	-	-	+	+	+	+	+	+

Примечание: I – 10-е сутки после острого звукового воздействия; II – 40-е сутки после острого звукового воздействия

Как видно из представленной таблицы, наиболее выраженные ультраструктурные изменения обоих типов синапсов отмечены у животных, содержащихся на малобелковом пищевом рационе после звукового воздействия. Так, у стресс-неустойчивых животных основной группы опытов выявлены сложные сочетания просветления (набухания) и уплотнения матрикса, очаговой деструкции и «темной» дегенерации структур пре- и постсинаптического полюсов, а также размеров, форм, электронной плотности и количества (плотности распределения) синаптических везикул в динамике эксперимента. У животных данной подгруппы начиная с 20-х суток наблюдений обнаружены относительно многочисленные аморфные и кристаллоидные осмиофильные отложения размерами 40,0-380,0 нм. Возможно, указанные отложения представляют собой скопления остаточных телец после аутофагосомии в пре- и постсинаптических структурах, особенно в подмембранной полосе перикариона ASS пирамидных нейронов III слоя ОФК у животных, содержащихся на малобелковой пище после острого звукового воздействия. Вместе с тем, данное предположение нуждается в дальнейшем подкреплении в комплексных исследованиях.

В целом, к 40-м суткам эксперимента, при частичном восстановлении электронной плотности, продолжают оставаться фокусы уплотнения («тёмной» дегенерации) синапсов, особенно – на телах (постсинаптических полюсах) звездчатых и пирамидных нейронов II-IV слоев ОФК.

Электронно-микроскопическая организация аксо-дендритических и аксо-соматических синапсов в различных слоях ОФК у крыс с малобелковым пищевым рационом после острого звукового воздействия частично представлена в рис. 1 (рис. 1).

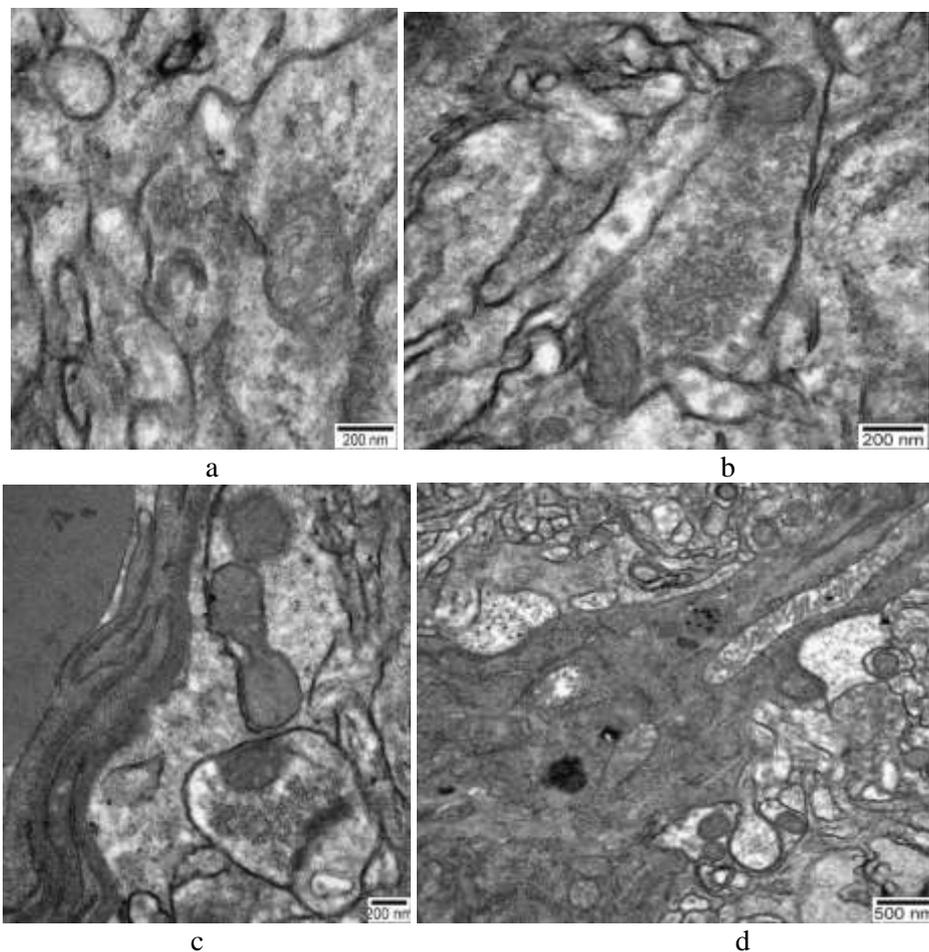


Рис. 1. Электронно-микроскопические особенности синапсов в ОФК у стресс-неустойчивых белых лабораторных крыс на фоне малобелковой пищи после острого звукового воздействия. Набухание (просветление) матрикса, полиморфизм и частичное разрушение синаптических везикул в аксо-дендритических синапсах в I слое вентральной зоны ОФК (а, b); деформация и уплотнение митохондрий, аномальное сосредоточение синаптических везикул в центре пресинаптического полюса, аномально-зернистый матрикс в аксо-дендритическом синапсе в I слое медиальной зоны ОФК (с); мозаичные поля просветления и уплотнения аксо-дендритических и аксо-соматических синапсов, осмиофильные включения на фоне уплотнения и темной дегенерации тела нейрона в I слое вентральной зоны ОФК. а – 10-е сутки, б – 20-е сутки, с – 30-е сутки, d – 40-е сутки эксперимента. Увеличение: см. масштабы на рисунках.

Установлено, что некоторые электронно-микроскопические нарушения строения ASS и ADS в ПФК у стресс-неустойчивых животных основной группы опытов остаются даже спустя 40 суток от начала эксперимента и, скорее всего, приобретают необратимый характер. Функциональные проявления же выявленных остаточных ультраструктурных изменений части ADS и ASS I-IV слоев различных зон ОФК нуждаются в дополнительном комплексном нейрофизиологическом и морфологическом исследовании.

Выводы.

- Острое звуковое воздействие инициирует нарушения тонкой организации аксо-дендритических и аксо-соматических синапсов в I-IV слоях различных зон орбито-фронтальной коры белых лабораторных крыс
- Очаговая деструкция тонкой организации отдельных аксо-дендритических и аксо-соматических синапсов у крыс с малобелковой пищей после острого аудиогенного стресса имеет необратимый характер и может рассматриваться как проявление нарушений межнейрональных связей в орбито-фронтальной коре у животных в условиях малобелковой пищи.

Литература

- [1]. Fuster J.M. The prefrontal cortex. Fourth Edition. London, Burlington, San Diego, 2008, Academic Press, 410 p.
- [2]. Dalley J.W., Cardinal R.N., Robbins T.W. Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates // *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 2004, V. 28. № 7, p. 771-784.
- [3]. Holmgren C., Harkany T., Svennenfors B., Zilberter Y. Pyramidal cell communication within local networks in layer 2/3 of rat neocortex // *J. Physiol.*, 2003, Vol.551 (Pt. 1), p. 139-153.
- [4]. Формирование поведения животных в норме и патологии. К 100-летию со дня рождения Л.В. Крушинского (2013). Составители И.И. Полетаева, З.А. Зорина, Изд-во «Языки славянских культур», РФФИ, Москва, 2013, 489 с.
- [5]. Кузнецова Г.Д. Аудиогенные судороги у крыс разных генетических линий // *Журнал ВНД*, 1998, т.48, вып.1, с.143-152.
- [6]. Nikinorov M., Urbanek-Karłowska B., Karłowska K. Protein deficient diets. Activity of selected enzymes of protein and carbohydrate metabolism // *Toxicology*. 1973, vol.1, pp. 263-276.
- [7]. Guidelines for accommodation and care of animals (article 5 of the convention) approved by the multilateral consultation. Strasbourg, 15 June 2006, cons. 123 (2006).
- [8]. Watson C., Paxinos G. The Rat Brain in stereotaxis coordinates. London, San Diego: Academic Press, 2007. – 456 p.
- [9]. Kuo J. Electron microscopy: methods and protocols. Tokyo: Humana Press, 2007, 625 p.
- [10]. Springer Handbook of Microscopy / Ed. P. Hawkes, J.C.H. Spence. – Springer Nature Switzerland AG, 2019, 1543 p.
- [11]. Зайцев А.В. Морфофункциональные свойства разных типов нейронов и их синаптические связи в префронтальной коре макаки и крысы: Дисс. ... докт. биол. наук, Санкт-Петербург, 2013, 278 с.
- [12]. Harris K.M., Weinberg R.J. Ultrastructure of synapses in the mammalian brain // February 21, 2012, doi: 10.1101/cshperspect.a005587 Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012, 31 p.

M.E. SULTANLY

ULTRASTRUCTURAL CHARACTERISTICS OF AXO-DENDRITIC AND AXO-SOMATIC SYNAPSE IN THE ORBITO-FRONTAL CORTEX OF WHITE LABORATORY RATS ON A BACKGROUND OF LONG-PROTEIN FOOD AFTER ACUTE SOUND EXPOSURE

Research Institute of Physiology. acad. A. Karaev National Academy of Sciences, Baku, Azerbaijan

Summary

Relevance. Ultrastructural changes in axo-dendritic synapses (ADS) and axo-somatic synapses (ASS) in the orbitofrontal cortex (OFC) of the brain of white laboratory rats with protein deficiency in food after acute sound exposure remain poorly understood.

Goal. Electron-microscopic study of the state of axo-dendritic and axo-somatic synapses in I-IV layers of the OFC of sexually mature white laboratory rats under conditions of balanced and low-protein food after acute sound exposure

Material and methods. Experiments were performed on 64 white non-linear sexually mature laboratory male rats weighing 180.0-230.0 g (8 intact, 56 experimental) After a continuous call with an

intensity of 120 db for 120 seconds, 56 rats were divided into 2 groups: food (control - 28) and low-protein food (basic - 28); with 2 subgroups in each of them: stress-resistant (12 animals each) and stress-unstable animals (16 animals each). Water intake is unlimited. The animals were taken out of the experiment on the 10th, 20th, 30th and 40th days after the sound exposure. In parallel with histological and immunohistochemical analyzes, samples of PFC layers I-IV were also studied by transmission electron microscopy.

Results. Electron microscopic changes in the structure of ADS and ASS c were found in all layers of PFC. Violations of the fine structure of both the presynaptic and postsynaptic poles were noted. The maximum severity of ultrastructural changes is inherent in the ADS of the surface (I, molecular), outer granular (II), pyramidal (III), and inner granular (IV) layers of PFC. ASS disorganization was noted mainly in contacts, the postsynaptic pole of which was formed by the bodies of small pyramidal neurons of layer III, as well as pyramidal and stellate neurons of layer IV of the PFC. In all periods of observation, violations of fine organization were most pronounced in stress-unstable animals of the main group of experiments, especially on the 10th and 20th days after exposure.

Conclusion. Acute sound exposure initiates disturbances in the fine organization of axo-dendritic and axo-somatic synapses in PFC layers I-IV of white laboratory rats. Focal destruction of a part of the noted synapses in rats with low-protein food after acute auditory stress is irreversible and can be considered as a manifestation of disturbances in interneuronal connections in the PFC in animals under conditions of low-protein food.

Key words: orbitofrontal cortex, electron microscopy, rat, stress, low-protein food.

«ГУМОРАЛЬНОЕ ЗДОРОВЬЕ» ЧЕЛОВЕКА: БИОХИМИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ И ИХ ОЦЕНКА ПРИ МОЧЕКАМЕННОЙ БОЛЕЗНИ

ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск, Беларусь

В статье обоснована информативность использования базовой комплексной оценки состояния «гуморального здоровья» как инструмента для стандартизации мониторинга метаболического благополучия человеческого организма в норме и при развитии патологии на примере МКБ. Внедрение подобных исследований не влечет за собой дополнительных трудовых и материальных затрат профильных медицинских учреждений, что обуславливает высокую социальную значимость и доступность этого метода для практического здравоохранения.

Ключевые слова: биохимия, гуморальное здоровье, сыворотка крови, мочекаменная болезнь.

Введение. Рутинные клинические показатели (частота сердечных сокращений, артериальное давление, температура тела, масса тела) на современном этапе развития медицины являются недостаточными для оценки состояния здоровья человека. Регистрация в организме изменений, происходящих на границе здоровья и адаптационных возможностей человеческого организма, чаще всего не улавливаемых клинически, но обнаруживаемых при тщательном лабораторном исследовании, относится к области превентивно-предективной медицины и диктует необходимость поиска актуальных методов оценки состояния здоровья на молекулярном уровне [1, 2].

Оценка состояния «гуморального здоровья» человека основана на использовании базовых биохимических тестов, нашедших широкое применение в учреждениях практического здравоохранения и представленных ключевыми биохимическими константами: общий белок (ОБ), альбумин, глюкоза, общий холестерин (ОХ), мочевины, креатинин [3].

Сохранение постоянства метаболического звена гуморального гомеостаза «обеспечивает» система ферментов плазмы крови, из которых ключевыми считаются шесть: аспаратаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТП), щелочная фосфатаза (ЩФ), лактатдегидрогеназа (ЛДГ) и креатинфосфокиназа (КФК). Каждому из них отведено определенное место в конкретном метаболическом пути (гликолиз, переаминирование, синтез белка, протеолиз, обмен жирных кислот и т.п.).

Уровень энзиматической активности характеризует интенсивность того пути метаболизма, в котором фермент принимает участие. Количественное отражение метаболических сдвигов, связанных с регуляцией гуморального гомеостаза и направленных на поддержание здоровья человека, определяется термином «адаптивная ферментемия» [4].

Важным достоинством методологического подхода, ориентированного на исследование комплекса биохимических показателей, характеризующих базовый биохимический профиль человека, является возможность установления метаболического соотношения между ними. Взаимосвязь ключевых субстратов и ферментов, поддерживающих их постоянство, схематически изображена на рисунке 1 и положена в основу предложенного Е.Г.Фокиной «биохимического паспорта» человека.

Врачу важно проанализировать весь комплекс представленных метаболических показателей. Развитие заболевания может сопровождаться выходом биохимических величин, отражающих активность ферментов и уровень содержания субстратов, за пределы «адаптационного коридора», а регресс клинических проявлений болезни характеризуется возвратом указанных показателей к эталонным значениям.

Основной «документ», дающий полноценную оценку состояния «гуморального здоровья» пациента, может быть представлен в виде обобщенной характеристики результатов биохимических исследований. В современной литературе для его рабочего названия все чаще используется термин «паспорт»: например, метаболический [5, 6], биохимический [7, 8] и др.



Рис.1. Иллюстрация адаптационной взаимосвязи ферментов и субстратов по Е.Г.Фокиной

Материалы и методы. Основная группа наблюдения представлена пациентами с мочекаменной болезнью (МКБ) в возрасте 26-79 лет ($n=156$, соотношение численности мужчин и женщин 1,1:1). Диагноз заболевания был верифицирован по результатам клинико-лабораторно-инструментального исследования и определения минералогической структуры уrolитов *in vitro*.

Группу сравнения составили лица в возрасте 18-69 лет ($n=132$, м:ж 1:1,5). Обязательным критерием включения для данной когорты было отсутствие признаков урологической патологии и метаболического синдрома. Как фоновое состояние у обследованных лиц зарегистрирована хроническая неинфекционная патология в компенсированной форме без наличия осложнений (артериальная гипертензия I-II ст., нестабильная стенокардия, хронический гастродуоденит, хронический холецистит, пищевая аллергия, хронический бронхит).

Определение содержания ОБ, альбумина, глюкозы, ОХ, мочевины, креатинина и активности ферментов АЛТ, АСТ, ЩФ, ЛДГ, ГГТП осуществлено с использованием коммерческих наборов реагентов «Витал–Диагностикс СПб» (Россия), «Cormay» (Польша). Измерения проводили на автоматическом биохимическом анализаторе DialabAutolyzer (Австрия). Контроль качества лабораторных исследований выполнялся с применением контрольной сыворотки «HUMATROL» (Германия).

Для статистической обработки результатов исследования использован «арсенал» вычислительных методов, рекомендованных к применению в биологии и медицине, с использованием пакетов приложений Microsoft Office XP и программы Statistica (версия 6.0). Числовые значения представляли в виде $Me [Q25;Q75]$. При сравнении двух независимых групп по одной количественной переменной использовали тест Манна-Уитни (различия считали достоверными при значениях $p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение. Интерпретация выявленных сдвигов биохимических показателей сыворотки крови обследованных лиц осуществлена с позиции современных представлений о методологии разграничения состояний «здоровье» и «болезнь» в клинической медицине. Под традиционно используемым термином «нормальные величины», однозначное определение которого до настоящего времени еще не предложено, принято подразумевать оптимальное равновесное состояние организма с окружающей средой, при которой, в частности, не нарушается способность человека полноценно выполнять социальные и другие функции [9]. Обычную «норму» для биохимических тестов «набирают» включением в эту группу условно здоровых людей. Однако разделение биологической популяции по ряду лабораторных показателей на больных и здоровых невозможно даже с теоретической точки зрения – в силу значительных индивидуальных различий. Динамичный норматив с широким диапазоном значений по существу является ошибкой. В силу этого так называемая «норма» определяется, как правило, у произвольно взятого контингента, который субъективно считается здоровой группой, и поэтому в нее, естественно,

могут попадать лица, адаптированные к начинающейся патологии при отсутствии клинических проявлений.

Вместе с тем, поскольку распределение показателей здоровых и больных в большинстве случаев частично перекрывается, что обуславливает появление ложноотрицательных результатов, по мнению ряда авторов, понятие «нормальные величины» является непригодным и вводит практических врачей в заблуждение [10]. Признавая трудность точного определения термина «нормальный», автор предлагает заменить его следующими терминами:

– «**референсная величина**» – основана на определяемом с целью исследования выборе граничных значений – отсечки (cut-off value) [11, 12];

– «**пограничная величина**» (limitvalue) – лабораторный критерий диагностики, за которым «скрывается» патология [10];

– «**эталонная величина**» – «жесткая» константа «нормального» значения биохимического показателя [4].

Таким образом, понятие «норма» и «здоровье» (как и представление о «нормальных границах показателей теста») весьма условно и включает в себя не только биологический, но и медицинский смысл. Если «биологическая норма» определяется биологической вариацией изучаемого параметра в популяции, то «медицинская норма» – прежде всего теми клиническими задачами, которые предстоит решить. Показатели «нормы» означают стартовую позицию в оценке истинности метаболических изменений, что требует тщательности в оценке отмечаемых сдвигов и «ювелирных подходов» при обосновании окончательных выводов.

Интерпретация результатов настоящего исследования основывалась на использовании референсных величин биохимических показателей (таблица 1).

Табл. 1. Референсные значения ключевых биохимических тестов, характеризующих состояние гуморального здоровья [5,9,13,14]

Лабораторные тесты	Референсные значения
Общий белок, г/л	>70,0
Альбумин, г/л	35,0 – 52,0
Мочевина, ммоль/л	≤ 8,3
Креатинин, ммоль/л	53,0 – 97,0
Глюкоза (натощак), ммоль/л	≤ 5,6
Общий холестерин, ммоль/л	≤ 5,2
АСТ, Е/л	ж <31; м <45
АЛТ, Е/л	ж <31; м <37
ЩФ, Е/л	44 – 147
ГГТП, Е/л	ж 8,8-22,0; м 10,4 – 33,8
ЛДГ, Е/л	225 – 550
КФК, Е/л	ж <167; м <190

Результаты статистического анализа биохимических параметров, характеризующих состояние «гуморального здоровья» у пациентов с МКБ и лиц группы сравнения, представлены в таблице 2.

Табл. 2. Сравнительная статистическая оценка биохимических показателей, характеризующих состояние «гуморального здоровья» у пациентов с МКБ и лиц группы сравнения

Показатель	Основная группа	Группа сравнения	p
	Me[Q25;Q75]	Me[Q25;Q75]	
Альбумин, г/л	41,01[37,20-42,90]	41,12[38,78-42,81]	0,578
ОБ, г/л	73,77[53,55-87,80]	70,34[66,92-73,42]	0,063
Глюкоза, моль/л	5,69[5,10-6,36]	5,35[4,97-5,67]	0,001
ОХ, ммоль/л	5,32[4,73-6,05]	4,83[4,28-5,34]	0,0001
Мочевина, ммоль/л	5,60[4,99-6,38]	5,42[4,30-6,62]	0,076
Креатинин, мкмоль/л	72,88[60,53-84,15]	70,80[64,39-79,90]	0,859
АСТ, Е/л	21,20[15,50-27,69]	18,10[15,70-20,80]	0,003
АЛТ, Е/л	22,10[15,60-32,60]	13,10[11,20-17,30]	<0,0001
ЩФ, Е/л	73,00[64,17-92,5]	71,00[60,00-83,00]	0,957
ГГТП, Е/л	21,25[13,36-32,71]	15,00[12,00-21,00]	0,001
ЛДГ, Е/л	298,00[(260,9-356,0)]	287,00[253,0-324,0]	0,045

В основу интерпретации базовых показателей сыворотки крови (ОБ, альбумин, глюкоза, ОХ, мочевины, креатинин), определяющих состояние «гуморального здоровья» человека, нами был положен метаболический принцип оценки параметра, исходя из его роли в обмене веществ. Биохимические сдвиги рассматривались как количественное выражение протекающих в организме патофизиологических изменений с главенствующей ролью при оценке состояния здоровья пациента клинических данных. Биохимические сдвиги рассматривались как количественное выражение протекающих в организме патофизиологических изменений, при этом решающее значение в оценке состояния здоровья пациента принадлежало клиническим данным.

Из анализируемых показателей особую патогенетическую роль при развитии МКБ играют глюкоза и общий холестерин. Нарушение метаболизма с развитием гипергликемии и гиперхолестеринемии рассматривается как гормонально-метаболический риск формирования уратного уролитиаза [15, 16]. В выполненном нами исследовании медиана содержания в сыворотке крови глюкозы (5,69 ммоль/л) и общего холестерина (5,32 ммоль/л) у пациентов с МКБ статистически значимо ($p=0,001$ и $p=0,0001$) превышали контрольные значения по сравнению с контролем (соответственно 5,35 ммоль/л и 4,83 ммоль/л). Максимум их индивидуальных значений у пациентов с МКБ составлял 9,4 ммоль/л и 8,12 ммоль/л при контрольных показателях соответственно 5,99 и 6,21 ммоль/л. Превышение референсных величин этих субстанций выявлено у 56,3% и 55,8% лиц при уролитиазе и в 5,2% и 2,0% случаях в группе контроля.

Будучи основными лабораторными проявлениями «метаболического синдрома», они часто сопровождаются нарушением метаболизма мочевой кислоты, что приводит к изменению литогенных свойства мочи и увеличению частоты формирования уратных камней [16]. Клиническим подтверждением влияния этих факторов риска является повышение в наблюдаемой когорте индекса массы тела (ИМТ): при уролитиазе значения его медианы 27,74 [23,55–33,03] были достоверно ($p<0,0001$) выше показателя в группе контроля 22,21 [19,83–23,80], соответствующего референсной норме (18,5–25,0).

Особенности ферментативных сдвигов, определяемых уровнем активности ферментов, обуславливающих характер «адаптивной ферментемии», могут быть использованы для оценки степени выраженности метаболических изменений в клеточных элементах тканей.

В первую очередь обращает на себя внимание соотношение двух трансаминаз – АСТ и АЛТ, характеризующих катаболическую (АСТ) и анаболическую (АЛТ) сторону метаболизма [1, 4]. Баланс катаболических и анаболических процессов в организме человека определяется соотношением АСТ/АЛТ (коэффициент де Риттиса), значения которого отражают доминирующий тип обмена веществ у пациента ($>1,2$ отн. ед. – катаболический; 0,8–1,2 отн. ед. – промежуточный; $<0,8$ отн. ед. – анаболический). В здоровом организме катаболизм несколько преобладает над анаболизмом: нормальная величина коэффициента де Риттиса для взрослого человека в условиях покоя составляет 1,5 отн. ед. и зависит от белковой обеспеченности организма. Значительное повышение коэффициента АСТ/АЛТ имеет место при развитии глубоких деструктивных изменений в клетке. В наших исследованиях у пациентов с МКБ медиана соотношения АСТ/АЛТ снижена до значений 0,97 [0,69–1,19] против соответствующего норме показателя 1,34 [1,07–1,62] в группе контроля ($p<0,0001$), что соответствует промежуточному типу обмена веществ.

Из других показателей ферментемии констатировано повышение активности ГГТП и ЛДГ, что может быть использовано в качестве маркера перенасыщения мочи литогенными субстанциями [17]. У лиц, страдающих МКБ, медиана активности составляла для ГГТП 21,25 [13,36–32,71] и для ЛДГ 298,0 [260,9–356,0], достоверно ($p=0,001$ и $p=0,045$) превышая значения контроля (соответственно 15,00 [12,00–21,00] и 287,0 [253,0–324,0]).

Заключение. Клиническая медицина должна быть ориентирована на внедрение базовой комплексной оценки состояния «гуморального здоровья» как обязательного начального этапа при любом лабораторном обследовании человека, предшествуя проведению специфической для изучаемой патологии диагностики. Проведение одиночного анализа из составляющих его показателей не является прогностически значимым, так как он отрывочен и не алгоритмизирован с другими параметрами, учитывая существующие между ними метаболические связи.

Данная технология должна дополнять многокомпонентный количественный и структурный анализ макро- и низкомолекулярных метаболитов с разработкой протеомного и метаболомного профилей болезни и определением патогенетически значимых корреляционных связей между изучаемыми метаболитами.

В частности, оценка состояния «гуморального здоровья» у пациентов с уролитиазом, рассматриваемая на сегодняшний день как обязательный этап любого клинического исследования, уже до проведения специфического биохимического изучения литогенного статуса позволила выявить факторы формирования МКБ:

- метаболические риски, ассоциированные с уратной формой уролитиаза, в виде гипергликемии и гиперхолестеринемии;
- ферментативную дезадаптацию с доминированием (по соотношению АСТ/АЛТ) промежуточного типа обмена веществ при сохранении нормального катаболического типа у лиц группы сравнения;
- повышение активности ферментов ГТП и ЛДГ как маркеров перенасыщения мочи литогенными субстанциями.

Обнаружение в настоящем исследовании угрозы риска камнеобразования в мочевыводящих путях создает реальную возможность вмешательства в процесс нарушения обменных процессов на стадии развития болезни, предшествующей образованию уrolита.

Внедрение в медицину нового термина «биохимический (метаболический) паспорт», ориентированного на оценку «гуморального здоровья» человека, при всей возможной на сегодняшний день противоречивости информации, с нашей точки зрения определяет практическую значимость его использования, исходя из современных принципов предиктивно-превентивного направления медицины [2], а именно:

- выявление на молекулярном уровне изменений, происходящих на границе здоровья и адаптационных возможностей человека;
- представление информации о пациенте в персонифицированном формате;
- возможность типизации диагностического процесса при обследовании пациентов с соответствующей патологией.

Рекомендуемое внедрение доступно для широкого использования в лабораторной медицине лечебно-профилактических учреждений здравоохранения на различных уровнях их функционирования.

Литература

- [1]. N 33/68, G 01N 33/92/ И.М. Рослый, М.Г. Водолажская; заявитель Государственное общеобразовательное учреждения высшего профессионального образования Ставропольский гос. ун-т.- № 2339045; заявл. 20006145210/15; опубл.10.07.2008/ Бюл. №32/Федеральный институт промышленной собственности, отделение ВПТБ. – 2008. – С.11.
- [2]. Сучков С.В. и др. Введение в предиктивно-превентивную медицину: опыт прошлого и реальности дня завтрашнего // Терапевтический архив. 2012. №8. С.81-85.
- [3]. Абрамов С.В., Рослый И.М., Белова Е.Г., Еремушкина Я.М. Метаболические основы биохимических сдвигов в плазме крови // Материалы научно-практической конференции «Современные достижения фундаментальных наук в решении актуальных проблем медицины». Астрахань. 2004. С. 60-65.
- [4]. Фокина Е.Г., Рослый И.М. Адаптивная ферментемия. LAP LAMBERT. Academia Publishing, 2013, 92с.
- [5]. Юрага Т.М., Камышников В.С., Фокина Е.Г., Гресь Н.А. Метаболический паспорт пациента с риском камнеобразования в мочевой системе: принципы формирования, структурные элементы // Международный научно-практический журнал «Лабораторная диагностика. Восточная Европа». 2020. Т. 9, №3. С. 197 – 213.
- [6]. Пирузян Л.А. Метаболический паспорт человека – основа новой стратегии в фармакологии // Вестник Российской Академии Наук. 2004. Т. 74, № 7. С. 610-618.
- [7]. Фокина Е.Г., Рослый И.М. Биохимический паспорт человека: 6 субстратов и 6 ферментов // ВРАЧ. 2014. – №7. – С. 6-12.
- [8]. Фокина Е. Г., Рослый И. М. Биохимический паспорт человека – метод комплексной оценки состояния обмена веществ // Спортивная медицина. 2015. №2. С. 13-42.
- [9]. Гресь Н.А., Юрага Т.М // Биохимический паспорт человека с риском камнеобразования в мочевой системе: принципы выбора структурных элементов // Сб. статей международной научно-практической конференции «XLVII международной научно-практической конференции (памяти В.П. Вологодина». М.: ЕФИР. 2019. - 115с.
- [10]. Камышников В.С. Норма в лабораторной медицине: справочник, 2-е изд. М.:МЕДпресс-информ, 2014. 336 с.
- [11]. Чиркин А. А. Физиологические значения лабораторных тестов у населения Республики Беларусь: справочное пособие, Мн.: Адукація і выхаванне, 2008. 88 с.
- [12]. Камышников В.С. Дифференциация состояний «норма–патология». Методология установления референтных величин, диагностической и предсказательной информативности показателей лабораторных

тестов: принципы оценки // Международный научно-практический журнал «Лабораторная диагностика. Восточная Европа». 2018. Т.7, №1. С. 9-25.

- [13]. *Тиц Н.* Клиническое руководство по лабораторным тестам М.: ЮНИМЕД-пресс, 2003. 941 с.
- [14]. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2-х т. – Мн.: Беларусь, 2002. Т.1. 465с.
- [15]. *Гусакова Д.А., Калинин С.Ю., Тюзиков И.А.* Основы гормонально-метаболической терапии мочекаменной болезни // Урология и нефрология. 2018. №2. С.32-39.
- [16]. *Голованов С.А., Сивков А.В., Анохин Н.В., Дрожжева В.В.* Индекс массы тела и химический состав мочевых камней // Урология. 2015. №4. С.32-41.
- [17]. *Кудинов А.В.* Фармакологические пути снижения пересыщения мочи в коррекции экспериментального оксалатного нефролитиаза: Автореф. дис... канд. биол. наук, Томск.: Алтайский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2013. 27с.

T.M. JURAHA

"HUMORAL HEALTH" OF THE HUMAN: BIOCHEMICAL CRITERIA AND THEIR EVALUATION FOR URELINE DISEASE

Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education, Minsk, Belarus

Summary

The article substantiates the informativeness of using the basic comprehensive assessment of the state of "humoral health" as a tool for standardizing monitoring of the metabolic well-being of the human body in health and in the development of pathology for example ICD. The introduction of such research does not entail additional labor and material costs of specialized medical institutions, which determines the high social significance and availability of this method for practical health care.

Key words: biochemistry, humoral health, blood serum, urolithiasis.

УДК 547.579:[611.36+611.73+611.127]:613.81]-092.9

А.К. СЕМЕНЧУК, В.В. ЛЕЛЕВИЧ

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ АЛКОГОЛИЗАЦИИ НА ПУЛ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ ПЕЧЕНИ, СКЕЛЕТНОЙ МУСКУЛАТУРЫ И МИОКАРДА КРЫС

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

В работе приведен сравнительный анализ патохимических сдвигов в пуле серосодержащих соединений в различных тканях крыс при различных типах алкогольной интоксикации. Можно отметить, что наиболее выраженный эффект влияния этанола наблюдается в скелетной мускулатуре, но только при хронической алкогольной интоксикации. Тогда как в тканях печени этанол вызывает менее выраженные, но однонаправленные изменения при всех видах алкоголизации.

Ключевые слова: алкогольная интоксикация, этанол, серосодержащие аминокислоты, печень, миокард, скелетная мускулатура.

Введение. Алкогольная интоксикация приводит к дисбалансу во многих метаболических процессах организма, в том числе и в обмене аминокислот [4]. Значение последних определяется их уникальной ролью в построении и обмене основных структурных компонентов клеток и в реализации через эти компоненты большинства биологически важных функций. Хроническая алкогольная интоксикация вызывает нарушение равновесия между синтезом и катаболизмом белка [1], что напрямую связано с трансформацией пула свободных аминокислот. К настоящему времени хорошо изучена органоспецифичность токсических эффектов данной патологии [2, 4].

Поражению печени отводится ведущее место среди висцеральных нарушений, вызванных этанолом [10, 11]. Печень является главным местом метаболизма этанола, до 85% этанола в печени превращается в ацетальдегид. Основными причинами, приводящими к аминокислотному дисбалансу в печени при алкогольной интоксикации, являются: 1) снижение захвата циркулирующих в крови аминокислот печенью, 2) усиление протеолиза в самой печени и внепеченочных тканях, 3) нарушение процессов синтеза белка [4, 10]. Наиболее характерными изменениями аминокислотного пула печени при хронической алкогольной интоксикации являются увеличение суммарного уровня аминокислот и уменьшение относительного содержания заменимых аминокислот при сохранении неизменного уровня незаменимых, что свидетельствует о повышении интенсивности процессов катаболизма белка [1].

К системным эффектам алкогольной интоксикации относится поражение скелетной мускулатуры [7]. Нарушения в гомеостазе белка проявляются в виде уменьшения мышечной массы и площади поперечного сечения (ППС) мышц, богатых волокнами II типа, и развитии прогрессирующей проксимальной миопатии. Основным механизмом данного явления является длительный дисбаланс между накоплением и распадом белка в скелетных мышцах. При этом основным фактором, способствующим такому состоянию, является снижение скорости синтеза мышечного белка [12]. Показано, что хроническое употребление алкоголя снижает аутофосфорилирование mTOR (мишень рапамицина у млекопитающих), протеинкиназы, стимулирующей синтез белка. Помимо этого, ухудшается инициация кэп-зависимой трансляции мРНК и эффективность трансляции [7]. Роль внутриклеточной деградации белка в развитии алкогольной миопатии изучена недостаточно и является предметом дискуссии.

Разнообразно и токсическое действие этанола на миокард [3, 8, 9]. Наиболее важными из этих эффектов являются: влияние на метаболизм и энергообеспечение клетки; прямое токсическое действие ацетальдегида и этанола на синтез белка; нарушение сопряжения между возбуждением и сокращением; свободнорадикальное повреждение; нарушение липидного обмена; дисбаланс катехоламинов и других гормонов. Аминокислотный дисбаланс, вызванный хронической алкогольной интоксикацией, является одним из патогенетических механизмов развития алкогольной кардиомиопатии [9].

В структуре пула свободных аминокислот особую группу составляют серосодержащие аминокислоты, значение которых связано, в первую очередь, с их участием в процессах метилирования большого числа биологически важных молекул организма, а также с их ролью в развитии ряда патологических процессов [2]. Так, метионин является ключевой незаменимой аминокислотой, донатором метильных групп и серы, служит эссенциальным предшественником цистеина, глутатиона, таурина и посредством цистеина участвует в образовании инсулина и коэнзима А. Нарушения активности ферментов, участвующих в метаболизме метионина, приводят в клинике к проявлениям остеопороза и нейропсихической патологии [3].

Важным метаболитом в обмене серосодержащих аминокислот является гомоцистеин. Уровень гомоцистеина в плазме крови имеет большое прогностическое значение при сердечно-сосудистой патологии [6]. Повышенный уровень гомоцистеина в организме (гипергомоцистеинемия) может служить причиной ряда нейродегенеративных заболеваний, осложнений беременности, врожденных пороков развития плода [2].

Хроническое влияние алкоголя на аминокислотный пул некоторых тканей описано в ряде работ [5, 8, 9]. Однако, на данный момент остается недостаточно выясненным, какое влияние на концентрацию серосодержащих аминокислот в тканях оказывает прерывистая алкогольная интоксикация, являющаяся одной из наиболее распространенных форм потребления алкоголя в человеческой популяции.

Материалы и методы. В эксперименте было использовано 30 белых беспородных крыс-самцов массой 180-220 г, находящихся на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде. Моделирование хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) осуществлялось путем внутрижелудочного введения этанола в дозе 3,5 г/кг массы тела два раза в сутки в виде 25%-го раствора. Прерывистая алкогольная интоксикация (ПАИ) моделировалась путем внутрижелудочного введения этанола в дозе 3,5 г/кг массы тела два раза в сутки в виде 25%-го раствора по следующим схемам: 4 суток алкоголизации – 3 суток внутрижелудочное введение эквивалентного количества воды (ПАИ-4) и 1 сутки алкоголизации – 1 сутки внутрижелудочное введение эквивалентного количества воды (ПАИ-1). Животные контрольной группы внутрижелудочно дважды в сутки получали эквивалентные количества воды. Продолжительность эксперимента составляла 14 суток. Декапитацию проводили через 1 час после последнего введения алкоголя и воды. После декапитации животных ткани незамедлительно замораживали в жидком азоте. При выполнении исследований придерживались правил и норм гуманного обращения с экспериментальными животными. Для определения содержания свободных аминокислот и их производных использовали прибор ВЭЖХ Agilent 1200 с 4-канальной системой подачи растворителя с вакуумным дегазатором, термостатируемый автосамплер, термостат колонок, детектор флуоресценции. Обработка хроматограмм производилась программой Agilent ChemStation B.04.02. Использовались реактивы для приготовления подвижных фаз квалификации осч, трижды дистиллированная вода.

Для определения нормальности выборки использовался критерий Колмогорова–Смирнова. Так как распределение отличается от нормального, статистическую обработку данных проводили с помощью непараметрических методов. Результаты выражали в виде медианы (Me) и рассеяния (25 и 75 процентилей). Для сравнения двух независимых выборок по количественным признакам использовали U-критерий Манна-Уитни, различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. В качестве дополнительного метода статистической обработки использовали корреляционный анализ по Спирмену. При этом использовали пакет статистических программ Statistica 10.0 (SN AXAR207F394425FA-Q).

Результаты и их обсуждение. 14-дневная ХАИ сопровождалась достоверным повышением в печени концентрации β -аланина (в 2,1 раза, $p < 0,05$) и таурина (в 1,2 раза, $p < 0,05$), уменьшением концентрации цистатионина (в 2,1 раза, $p < 0,05$) и восстановленного глутатиона (в 1,3 раза, $p < 0,05$) (таблица 1). Одной из причин повышения уровня таурина на фоне ХАИ может быть увеличение содержания β -аланина в данных условиях, являющегося антагонистом транспорта таурина. Кроме того, поскольку содержание цистатионина и глутатиона уменьшается, а таурина возрастает, можно предполагать, что имеет место активация цистеиндиоксигеназного пути превращения цистеина [2].

На фоне ХАИ в печени исчезли достоверные положительные корреляции уровней глицина и цистеиновой кислоты, глицина и цистатионина, имевшие место в контрольной группе. Так же в группе ХАИ не наблюдалось характерных для контроля корреляций между концентрацией β -аланина и уровнями цистеин-сульфиновой кислоты, серина и карназина. На ряду с этим на фоне алкоголизации появились положительные корреляции между содержанием ансерина и цистеиновой

кислоты ($r=0,92$), ансерина и карназина ($r=0,98$), ансерина и таурина ($r=0,92$), ансерина и цистатионина ($r=0,92$). Такая динамика может косвенно свидетельствовать об активации в печени катаболических процессов при ХАИ.

Табл. 1. Содержание серосодержащих и родственных им соединений в печени крыс при различных формах алкогольной интоксикации (нмоль/г) (Ме (25%; 75%)).

	контроль	ХАИ	ПАИ-4	ПАИ-1
Цистеиновая кислота	1,691 (1,566; 2,014)	1,603 (1,369; 2,040)	1,311 (1,230; 1,585)	1,569 (1,157; 1,779)
Цистеин-сульфиновая кислота	0,336 (0,165; 0,456)	0,188 (0,175; 0,331)	0,324 (0,143; 0,401)	0,266 (0,139; 0,609)
Серин	376,368 (271,612; 534,395)	326,979 (221,206; 469,959)	472,502 (441,633; 548,297)	402,930 (289,738; 664,357)
Глицин	1932,429 (1657,578; 2137,699)	1930,142 (1417,337; 2375,534)	1703,148 (1546,245; 2027,517)	2312,154 (1288,313; 2661,564)
Ансерин	5,963 (4,354; 8,779)	7,211 (4,905; 8,185)	6,743 (3,485; 7,973)	2,909 (2,384; 4,181)
β -аланина	117,141 (102,472; 144,072)	245,977* (168,903; 254,274)	188,008* (170,344; 232,270)	172,473* (160,579; 199,211)
Карназин	21,688 (16,255; 31,201)	31,479 (21,284; 37,935)	28,072 (25,909; 32,633)	46,935* (33,243; 58,305)
Таурин	679,615 (622,595; 953,237)	795,226* (770,208; 951,483)	882,543* (682,000; 1175,684)	653,667 (550,913; 940,955)
Метионин	24,460 (23,574; 26,161)	22,104 (19,475; 25,182)	23,886 (23,146; 34,103)	27,352 (19,887; 34,990)
Цистатионин	10,476 (9,509; 12,673)	5,095 * (4,174; 6,098)	6,454* (5,112; 6,982)	6,611* (5,967; 9,3376)
Глутатион восстановленный	4362,860 (3752,852; 4425,542)	3364,309* (2749,225; 4134,545)	3326,379* (2628,791; 3400,600)	3483,063 (3285,059; 4234,816)

Примечание: здесь и в таблицах 2 и 3 достоверные различия * - $p<0,05$ по отношению к контролю; # - $p<0,05$ по отношению к ХАИ

Алкоголизация в режиме ПАИ-4 в сравнении с контролем привела к достоверному повышению концентрации β -аланина (в 1,6 раза, $p<0,05$) и таурина (в 1,3 раза, $p<0,05$), но уменьшению содержания цистатионина (в 1,6 раза, $p<0,05$) и глутатиона (в 1,3 раза, $p<0,05$) в печени. Данные изменения аналогичны нарушениям при ХАИ. Кроме того, в группе нарушились характерные для контроля корреляционные связи между уровнями цистеиновой кислоты и глицина, β -аланина с карназином, цистеин-сульфиновой кислотой с серином. При этом при ПАИ-4 наблюдалась отрицательная корреляция между концентрациями в печени цистеиновой кислоты и метионина ($r=-0,8$).

Прерывистая алкогольная интоксикация с однодневным интервалом (ПАИ-1) сопровождалась достоверным повышением в печени уровня β -аланина (в 1,5 раза, $p<0,05$) и карназина (в 2,2 раза, $p<0,05$) и снижению содержания цистатионина (в 1,6 раза, $p<0,05$) в сравнении с контрольной группой.

В скелетной мускулатуре 14-дневная ХАИ сопровождалась снижением уровня глицина (на 40%, $p<0,05$), но увеличением содержания цистатионина в 2,6 раза ($p<0,05$) по сравнению с контрольной группой, что может свидетельствовать об увеличении синтеза последнего за счет вовлечения глицина в данный процесс (таблица 2). При этом снизилось содержание таурина (на 55%,

$p<0,05$) в сравнении с контролем. В то же время следует отметить, что в скелетной мускулатуре ХАИ привела к уменьшению концентраций β -аланина (на 96%, $p<0,05$), карназина (на 74%, $p<0,05$), ансерина (на 75%, $p<0,05$) в сравнении с контрольной группой, что подтверждает негативное воздействие этанола на функциональное состояние мышц и развитие атрофии.

Табл. 2. Содержание серосодержащих и родственных им соединений в скелетной мускулатуре крыс при различных формах алкогольной интоксикации (нмоль/г) (Ме (25%; 75%)).

группы	контроль	ХАИ	ПАИ-4	ПАИ-1
показатели				
Цистеиновая кислота	0,809 (0,681; 0,858)	0,710 (0,611; 0,807)	0,675 (0,556; 0,714)	0,374* (0,363; 0,601)
Цистеин-сульфиновая кислота	0,341 (0,240; 0,357)	0,866 (0,310; 1,633)	0,887* (0,844; 1,264)	0,288 (0,229; 0,476)
Серин	570,854 (454,524; 650,908)	490,478 (309,782; 92,848)	498,275 (373,825; 514,350)	414,179 (397,716; 463,888)
Глицин	2946,997 (2261,860; 3741,740)	1757,735* (1576,891; 871,111)	4139,946*# (4067,225; 212,155)	2409,429# (1969,985; 3258,625)
Ансерин	3729,868 (2890,104; 4275,111)	933,939* (702,926; 350,243)	3618,032# (3014,205; 5050,738)	3292,692# (2830,174; 4523,703)
β -аланин	730,483 (513,746; 1054,085)	28,148* (26,249; 36,708)	1040,190# (886,320; 1235,565)	796,730# (583,452; 852,095)
Карназин	124,373 (81,680; 148,405)	32,643* (15,370; 36,026)	143,715# (98,862; 188,254)	154,703# (90,089; 177,810)
Таурин	7119,687 (6578,806; 7591,050)	3245,046* (2936,960; 4031,497)	6183,779# (5921,025; 6594,938)	6656,481# (5485,849; 9535,804)
Метионин	24,321 (22,208; 26,476)	23,294 (19,112; 23,659)	18,731 (16,395; 29,619)	17,302* (15,081; 19,772)
Цистатионин	15,459 (12,165; 20,596)	40,575* (34,841; 127,468)	12,812# (9,222; 13,810)	22,178 (20,686; 22,976)
Глутатион восстановленный	503,389 (398,147; 587,913)	372,2134 (264,954; 484,731)	275,987 (127,916; 476,334)	575,815 (272,323; 675,157)

Поскольку β -аланин является антагонистом транспорта таурина, следовало ожидать, что снижение концентрации β -аланина могло привести к увеличению уровня таурина. Но так как содержание таурина при ХАИ так же снижено, можно предполагать, что деградация серосодержащих аминокислот в мышечной ткани в данных условиях происходила по пути образования пирувата.

При алкогольной интоксикации в режиме ПАИ-4 в скелетной мускулатуре наблюдалось увеличение уровней глицина (в 1,4 раза, $p<0,05$) и цистеинсульфиновой кислоты (в 2,6 раза, $p<0,05$) в сравнении с контролем. Это, в определенной степени, может свидетельствовать об усилении катаболизма серосодержащих соединений по пути образования таурина и его метаболитов. Содержание ансерина, карназина, β -аланина, таурина и цистатионина на фоне ПАИ-4 здесь не отличается от контрольной группы.

Алкоголизация в режиме ПАИ-1 привела к достоверному снижению в скелетной мускулатуре концентрации цистеиновой кислоты (на 54%, $p<0,05$) и метионина (на 29%, $p<0,05$). При этом уровни глицина, ансерина, β -аланина, карнозина и таурина остаются более высокими, чем при ХАИ, но не отличаются от контрольных значений (таблица 2).

В миокарде 14-дневная ХАИ вызвала достоверное снижение уровня незаменимой аминокислоты метионина (на 23%; $p<0,05$) и повышение содержания β -аланина (на 12%; $p<0,05$)

(таблица 3). На фоне ХАИ здесь нарушились корреляционные связи между большинством серосодержащих соединений, имевшие место в контрольной группе.

Табл. 3. Содержание серосодержащих и родственных им соединений в миокарде крыс при различных формах алкогольной интоксикации (нмоль/г) (Ме (25%; 75%)).

группы	контроль	ХАИ	ПАИ-4	ПАИ-1
показатели				
Цистеиновая кислота	0,685 (0,403; 0,792)	0,622 (0,477; 0,774)	0,625 (0,581; 0,788)	0,714 (0,704; 0,916)
Цистеин-сульфиновая кислота	0,415 (0,328; 0,665)	0,618 (0,354; 0,629)	0,656 (0,429; 0,786)	0,570 (0,451; 0,969)
Серин	435,239 (340,277; 520,627)	354,769 (276,895; 391,156)	345,712 (299,652; 454,606)	394,129 (252,717; 458,242)
Глицин	684,864 (608,464; 723,185)	597,699 (586,469; 647,353)	672,053 (621,948; 749,310)	579,214 (478,861; 603,619)
Ансерин	22,994 (18,979; 30,386)	19,005 (14,425; 26,088)	24,446 (19,240; 29,266)	17,061 (13,255; 24,055)
β-аланин	28,198 (21,166; 30,759)	31,604* (29,051; 35,196)	34,357* (30,257; 42,360)	24,828# (18,095; 26,673)
Карназин	3,502 (3,069; 5,100)	6,877 (5,061; 8,532)	5,017 (4,064; 6,499)	6,599 (4,038; 7,997)
Таурин	13210,400 (12744,700; 13467,600)	14145,500 (12323,000; 15783,900)	14901,200* (13848,400; 15751,900)	12488,000 (12088,500; 14198,600)
Метионин	43,695 (40,442; 46,780)	33,594* (29,577; 36,645)	37,487 (33,332; 43,231)	31,905* (30,393; 36,951)
Цистатионин	2,905 (2,606; 4,060)	3,589 (2,726; 3,663)	2,574 (1,975; 3,148)	3,350 (2,169; 4,070)
Глутатион восстановленный	1483,846 (1457,669; 1512,917)	1469,073 (1422,069; 1535,142)	1457,660 (1387,054; 1548,198)	1357,698 (1298,275; 1527,577)

При алкогольной интоксикации в режиме ПАИ-4 в миокарде достоверно повысилось содержание β-аланина (на 23%; $p < 0,05$) и таурина (на 13%; $p < 0,05$), а концентрация метионина прослеживает тенденцию к снижению. Корреляционный анализ показал сходное с группой ХАИ нарушение корреляционных взаимосвязей между рассчитываемыми параметрами серосодержащих соединений в сердечной мышце.

Алкоголизация в режиме ПАИ-1 привела к достоверному снижению в миокарде только уровня метионина (на 27%; $p < 0,05$) в сравнении с контролем. Содержание β-аланина при этом снизилось по сравнению с группой ХАИ (на 21%; $p < 0,05$) и не отличалось достоверно от контрольных значений.

Заключение.

1. В печени различные формы алкогольной интоксикации (ХАИ, ПАИ-4, ПАИ-1) сопровождаются схожими изменениями пула серосодержащих аминокислот и их производных, которые выражаются в повышении уровней β-аланина и таурина, но снижении содержания цистатионина и глутатиона.

2. В скелетной мускулатуре наиболее выраженные изменения пула серосодержащих соединений отмечаются при ХАИ, что проявилось в уменьшении концентрации глицина, ансерина, β-аланина, карназина, таурина и увеличении концентрации цистатионина. Прерывистая алкогольная интоксикация сопровождается менее выраженными метаболическими отклонениями в мышечной ткани: при ПАИ-4 повышается концентрация цистеинсульфиновой кислоты и глицина, на фоне ПАИ-1 снижается уровень цистеиновой кислоты и метионина в сравнении с контрольной группой.

3. В миокарде алкогольная интоксикация сопровождается снижением содержания метионина (ХАИ и ПАИ-4), но повышением уровней β -аланина (ХАИ и ПАИ-4) и таурина (ПАИ-4).

4. Наиболее выраженные изменения содержания серосодержащих соединений и связанных с ними метаболитов под влиянием этанола наблюдаются в скелетной мускулатуре при хронической алкогольной интоксикации. В печени этанол вызывает менее выраженные, но однонаправленные эффекты при различных видах алкоголизации.

Литература:

- [1]. Лелевич В.В., Лелевич С.В. Прерывистая алкогольная интоксикация – новая модель экспериментального алкоголизма // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. 2014. №3(11). с.90-97.
- [2]. Наумов А.В. Гомоцистеин. Медико-биологические проблемы. Минск: Профессиональные издания, 2013. 312 с.
- [3]. Синькеев М.С., Скворцов Ю.И., Богданова Т.М., Скворцов К.Ю. Аминокислоты крови в патогенезе и клинике ишемической болезни сердца // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2014. № 11-3. С. 480-484.
- [4]. Шейбак В.М. Обмен свободных аминокислот и кофермента А при алкогольной интоксикации. Гродно: 1998. 153 с.
- [5]. Gao B, Bataller R. Alcoholic liver disease: pathogenesis and new therapeutic targets. *Gastroenterology*. 2011. Vol.141. P. 1572-1585.
- [6]. Ganguly, P. Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease / P.Ganguly, S. F. Alam // *Nutrition Journal*. – 2015. – № 14. –Р. 6.
- [7]. Hong-Brown LQ, Brown CR, Kazi AA, Navaratnarajah M, Lang CH. Rag GTPases and AMPK/TSC2/Rheb mediate the differential regulation of mTORC1 signaling in response to alcohol and leucine. // *Am J Physiol Cell Physiol*. 2012. Vol .302. P. C1557–C1565.
- [8]. Iakunchykova O, Schirmer H, Leong D, *et al.* Heavy alcohol drinking and subclinical echocardiographic abnormalities of structure and function. // *Open Heart*. 2021. Vol.8:e001457.
- [9]. Maisch B. Alcoholic cardiomyopathy. The result of dosage and individual predisposition. // *Herz*. 2016. Vol.41. P.484–493.
- [10]. Mello T, Ceni E, Surrenti C, Galli A. Alcohol induced hepatic fibrosis: role of acetaldehyde. // *Mol Aspects Med*. 2008. Vol.29. P.17-21.
- [11]. Rocco A, Compare D, Angrisani D, Sanduzzi Zamparelli M, Nardone G. Alcoholic disease: Liver and beyond. // *World J Gastroenterol*. 2014. Vol. 20(40). P. 14652-14659.
- [12]. Steiner J. L., Lang Ch. H. Dysregulation of skeletal muscle protein metabolism by alcohol. // *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2015 May 1. Vol. 308(9). P. E699–E712.
- [13]. Wu D, Cederbaum AI. Oxidative stress and alcoholic liver disease. // *Semin Liver Dis*. 2009. Vol .29. P.141-154.
- [14]. Xi B., Veeranki S. P., Zhao M., Ma C., Yan Y., Mi J. Relationship of alcohol consumption to all-cause, cardiovascular, and cancer-related mortality in U.S. adults.// *J Am Coll Cardiol*. 2017. Vol 70. P. 913–922.

A.K. SEMENCHUK, V.V. LELEVICH

THE INFLUENCE OF VARIOUS TYPES OF ALCOHOLIZATION ON THE POOL OF SULFUR-CONTAINING COMPOUNDS OF THE LIVER, SKELETAL MUSCLES AND MYOCARDIUM OF RATS

Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

Summary

The article contains a comparative analysis of pathochemical shifts in the pool of sulfur-containing compounds in various tissues of rats for different types of alcohol intoxication. It can be noted that the most pronounced effect of ethanol was observed in skeletal muscles, but only in chronic alcohol intoxication. Whereas in the liver tissues, ethanol causes less pronounced, but unidirectional changes in all types of alcoholization.

Keywords: alcohol intoxication, ethanol, sulfur-containing amino acids, liver, myocardium, skeletal muscles.

УДК 577.352

Е.И. ВЕНСКАЯ, Л.М. ЛУКЪЯНЕНКО, А.С. СКОРОБОГАТОВА,
Е.И. СЛОБОЖАНИНА

ЭФФЕКТЫ СОЧЕТАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ АМИЛОИДОВ И ТРЕТ-БУТИЛГИДРОПЕРЕКИСИ НА ЛИМФОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА

Государственное научное учреждение «Институт биофизики и клеточной инженерии
Национальной академии наук Беларуси», Минск, Беларусь

Изучено влияние амилоидных фибрилл, полученных из лизоцима куриного яйца, на уровень АФК и генотоксический эффект в лимфоцитах человека, в том числе в условиях окислительного стресса, вызванного t-BHP. Обнаружено, что амилоидные фибриллы не оказывают влияния на процесс генерации АФК и генотоксичность в лимфоцитах человека, однако, при сочетанном воздействии амилоидных фибрилл и окислителей (t-BHP) токсические эффекты усиливаются. Так, мы наблюдали более выраженное изменение микровязкости липидного бислоя лимфоцитов и увеличение генерации АФК в клетках при совместном воздействии на них амилоидных фибрилл и t-BHP, по сравнению с контрольными клетками и клетками, подвергшимися воздействию только амилоидов или только t-BHP.

Ключевые слова: лимфоциты человека, амилоиды, окислительный стресс, АФК, ДНК, микровязкость мембранных липидов.

Введение. Существует ряд нейродегенеративных заболеваний (включая болезни Альцгеймера и Паркинсона), при которых наблюдается отложение амилоидных белков в различных органах и тканях. [2]. В литературе показано, что одним из звеньев развития патологических процессов, протекающих при амилоидозах, является генерация активных форм кислорода (АФК). Существует мнение, что АФК вносят вклад в формирование церебральной амилоидной ангиопатии, приводящей к дисфункции сосудов, внутримозговому кровоизлиянию, ишемическому инсульту у пожилых пациентов с болезнью Альцгеймера и без нее [5]. Кроме того, на культуре клеток нейробластомы человека показано, что добавление амилоидов на основе Аβ42 либо амилина в среду для инкубации приводит к увеличению продукции АФК в клетках [10, 12, 17]. Однако, с другой стороны, было описано, что амилоиды Аβ 1–42 и Аβ 1–40 в наномолярных концентрациях снижают повреждение эпителиальных клеток хрусталика человека при окислительном стрессе [16]. При этом, в микромолярных концентрациях данные пептиды обладают цитотоксическими свойствами, вызывая активацию апоптоза, повреждение митохондрий и генерацию АФК [13]. Группой американских исследователей была выдвинута гипотеза, что β-амилоид играет даже своего рода защитную антиоксидантную функцию [14, 15]. Другими авторами выявленная положительная корреляция между уровнем β-амилоида и деменцией рассматривается как защитная компенсаторная реакция в ответ на развитие патологического процесса в организме человека [20].

Таким образом, в настоящее время не существует однозначного мнения о молекулярно – клеточных механизмах влияния амилоидов на различные клеточные системы организма человека и роли окислительного стресса в этих процессах. Ранее в нашей лаборатории было показано, что предварительная инкубация эритроцитов в присутствии амилоидных фибрилл и предгемолитических концентраций ацетата свинца, который, как известно, также инициирует генерацию АФК, вызывают ускорение степени везикуляции эритроцитов в безглюкозной среде и снижение осмотической резистентности клеток; изменение параметров активности мембраносвязанных ферментов, по сравнению с клетками, подвергшимися воздействию только амилоидов или ацетата свинца при тех же условиях [22]. Также было обнаружено, что при сочетанном воздействии на эритроциты человека ацетата свинца и амилоидных фибрилл *in vitro* происходит интенсификация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в их мембранах, изменение параметров флуоресценции липофильных зондов по сравнению с клетками, обработанными отдельно амилоидными структурами или ацетатом свинца при тех же условиях. [18]. Таким образом, воздействие амилоидных фибрилл в сочетании с субгемолитическими концентрациями ацетата свинца усиливают изменения структурно-функционального состояния мембран эритроцитов человека, индуцированное только амилоидами.

Аналогичный эффект мы наблюдали и при изучении воздействия на эритроциты амилоидных фибрилл и ионов алюминия: при их сочетанном воздействии повреждающий эффект этих агентов только усиливается [19; 21]. Однако, как ведут себя клетки иммунной системы, одной из функций которых является устранение чужеродных и пораженных клеток собственного организма, пока известно мало. Цель данной работы – изучить влияние сочетанного действия амилоидных фибрилл, полученных из лизоцима, и трет-бутилгидроперекиси (t-BHP) на процессы, характеризующие функциональное состояние лимфоцитов человека: оценка их жизнеспособности, уровень АФК, изменение липидного бислоя их мембран и степень повреждения ДНК.

Материалы и методы. Лимфоциты выделяли из цельной крови доноров, полученной в РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий МЗ Республики Беларусь, в градиенте плотности гистопака при центрифугировании в течение 15 мин при 1500 об/мин. Количество лимфоцитов и их жизнеспособность оценивали в световом микроскопе с помощью красителя трипанового синего. Эксперименты проводили с суспензией лимфоцитов в концентрации 1×10^6 клеток в 1 мл. Амилоидные фибриллы получали из лизоцима куриного яйца в растворе соляной кислоты [1]. Процесс образования фибрилл контролировали спектрофлуориметрическим методом, используя специфический краситель тиофлавин Т [4]. Уровень АФК регистрировали флуоресцентным методом с помощью зонда 5-(6)-хлорметил-2',7'-дихлордигидрофлуоресцеин диацетата (CM-H₂DCFDA) [11] и методом люминолзависимой хемилюминесценции [7]. Изменение физико-химического состояния липидного бислоя мембран лимфоцитов изучали с помощью липофильных флуоресцентных зондов N,N,N-триметил-4-(6-фенил-1,3,5-гексатриен-1-ил) фениламмония p-толуолсульфоната (ТМА-ДФГ), 6-додеканоил-N,N-диметил-2-нафтиламина (лаурдана) и пирена. Измерение зондовой флуоресценции проводили на люминесцентном спектрофотометре CM2203 ("СОЛАР", Беларусь). Для выявления нарушений ДНК использовали метод «ДНК – комет» [9]. В качестве флуоресцентного красителя использовался этидиум бромид. Микроскопические исследования проводили на микроскопе Nikon Eclipse 50i (фильтр возбуждения 450–490 нм) цифровой цветной фотокамерой Nikon DS-Fi1. Обработку полученных изображений проводили с помощью программы CASP (версия 1.2.3b.2). Представлены средние значения для 6-9 независимых экспериментов.

Результаты и их обсуждение. Лимфоциты являются основными клетками иммунной системы, чутко реагируют на внешние агенты и уничтожают посторонние и пораженные клетки собственного организма. Концентрацию амилоидов в среде инкубации, а также время инкубации лимфоцитов подбирали, оценивая жизнеспособность клеток с помощью трипанового синего таким образом, чтобы количество живых клеток составляло не менее 95%. Для проведения эксперимента лимфоциты разделяли на следующие группы:

- 1) контрольные лимфоциты в натрий-фосфатном буфере (PBS-буфере), pH 7,4;
- 2) лимфоциты в PBS-буфере, pH 7,4, содержащем амилоидные фибриллы из лизоцима в конечной концентрации 20 мкг/мл;
- 3) лимфоциты в PBS-буфере, pH 7,4, содержащем 1 мМ t-BHP;
- 4) лимфоциты в PBS-буфере, pH 7,4, содержащем амилоидные фибриллы из лизоцима в конечной концентрации 20 мкг/мл и 1 мМ t-BHP.

В таблице 1 представлены данные оценки жизнеспособности лимфоцитов после инкубации в средах, содержащих амилоидные фибриллы из лизоцима и t-BHP.

Табл. 1. Оценка жизнеспособности лимфоцитов после инкубации в буферном растворе в различных условиях.

Условия инкубации лимфоцитов	Количество нежизнеспособных клеток на 1 млн.	Количество жизнеспособных клеток, %
Лимфоциты в PBS-буфере, pH 7,4 (контроль)	8000 ± 2000	99,0 – 99,4
Лимфоциты в PBS-буфере, pH 7,4, содержащем амилоидные фибриллы из лизоцима в конечной концентрации 20 мкг/мл	10000 ± 3000	98,7 – 99,2
Лимфоциты в PBS-буфере, pH 7,4, содержащем 1 мМ t-BHP	18000 ± 2000	98,0 – 98,4
Лимфоциты в PBS-буфере, pH 7,4, содержащем амилоидные фибриллы из лизоцима в конечной концентрации 20 мкг/мл и 1 мМ t-BHP	27000 ± 3000	97,0 – 97,6

Используя флуоресцентный зонд H₂DCF-DA, нами было показано, что сами амилоидные фибриллы, полученные из лизоцима куриного яйца, не приводят к увеличению уровня АФК в лимфоцитах (рисунок 1).

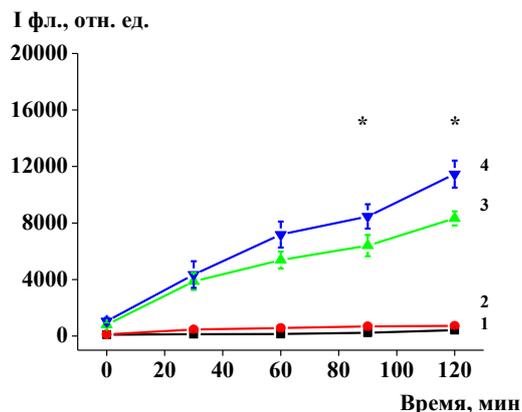


Рис. 1. Кинетика флуоресценции DCF в лимфоцитах, обработанных амилоидными фибриллами, полученными из лизоцима, и t-BHP в течение 120 мин.

1. – лимфоциты в PBS буфере, pH=7,4 (контроль);

2 – лимфоциты в PBS-буфере, pH 7,4, содержащем амилоидные фибриллы из лизоцима в конечной концентрации 20 мкг/мл;

3 – лимфоциты в PBS-буфере, pH 7,4, содержащем 1 мМ t-BHP;

4 – лимфоциты в PBS-буфере, pH 7,4, содержащем амилоидные фибриллы из лизоцима в конечной концентрации 20 мкг/мл и 1 мМ t-BHP

Эти данные подтвердились также и с помощью люминолзависимой хемилюминесценции. Показано, что суммарная интенсивность люминолзависимой хемилюминесценции в клетках, обработанных амилоидными фибриллами, практически не изменяется по сравнению со значениями, полученными в контрольных клетках. Принимая суммарную интенсивность люминолзависимой хемилюминесценции в контрольных клетках за 100%, мы обнаружили, что при воздействии на лимфоциты амилоидных фибрилл из лизоцима данный показатель находится на уровне $90,0 \pm 5,0$ %. Показано, что предварительная обработка лимфоцитов амилоидными фибриллами приводит к снижению содержания ТБК-продуктов в образцах в среднем на 20-25% (данные не приводятся). Полученные результаты указывают на то, что сами амилоидные фибриллы из лизоцима при краткосрочном воздействии на лимфоциты человека *in vitro* не вызывают генерацию АФК в клетках. Основываясь на литературных данных, мы предположили, что окислительный стресс, возникающий в организме по различным естественным причинам (негативное влияние окружающей среды, воспалительные процессы, вирусные инфекции), может являться триггером развития патологического процесса, связанного с отложением амилоидов [12, 17]. Для проверки этой гипотезы мы изучали воздействие амилоидных фибрилл, полученных из лизоцима куриного яйца, на лимфоциты в условиях окислительного стресса. В качестве индуктора окислительного стресса мы использовали t-BHP.

Известно, что зонд 2',7'-дихлордигидрофлуоресциндацетат свободно проникает через клеточные мембраны и гидролизуется в клетке эстеразами до неактивной формы, которая, в свою очередь, окисляется в присутствии внутриклеточных АФК и флуоресцирует. Измеряя кинетику флуоресценции данного зонда, можно судить об окислительном статусе живой клетки [11].

Эксперименты по изучению изменения уровня внутриклеточных АФК в лимфоцитах человека при воздействии на них амилоидных фибрилл и t-BHP проводили флуоресцентным методом с помощью зонда CM-H₂DCFDA (рисунок 1) и с помощью люминолзависимой хемилюминесценции (рисунок 2).

Было показано, что амилоидные фибриллы из лизоцима не приводят к увеличению образования АФК в клетках, но усиливают окислительный стресс клеток в присутствии t-BHP. Мы наблюдали эффект усиления негативного воздействия амилоидов на мембраны лимфоцитов человека. С помощью липофильных флуоресцентных зондов обнаружено, что при сочетанном влиянии амилоидных фибрилл и t-BHP происходит изменение микровязкости липидного бислоя мембран

лимфоцитов по сравнению с контрольными клетками и клетками, подвергшимися влиянию только амилоидных фибрилл или t-ВНР.

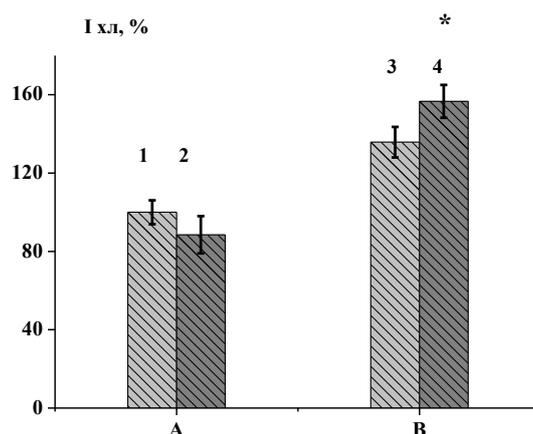


Рис. 2. Изменение люминолзависимой хемилюминесценции в лимфоцитах человека при воздействии на клетки амилоидных структур из лизоцима до (А) и после (В) воздействия 1 мМ t-ВНР. За 100% принято среднее значение соответствующего параметра для контрольного образца.

1.– контрольные лимфоциты;

2 – лимфоциты в PBS-буфере, рН 7,4, содержащем амилоидные фибриллы из лизоцима в конечной концентрации 20 мкг/мл

3 – лимфоциты в PBS-буфере, рН 7,4, содержащем 1 мМ t-ВНР;

4 – лимфоциты в PBS-буфере, рН 7,4, содержащем амилоидные фибриллы из лизоцима в конечной концентрации 20 мкг/мл и 1 мМ t-ВНР

Изменение состояния липидного бислоя на уровне гидрофильно-гидрофобных участков можно изучать с использованием параметра генерализованной поляризации (GP) лаурдана, встроенного в мембрану клеток в области фосфолипидных цепей. Лаурдан является высокочувствительным к наличию и подвижности растворенных диполей, что определяется степенью упорядоченности фосфолипидных цепей [6]. Было обнаружено, что инкубация лимфоцитов в течение 60 мин в среде, содержащей амилоидные фибриллы из лизоцима (концентрация белка 5 мкг/мл), а также t-ВНР (1 мМ) приводит к снижению генерализованной поляризации лаурдана. Наиболее выражено данный эффект наблюдался в клетках, проинкубированных с амилоидными фибриллами совместно с t-ВНР, и достигал в среднем 15-20 % по сравнению с контрольными значениями (рисунок 3, А).

Липофильную часть липидного бислоя мембран лимфоцитов исследовали с помощью неполярного флуоресцентного зонда пирена, который встраивается в мембрану в гидрофобной области и чувствителен к полярности микроокружения [3]. Коэффициент эксимеризации пирена (отношение интенсивности флуоресценции эксимеров пирена к интенсивности флуоресценции мономеров) зависит от микровязкости мембраны, следовательно, по изменению данного параметра можно судить об изменении микровязкости мембран. Наружный (гидрофобный) слой мембран изучали с использованием зонда ТМА-ДФГ, который содержит заряженные группы, благодаря которым может равномерно распределяться в мембране и закориваться на её поверхности [8].

Текучесть мембраны в области расположения молекул зонда отражает такой параметр, как поляризация флуоресценции ТМА-ДФГ. В наших экспериментах коэффициент эксимеризации пирена, встроенного в мембраны лимфоцитов, снижался при воздействии на них амилоидных фибрилл и t-ВНР на 10-13 % (рисунок 3, Б). С помощью флуоресцентного зонда ТМА-ДФГ мы оценивали изменение микровязкости наружной области липидного бислоя мембран лимфоцитов, подвергшихся воздействию амилоидных фибрилл и t-ВНР. Показано, что в присутствии амилоидных фибрилл поляризация флуоресценции ТМА-ДФГ, встроенного в мембраны лимфоцитов, незначительно снижалась, при воздействии t-ВНР – повышалась на 8-10%, а при сочетанном воздействии амилоидных фибрилл и t-ВНР данный показатель повышался в среднем на 20-25% по сравнению с контрольными клетками (рисунок 3, В).

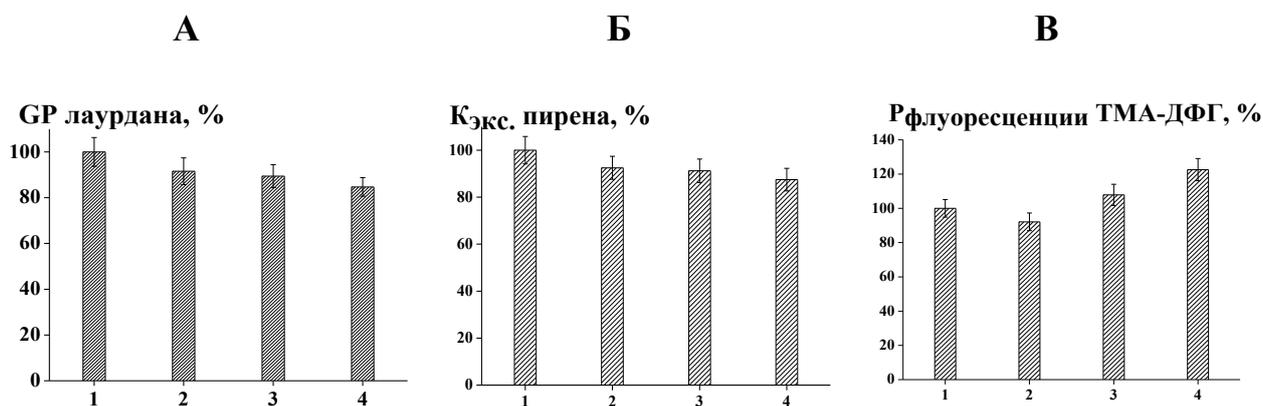


Рис. 3. А - генерализованная поляризация флуоресценции лаурдана; Б – коэффициент эксимеризации пирена; В – поляризация флуоресценции ТМА-ДФГ. За 100% принято среднее значение соответствующего параметра для контрольного образца.

1. – контрольные лимфоциты;
- 2 – суспензия лимфоцитов предварительно выдержаны в PBS-буфере, рН 7,4, содержащем амилоидные фибриллы из лизоцима;
- 3 – суспензия лимфоцитов предварительно выдержана в PBS-буфере, рН 7,4, содержащем 1 мМ t-ВНР;
- 4 –суспензия лимфоцитов предварительно выдержана в PBS-буфере, рН 7,4, содержащем амилоидные фибриллы и 1 мМ t-ВНР

Поскольку при сочетанном воздействии амилоидов и t-ВНР на лимфоциты человека происходит усиление генерации АФК в них и известно, что окислительные процессы оказывают влияние на стабильность ДНК в клетках, нами исследована степень повреждения генетического материала в лимфоцитах методом ДНК-комет.

Метод ДНК-комет основан на проведении гель-электрофореза единичных лизированных клеток, из которых под воздействием электрического поля выходят молекулы ДНК и распределяются в геле. Если произошло повреждение ДНК, то формируются фрагменты, которые также выходят из клеток и вытягиваются по направлению к аноду, что и придает наблюдаемым объектам вид «комет» [9]. При этом, чем больше поврежденных фрагментов, тем больше будет «хвост» кометы. Для характеристики полученных комет и анализа данных используется ряд параметров, которые автоматически рассчитываются программой CASP (версия 1.2.3b.2). Из литературы известно, что при повреждении ДНК происходит уменьшение размера «головы кометы» (LHead) с одновременным увеличением общей длины кометы и длины «хвоста» (Lcomet, LTail). В таблице 2 представлены параметры комет лимфоцитов, предварительно проинкубированных в PBS-буфере, содержащем амилоидные фибриллы из лизоцима и t-ВНР. Данные о жизнеспособности клеток представлены в таблице 1.

Табл. 2. Параметры ДНК-комет лимфоцитов после воздействия на них амилоидных фибрилл, t-ВНР и сочетанном воздействии амилоидов и t-ВНР.

Исследованные параметры	Контроль	Амилоиды	t-ВНР	Амилоиды + t-ВНР
LComet	124,67 ± 20,48	123,13 ± 17,65	134,28 ± 17,81	133,42 ± 21,02
LHead	121,65 ± 18,33	118,23 ± 17,80	118,82 ± 17,56	116,08 ± 20,34
LTail	4,50 ± 1,98	4,99 ± 2,38	15,56 ± 4,18	17,35 ± 6,53
Tail Moment	0,52 ± 0,21	0,47 ± 0,19	1,46 ± 0,83	1,91 ± 1,50
Tail DNA	1.28 ± 0.84	1.30 ± 0.98	2.83 ± 1.59	2.60 ± 1.71

Авторами оценена общая длину кометы (LComet); длина «головы» и хвоста кометы (LHead, LTail), а также степень повреждения ДНК, которую отражает параметр ТМ (Tail Moment) – момент хвоста кометы, или индекс повреждения ДНК, в котором учитывается длина хвоста и содержание ДНК в нем. Так как длина «хвоста» кометы не увеличивается в клетках, проинкубированных с амилоидами, по сравнению с контрольными, можно сделать вывод, что амилоидные фибриллы на основе лизоцима куриного яйца не оказывают влияния на стабильность генетического материала в лимфоцитах. В то время как при воздействии на лимфоциты t-ВНР и сочетанном воздействии

амилоидов и t-ВНР мы наблюдаем увеличение длины «хвоста» кометы по сравнению с контрольными клетками и клетками, подвергшимися воздействию только амилоидов, что указывает на произошедшее повреждение ДНК. При этом при сочетанном воздействии на лимфоциты амилоидов и t-ВНР мы наблюдали тенденцию к увеличению степени повреждения ДНК по сравнению с клетками, подвергшимися воздействию t-ВНР.

Степень повреждения ДНК отражает такая характеристика, как процент ДНК в «хвосте» кометы. Чем больше поврежденных фрагментов ДНК выходит из клетки – тем выше процент ДНК в «хвосте». В наших экспериментах мы наблюдали тенденцию к увеличению содержания ДНК в «хвостах» комет, полученных из лимфоцитов, подвергшихся воздействию t-ВНР, а также амилоидов и t-ВНР, в то время как сами амилоидные фибриллы не оказывали влияния на процент ДНК в «хвосте» кометы. При воздействии на клетки амилоидов в условиях окислительного стресса происходит рост длины хвоста и увеличивается содержание ДНК в нем (рисунок 4), что указывает на повреждение генетического материала в клетках.

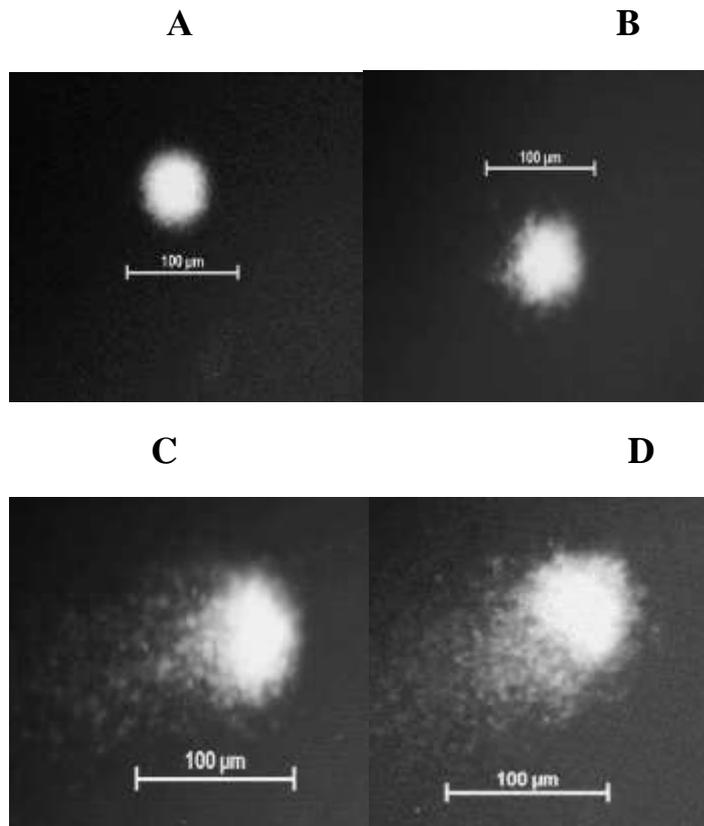


Рис. 4. Изображение ДНК-комет в контрольных лимфоцитах (А); лимфоцитах, подвергшихся воздействию амилоидных фибрилл (В); t-ВНР (С) и сочетанному воздействию амилоидных фибрилл и t-ВНР (D) (после гель-электрофореза и окрашивания этидиумбромидом)

Таким образом, установлено, что сами по себе амилоидные фибриллы из лизоцима, при воздействии на лимфоциты человека *in vitro*, не оказывают влияния на стабильность генетического материала в клетках. Однако, при сочетанном воздействии на лимфоциты человека амилоидных фибрилл и t-ВНР наблюдали тенденцию к увеличению степени повреждения ДНК в клетках при воздействии на них амилоидных фибрилл по сравнению с контрольными клетками и клетками, подвергшимися влиянию только амилоидов или только t-ВНР при тех же условиях.

Заключение. Таким образом, при воздействии амилоидных фибрилл на лимфоциты человека не изменяется уровень АФК. Но в условиях окислительного стресса, вызванного t-ВНР, токсические эффекты амилоидов проявляются: в усилении генерации АФК, изменении микровязкости липидного бислоя и увеличении генотоксического эффекта в лимфоцитах человека.

Литература:

- [1] Chaudhary N., Nagaraj R. Hen lysozyme amyloid fibrils induce aggregation of erythrocytes and lipid vesicles. *Mol Cell Biochem.* 2009. Vol. 328. P. 209-215.
- [2] Chiti F., Dobson C. Protein misfolding, amyloid formation, and human disease: a summary of progress over the last decade // *Annu. Rev. Biochem.* 2017. Vol. 86. P. 27-68.
- [3] Galla H.J., Sackmann E. Lateral diffusion in the hydrophobic region of membranes: use of pyrene excimers as optical probes. *Biochim Biophys Acta.* 1974. Vol. 339. P.103–115.
- [4] Gharibyan A.L., Zamotin V., Yanamandra K. [et al.]. Lysozyme amyloid oligomers and fibrils induce cellular death via different apoptotic/necrotic pathways. *J Mol Biol.* 2007. Vol. 365. P. 1337-1349.
- [5] Han B.H., Zhou M-L., Johnson A.W. [et al.] Contribution of reactive oxygen species to cerebral amyloid angiopathy, vasomotor dysfunction, and microhemorrhage in aged Tg2576 mice // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015. Vol. 112. P. 881-90.
- [6] Harris F.M., Best K.B, Bell J.D. Use of laurdan fluorescence intensity and polarization to distinguish between changes in membrane fluidity and phospholipid order. *Biochim. Biophys. Acta.* 2002. Vol. 1565. P. 123–128.
- [7] Kavalenka A.I., Semenкова G.N., Cherenkevich S.N. Effects of hydrogen peroxide on neutrophil ability to generate reactive oxygen and chlorine species and to secrete myeloperoxidase in vitro. *Cell and Tissue Biology.* 2007. Vol. 1. P. 551-559.
- [8] Kuhry J.G. Plasma membrane fluidity measurements on whole living cells by fluorescence anisotropy of trimethylammoniumdiphenylhexatriene. *Biochim. Biophys. Acta.* 1985. Vol. 845. P. 60–67.
- [9] Kumaravel T.S. Reliable Comet assay measurements for detecting DNA damage induced by ionising radiation and chemicals. *Mutation Research.* 2006. Vol. 605. P. 7–16.
- [10] Lim Y-A., Rhein V., Baysang G. [et al.] Abeta and human amylin share a common toxicity pathway via mitochondrial dysfunction // *Proteomics.* 2010. Vol. 10. P. 1621-33.
- [11] Oparka M., Walczak J., Malinska D. [et al.]. Quantifying ROS levels using CM-H 2 DCFDA and HyPer. *Methods.* 2016. Vol. 109. P. 3-11.
- [12] Perez-Garmendia R., Rodriguez A., Ramos-Martinez I. [et al.] Interplay between Oxidative Stress, Inflammation, and Amyloidosis in the Anterior Segment of the Eye; Its Pathological Implications // *Oxid Med Cell Longev.* 2020. 6286105.
- [13] Remington L.A. Aqueous and vitreous humors // *Clinical Anatomy and Physiology of the Visual System.* Butterworth-Heinemann. 2012. P. 109–122.
- [14] Smith M.A., Casadesus G., Joseph J.A., Perry G. Amyloid-beta and tau serve antioxidant functions in the aging and Alzheimer brain // *Free Radic. Biol Med.* 2002. Vol. 33. P. 1194-1199.
- [15] Smith M.A, Joseph J.A, Perry G. Arson. Tracking the culprit in Alzheimer's disease // *Ann N Y Acad. Sci.* 2000. 924:35-38.
- [16] Xu J., Li D., Zheng T., Lu Y. β -amyloid expression in age-related cataract lens epithelia and the effect of β -amyloid on oxidative damage in human lens epithelial cells // *Molecular vision.* 2017. Vol. 23. P. 1015-1028.
- [17] Zhou X., Li Y., Shi X. An overview on therapeutics attenuating amyloid β level in Alzheimer's disease: targeting neurotransmission, inflammation, oxidative stress and enhanced cholesterol levels // *American Journal of Translational Research.* 2016. Vol. 8. P. 246–269.
- [18] Венская Е.И., Лукьяненко Л.М. Зубрицкая Г.П. и др. // Эффекты сочетанного воздействия ионов свинца и амилоидов на эритроциты человека *in vitro* // сб. материалов Международной научной конференции «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем». Минск. 2020. С. 109.
- [19] Венская Е.И., Скоробогатова А.С., Зубрицкая Г.П. и др. // Изменение структурно-функционального состояния мембран эритроцитов человека при воздействии комплексов амилоидов на основе лизоцима с ионами алюминия *in vitro* // сб. материалов VII Всероссийской конференции с международным участием «Медико-физиологические проблемы экологии человека». Ульяновск. 2018. С. 53-55.
- [20] Дубинина Е.Е., Щедрина Л.В., Незнанов Н.Г., Залуцкая Н.М., Захарченко Д.В. Окислительный стресс и его влияние на функциональную активность клеток при болезни Альцгеймера // *Биомедицинская химия.* 2015. Т. 61. С. 57-69.
- [21] Зубрицкая Г.П., Лукьяненко Л.М., Скоробогатова А.С. и др. // Модификация мембран эритроцитов при воздействии на них ионов алюминия и амилоидных структур // сб. материалов VIII Международной биогеохимической школы «Биогеохимия и биохимия микроэлементов в условиях техногенеза биосферы». Гродно. 2013. С. 199 – 201.
- [22] Лукьяненко Л.М., Зубрицкая Г.П., Венская Е.И. и др. // Эффекты совместного воздействия ионов свинца и амилоидных структур лизоцима на структурно-функциональное состояние мембран эритроцитов человека *in vitro* // сб. материалов Международной научной конференции «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем». Минск. 2014. С. 212 – 214.

E.I. VENSKAYA, L.M. LUKYANENKO, A.S. SKARABAHATAVA, E.I. SLOBOZHANINA

THE COMBINED EFFECT OF AMYLOIDS AND TRET-BUTYL HYDROPEROXIDE ON THE HUMAN LYMPHOCYTES

Institute of Biophysics and Cell Engineering of NAS of Belarus, Minsk, Belarus

Summary

The aim of this work is the investigation of the combined effect of amyloid fibrils and tert-butyl hydroperoxide (t-BHP) on the human lymphocytes. Changes of lipid bilayer were studied using lipophilic fluorescent probes (TMA-DPH, laurdan, pyrene) which incorporated into the membrane lipid bilayer at different depths. ROS generation was measured with the help of the fluorescent probe CM-H2DCFDA. DNA damage was studied by comet-assay. Obtained results indicate that amyloid fibrils do not affect the process of ROS generation and DNA damage in human lymphocytes. However, we observed that combined exposure lymphocytes with amyloid fibrils and t-BHP lead to a more changes in the microviscosity of the lipid bilayer of lymphocyte membranes and an increase in ROS generation in cells compared to control cells and cells exposed to amyloids or t-BHP alone.

Key words: human lymphocytes, lysozyme, amyloids, oxidative stress, ROS, DNA, microviscosity of the lipid bilayer.

УДК 504.3.064-034

Н.Д.ТИТКОВА¹, С.В.ГУБКИН¹, С.А.ЛЫСЕНКО², Э.С.КАШИЦКИЙ¹

ГЕОЭКОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ РЕГИОНАЛЬНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОЗДУШНОГО БАССЕЙНА РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ПЕРСПЕКТИВНЫХ НАПРАВЛЕНИЙ ИНДУСТРИИ ТУРИЗМА

¹*«Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси», Минск, Беларусь;*

²*«Институт природопользования Национальной академии наук Беларуси», Минск, Беларусь»*

Рассмотрена геоэкологическая ситуация загрязнения атмосферного воздуха регионов Республики Беларусь. Проанализированы статистические данные выбросов загрязняющих веществ от стационарных и мобильных источников. Представлен алгоритм формирования показателей выбросов загрязняющих веществ, поступающих в атмосферный воздух от всех организованных и неорганизованных стационарных мобильных источников.

Ключевые слова: атмосферный воздух, выбросы, загрязняющие вещества, стационарные источники, мобильные источники, туризм.

Введение. Туризм является одной из важных сфер современной экономики, направлен на удовлетворение потребностей людей в ознакомлении с историей, культурой, обычаями, духовными и религиозными ценностями различных стран и народов. Развитие туристско-оздоровительных услуг в любой стране, регионе зависит от целого комплекса факторов и условий. Для туристических и рекреационно-оздоровительных целей особенно важное значение приобретает экологическое состояние качества природной среды в результате регионального загрязнения воздуха. В условиях загрязненного атмосферного воздуха (АВ) возможно значительное изменение ряда биохимических параметров, ухудшение радиационных характеристик региона, усиление метеопатических воздействий на организм контрастных смен погоды, прохождения атмосферных фронтов [22]. Экологическое состояние основных компонентов окружающей среды существенно влияет на эффективность отдыха, оздоровления и санаторно-курортного лечения [15,29].

Экологическая безопасность – это основная составляющая социально-экономического развития страны. Не соблюдение экологических мер безопасности приведет к более глобальным проблемам внутри любого государства и затронет все основы социальной, экономической и политической стабильности страны. Уровни техногенного загрязнения окружающей среды рассматриваются в тесной взаимосвязи с природной устойчивостью территории [1,21,27].

Геоэкологическую ситуацию на всей территории страны, а также ее региональную специфику определяют несколько основных факторов. К их числу относятся неоднородность природных условий, а следовательно, и устойчивость природных комплексов к внешним воздействиям; различия в использовании территории и, соответственно, оказываемых на нее нагрузках; особенности внешних поступлений загрязняющих веществ (ЗВ) с воздушными потоками. При региональном загрязнении в сферу негативного воздействия вовлекаются значительные пространства, но не все территории [23,26,28].

Развитие Республики Беларусь характеризуется значительной концентрацией производства, что обусловило значительное ухудшение экологической обстановки из-за огромного количества выбросов вредных веществ в атмосферу промышленными и сельскохозяйственными предприятиями, энергетическими объектами и транспортом [2,13,16,18-20]. В связи с этим стоит обратить особое внимание на состояние и оздоровление воздушной среды нашей страны, но это может быть выполнено после получения и анализа информации об источниках и степени загрязнения (АВ) с последующим обоснованием мер по его снижению.

В природных условиях между разными административными областями Беларуси имеются как сходства, так и различия. В частности, сходными они являются у Брестской и Гомельской областей в рельефе местности, в основном расположены в пределах Полесской низменности. Витебская область размещается главным образом в Поозерской провинции с ее повышенной эрозионной опасностью. Гродненская и часть Минской области находятся в границах Белорусской возвышенной провинции,

подверженной водной плоскостной эрозии. Остальная часть Минской области располагается на равнинах Предполесья, имеющих низкую устойчивость к загрязнению грунтовых вод. Отличительной особенностью размещения Минской области является ее межбассейновое водораздельное положение. Территория Могилевской области приурочена к Восточно-Белорусской платообразной равнине с лессовыми отложениями линейной эрозии [11].

Генеральной схемой размещения зон и объектов оздоровления и туризма и отдыха Республики Беларусь на 2016-2020 годы на период до 2030 года, утвержденной Постановлением Совета Министра Республики Беларусь № 1031 от 1.12.2016г предусмотрено развитие 11 курортов и 149 зон отдыха, на территории которых должны создаваться преимущественно комплексы санаторно-курортных и реабилитационно-оздоровительных организаций на основе централизации медицинского курортно-бытового и хозяйственного обслуживания и единого архитектурно-пространственного решения. В этой связи комплексная оценка геоэкологического потенциала среды жизнедеятельности человека на урбанизированных территориях является весьма актуальной.

Целью работы является оценка состояния воздушной среды Республики Беларуси для научного обоснования перспективных направлений туристической индустрии.

Материалы и методы исследования. Для проведения исследования использованы архивы Белгидромета, материалы Института природопользования НАН Беларуси. Нагрузки на природную среду распределяются в соответствии с размещением населения и производства. Для их оценки по административным областям целесообразно использовать не абсолютные значения показателей тех или иных воздействий, а их удельные величины. В сравнительной оценке характера загрязнений существенным является учет индекса загрязнений атмосферы (ИЗА) [3,4-8,16,17].

Алгоритм формирования показателей осуществляется на основе выбросов загрязняющих веществ, поступающих в атмосферный воздух от всех организованных и неорганизованных стационарных источников, от мобильных источников.

Динамика загрязнения воздушного бассейна республики от стационарных и мобильных источников во временном промежутке с 2005г. по 2020г. представлена на рисунке 1.

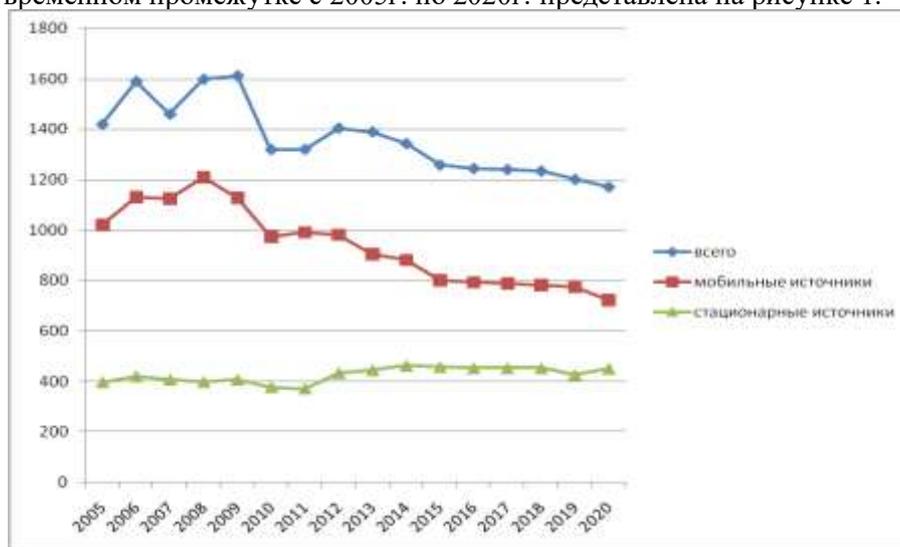


Рис. 1. Динамика выбросов ЗВ в атмосферу Республики Беларусь от стационарных и мобильных источников, тыс.тонн. На рисунке здесь и далее ЗВ -загрязняющие вещества

Проблема загрязнения атмосферного воздуха актуальна для всех регионов Беларуси. Динамика выбросов ЗВ от стационарных источников по регионам представлена на рисунке 2. Эти данные свидетельствуют о незначительном варьировании показателей и следует отметить тенденцию снижения выбросов по всем административным территориям за временной промежуток с 2014 г. по 2020 г.

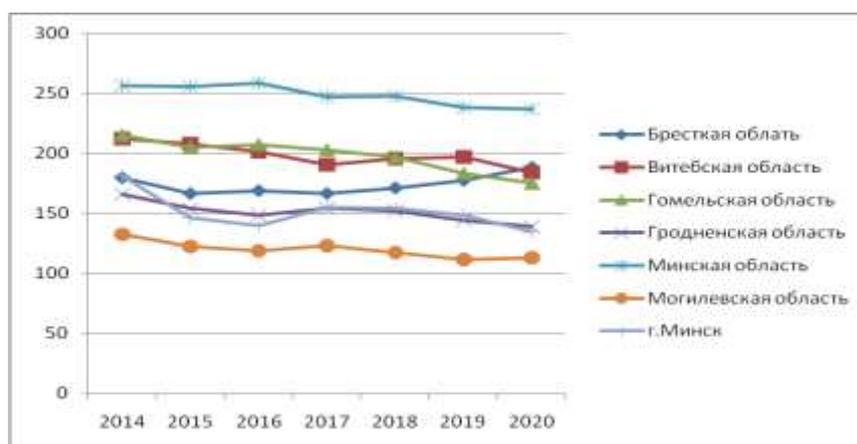


Рис. 2. Динамика выбросов ЗВ в АВ от стационарных источников по регионам Республики Беларусь, тыс.тонн. На рисунке здесь и далее АВ – атмосферный воздух

В современных условиях роста числа крупных городов, а следовательно, и все более растущей необходимости в перевозках грузов и людей автомобильным транспортом, нарастания темпов промышленного производства возникает проблема загрязнения АВ от мобильных источников. Статистические данные этих ЗВ от транспорта представлены в таблице 1.

Табл. 1. Выбросы загрязняющих веществ в атмосферный воздух от мобильных источников по областям и г.Минск с 2014 по 2020 гг, тыс.тонн

Область	Годы						
	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Брестская	127,8	116,3	117,5	116,1	118,2	122,8	111,8
Витебская	110,0	96,4	93,5	88,3	88,2	88,0	79,8
Гомельская	113,7	106,0	103,1	97,8	96,6	96,5	90,3
Гродненская	107,4	97,8	95,1	94,2	93,8	94,1	86,3
г.Минск	157,7	126,1	121,9	136,8	135,6	130,1	113,8
Минская	181,8	179,7	183,9	178,6	177,0	174,4	169,9
Могилевская	82,4	78,3	76,7	75,4	72,6	69,9	69,4

Как видно из таблицы 1, с 2014 по 2020 гг. на территории регионов Республики наблюдается снижение объемов выбросов от мобильных источников. За исследуемый период в целом по Республике он снизился на 159,8 тыс.тонн. Минимальное количество выбросов ЗВ приходится на Могилевскую область -69,4 тыс.тонн, а максимальное на Минскую область -169,9 тыс.тонн и г.Минск -113,8 тыс.тонн [16].

Результаты и обсуждение. При анализе данных по суммарным выбросам от стационарных и мобильных источников по республике были проведены градация выбросов при построении карт по административным единицам соответственно следующим уровням: до 1 тыс. тонн; от 1 до 5 тыс.тонн; от 5,1 до 20,0 тыс.тонн; более 20,1 тыс. тонн.

Приводим характерные особенности регионального загрязнения воздушного бассейна по регионам Республики Беларусь.

Брестская область расположена на юго-западе республики между 27°12' и 27°36' с.ш. и 51°34' и 53°23' в.д. в бассейнах рек Буг и Муховец. Мониторинг загрязнения АВ в области осуществляется 7 станциями (Брест-4, Пинск-3). Основными источниками загрязнения воздушного бассейна области являются автотранспорт, предприятия теплоэнергетики, сельскохозяйственного машиностроения, лесной промышленности и др. В 2020 г. стационарными источниками и мобильными выброшено ЗВ в воздушный бассейн области 18,3 тыс. тонн загрязняющих веществ. Количество стационарных источников выбросов ЗВ в АВ с 2016 г. имеет тенденцию к снижению и на 2020 г. их количество составило 19418 единиц. В Брестской области только в четырех административных районах (Ганцевичский, Жабинский, Малоритский, Брестский) выбросы составляют до 1 тыс.тонн, во всех остальных районах выбросы колеблются от 1,0 до 5,0 тыс. тонн (рисунок 3).

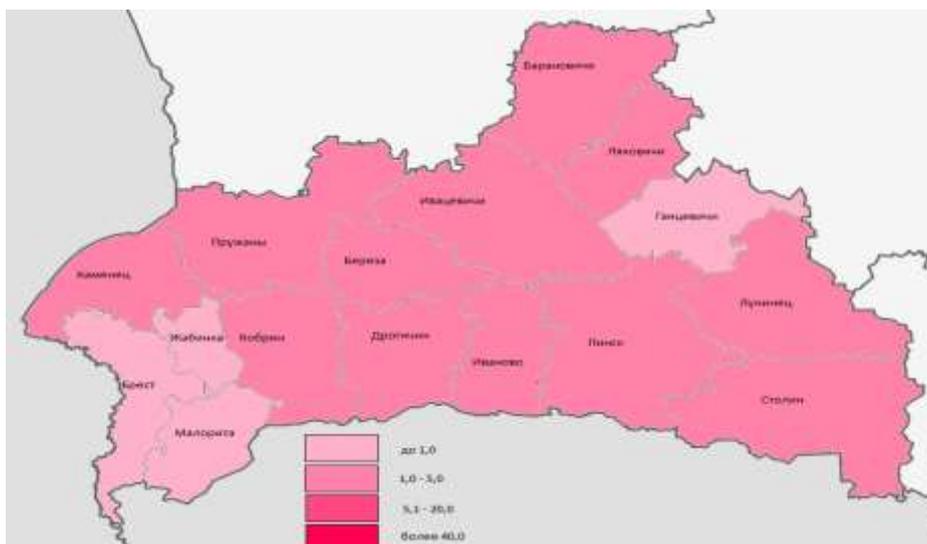


Рис. 3. Выбросы ЗВ в АВ от стационарных и мобильных источников по районам Брестской области, тыс. тонн

Средние за год концентрации оксида углерода и диоксида азота находились в пределах 0,2 – 0,3 ПДК, диоксида серы были существенно ниже гигиенического норматива. Содержание взвешенных веществ в воздушном бассейне г. Бреста в течение года сохранялось низким (от 0,1 до 0,3 ПДК). В г. Пинске запыленность воздуха несколько выше (0,5 ПДК). Средние за месяц концентрации взвешенных веществ в теплое полугодие были в 1,5 – 2 раза выше, чем в холодный период года.

В суммарных объемах выбросов ЗВ основная доля приходится на оксид углерода и углеводороды (с ЛОС), которые поступают в воздушный бассейн области благодаря передвижным источникам, соответственно 63 % - оксид углерода и 17 % углеводороды (с ЛОС).

Средняя концентрация формальдегида в воздушном бассейне г. Бреста составляла 9,3 мкг/м³ и была выше, чем в большинстве областных центров республики. В то же время вклад формальдегида в суммарный индекс загрязнения сохранялся высоким: от 80 до 83 %.

Среднегодовые концентрации свинца в воздухе городов составляли 0,3 ПДК, максимальные – от 0,5 ПДК (г. Пинск) до 0,7 ПДК (г. Брест).

За последние пять лет уровень загрязнения воздушного бассейна городов диоксидом серы существенно уменьшился. В 1,5 – 2 раза снизилось содержание оксида углерода в г. Бресте, диоксида азота, оксида углерода и взвешенных веществ – в г. Пинске [16].

Во многом рассеивание ЗВ зависит от метеорологических условий. На территории области они способствовали рассеиванию веществ в приземном слое воздуха, что наблюдалось в основном в апреле и сентябре. Пик концентраций токсичных веществ приходился на июль месяц.

Витебская область располагается на севере Беларуси между 54°4 ' и 56°2 ' с.ш. и 26°2 ' и 31°1 ' в.д. в бассейнах рек Западная Двина и Днепр. На территории области сеть мониторинга загрязнения АВ состоит из 11 станций (г. Витебск – 4, г. Орша – 3, г. Полоцк – 2, г. Новополоцк – 2). Основными источниками загрязнения АВ Витебской области являются автотранспорт, предприятия нефтехимии, теплоэнергетики, стройматериалов, станкостроения, легкой промышленности и др. Выбросы ЗВ по районам Витебской области представлены на рисунке 4. Данные свидетельствуют о том, что максимальное количество выбросов в области приходится на Чашникский район (основной вклад вносят Лукомльская ГРЭС, Бумажная фабрика "Красная звезда", Завод "Этон", ОАО «Завод керамзитового гравия» и др.), по всем остальным районам наблюдается незначительное распределение выбросов в АВ.

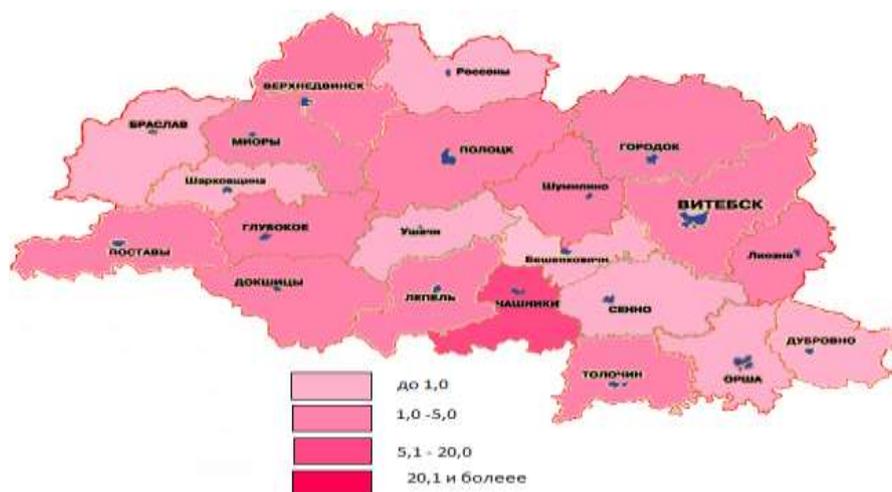


Рис. 4. Выбросы ЗВ в АВ от стационарных и мобильных источников по районам Витебской области, тыс.тонн

Большая часть территории Витебской области расположена в зоне низкого потенциала загрязнения атмосферы. Здесь в среднем за год наблюдаются благоприятные условия для рассеивания токсичных выбросов от низких источников.

В 2020 г. стационарными мобильными источниками выброшено ЗВ в воздушный бассейн области 184,0 тыс. тонн. Количество стационарных источников выбросов ЗВ в АВ с 2016 г. имеет тенденцию к снижению и на 2020 г. их количество составило 14433 единицы.

На эмиссию выбросов влияют неблагоприятные метеорологические условия. В 2020 г. эти условия, способствующие увеличению среднего уровня загрязнения атмосферного воздуха, наблюдались в основном летом.

Основные ЗВ на территории Витебской области: диоксид серы, оксид углерода, диоксид азота, взвешенные вещества, формальдегид, свинец, кадмий. Существуют также и специфические вещества, которые представлены в городах Витебске, Новополоцке, Полоцке – это ° и фенол.

Средние за год концентрации взвешенных веществ в гг. Орше, Витебске и Новополоцке находились в пределах 0,1 – 0,2 ПДК. Среднегодовые концентрации диоксида азота во всех контролируемых городах области находились в пределах 0,3 – 0,4 ПДК., а оксида углерода заметно выше (0,6 ПДК). Во всех городах зафиксированы концентрации в 1,1 – 1,5 раза выше гигиенического норматива [16].

Гомельская область располагается в юго-восточной части Беларуси между 51°4 ' и 53°4 ' с.ш. и 27°2 ' и 31°8 ' в.д. в бассейне рек Припять, Сож и Днепр. Мониторинговые наблюдения за воздушным бассейном территории области осуществляются на 11 станциях (в г. Гомеле – 4, г. Мозыре – 3, г. Светлогорске – 2, г. Речице -2).

Основными источниками загрязнения АВ Гомельской области являются автотранспорт, предприятия нефтехимии, лесной промышленности, теплоэнергетики и др.

ЗВ, поступающие в АВ Гомельской области от стационарных и мобильных источников составили в 2020 году 85,1 и 90,3 тыс. тонн соответственно. На рисунке 5 представлена градация по суммарным выбросам от этих источников по Гомельской области.

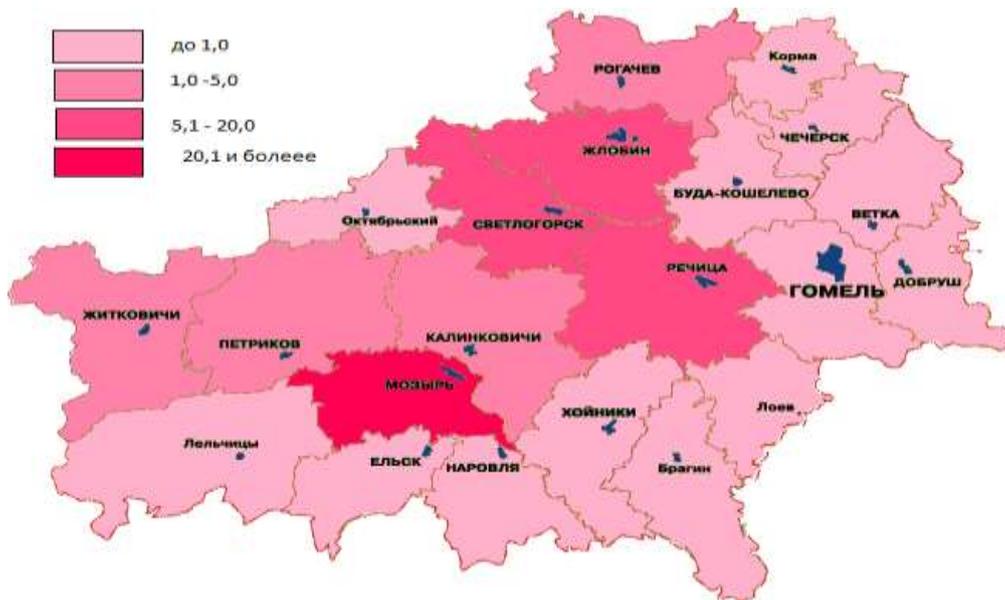


Рис. 5. Выбросы ЗВ в АВ от стационарных и мобильных источников по районам Гомельской области, тыс.тонн

Характеристика ЗВ в атмосферный воздух Гомельской области представлена на рисунке 6. В составе валовых выбросов ЗВ преобладает оксид углерода (47,8%). На долю углеводородов и НМЛОС пришлось 21,2%, диоксида серы – 13%, оксидов азота – 11%. Большая часть выброшенных в атмосферу оксида углерода (67,6%), углеводородов и НМЛОС (19,2%), а также оксидов азота (10%) обусловлена работой мобильных источников. От стационарных источников эмиссии в атмосферу поступило 35,2% диоксида серы и 18,8% твердых веществ [16].

УДК 504.3.064-034

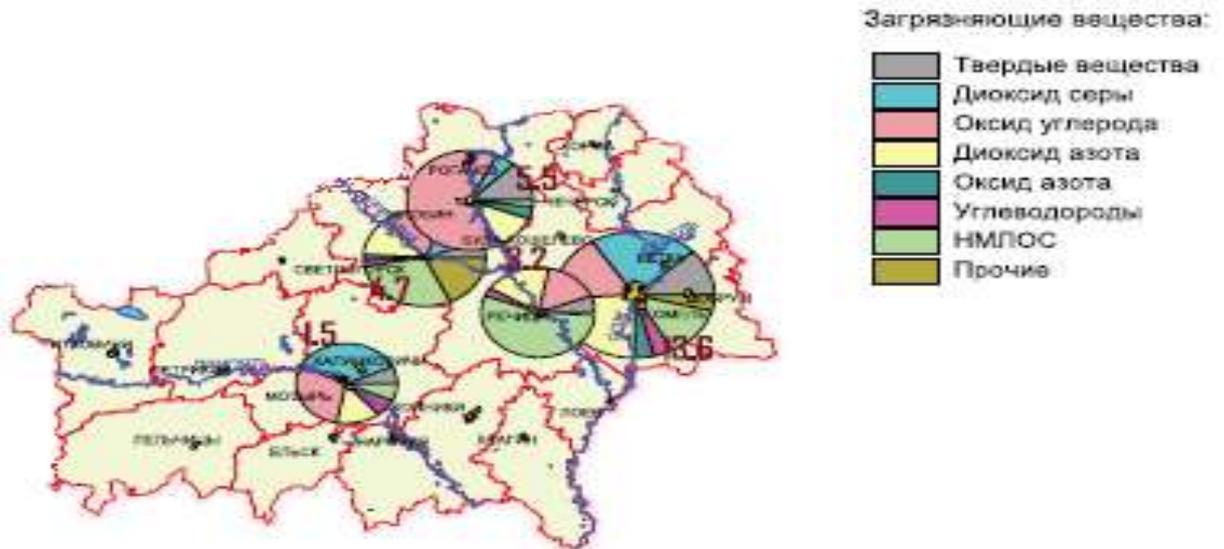


Рис. 6. Характеристика ЗВ в АВ Гомельской области

На основе статистической данных по выбросам от стационарных и мобильных источников рассчитали величину удельного валового выброса, что составил на единицу площади по области 6,15 т/км², а на душу на населения – 0,17 т/чел соответственно.

При расчете удельного выброса по отдельным ингредиентам в АВ, максимальное значение приходится на диоксид серы (0,02 т/чел.) и оксид азота (0,02 т/чел.). На рисунке 7 представлено соотношение выбросов в ЗВ по ингредиентам от стационарных и мобильных источников.

Наибольшая доля выбросов приходится на оксид углерода, диоксид серы, неметановые ЛОС и др. [14,25]

Проблему загрязнения АВ городов Гомельской области определяют высокие концентрации формальдегида, вклад которого в суммарный индекс загрязнения составлял от 79 % (г. Гомель и г. Речица) до 86 % (г. Мозырь).

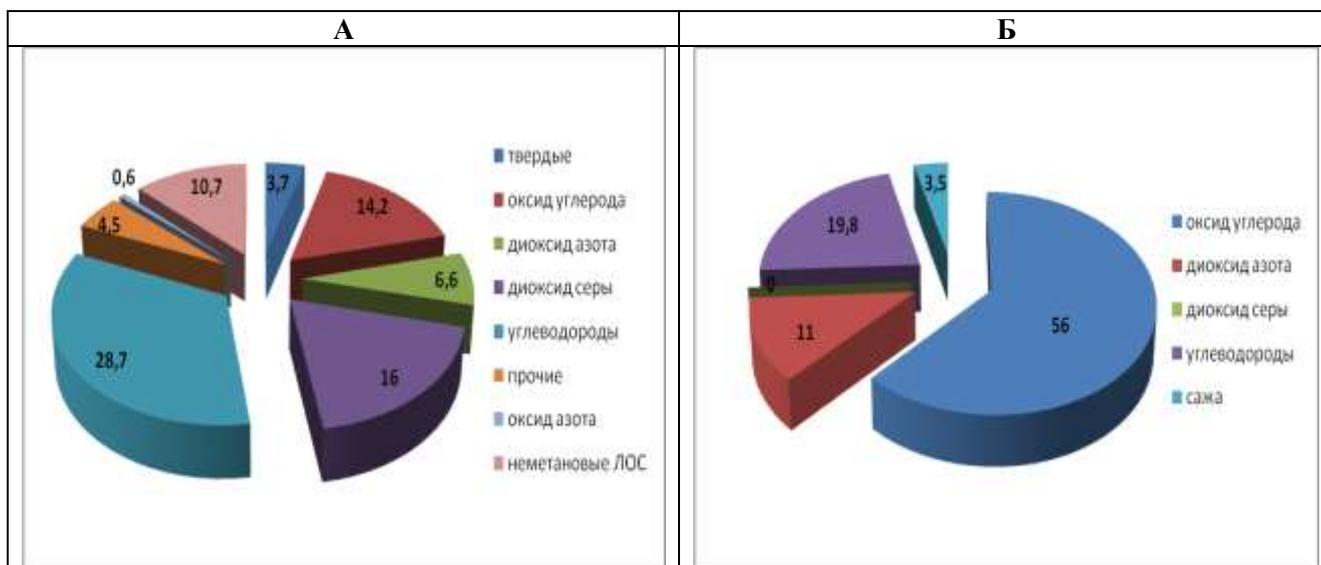


Рис. 7. Выбросы ЗВ в атмосферу на территории Гомельской области по ингредиентам от стационарных (А) и мобильных (Б) источников, тыс. тонн

В годовом ходе увеличение уровня загрязнения специфическими веществами (аммиаком и формальдегидом) наблюдалось в теплые периоды, фенолом – в январе – феврале и июле-сентябре. «Пик» загрязнения воздуха отмечается в июле. Средние за год концентрации сероводорода и сероуглерода в воздушном бассейне г. Светлогорск в течение года были ниже гигиенических нормативов. Средние за год концентрации оксида углерода и взвешенных веществ в воздушном бассейне контролируемых городов находились в пределах 0,1 -0,3 ПДК; 0,4 – 0,6 ПДК – г. Речица [12].

Города Гомельской области с повышенной загазованностью и запыленностью воздуха характеризуются выпадением осадков с повышенной минерализацией. одержание сульфатов и гидрокарбонатов в них составляет 50 – 60 %, а доля азота в этих осадках – 9 – 12 %.

Гродненская область расположена в западной и северо-западной части Беларуси между 54°59 ' и 52° 44 ' с.ш. и 23°27 ' 26°41 ' в.д. в бассейне реки Неман. На территории области функционирует сеть мониторинга загрязнения АВ, состоящая из 5 станций (Гродно – 4, Новогрудке – 1). На долю Гродненской области приходится 11 % загрязнения в целом по Республике Беларусь. Основными источниками загрязнения воздушного бассейна области являются автотранспорт, предприятия теплоэнергетики, производства минеральных удобрений, стройматериалов и др. Суммарные выбросы в АВ в 2020 г. составили 139,3 тыс. тонн.

В воздушном бассейне городов измерили концентрации взвешенных веществ- оксида углерода, диоксида азота, формальдегида, свинца и кадмия, а также специфических веществ – диоксида серы и аммиака [3,9,10,12,16,24].

При анализе данных нами были выделены два района (Гродненский и Волковысский) по значительному распределению выбросов (рисунок 8). В данных районах расположены крупные предприятия: Скидельский сахарный завод, ОАО «Красносельск-стройматериалы», ОАО «Волковысский машиностроительный завод» и др.

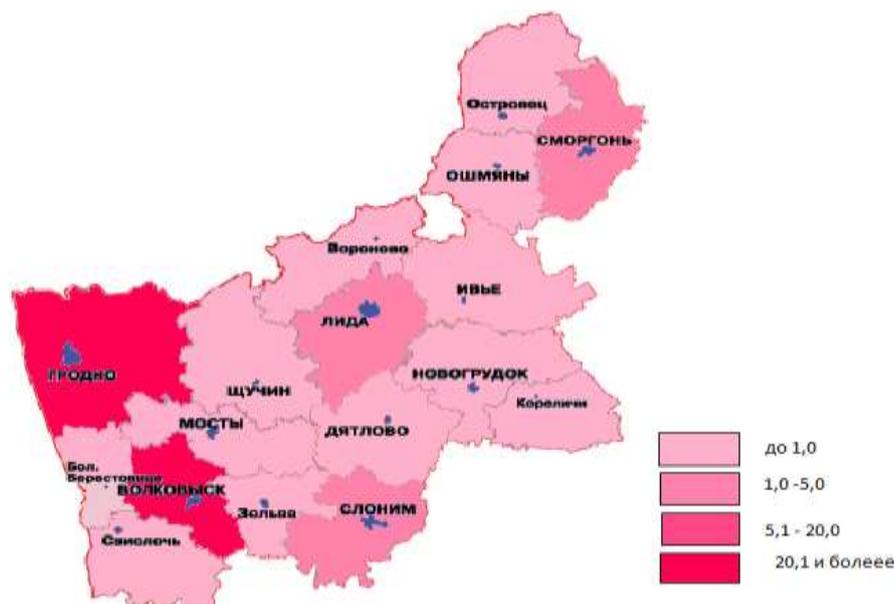


Рис. 8. Выбросы ЗВ в АВ от стационарных и мобильных источников по районам Гродненской области, тыс.тонн

Средние за год концентрации диоксида азота в воздухе контролируемых городов находилась в пределах 0,3 – 0,4 ПДК, взвешенных веществ и оксида углерода – 0,5 – 0,7 ПДК. В отдельные месяцы теплого полугодия уровень запыленности воздуха в г. Новогрудке превышал гигиенический норматив в 1,2 – 1,4 раза. В г. Гродно зафиксированы концентрации оксида углерода в 2 – 3 раза выше гигиенического норматива. Содержание в воздухе диоксида серы было очень низким.

Концентрации формальдегида составили за год 6,9 мкг/³. Средние за год концентрации аммиака находились в пределах нормы и составили 0,3 – 0,4 ПДК.

В последние годы в контролируемых городах области наблюдается устойчивая тенденция увеличения загрязненности воздуха оксидом углерода и диоксидом азота. В то же время средние за год концентрации диоксида серы и взвешенных веществ в воздушном бассейне г. Гродно уменьшились почти в 2 раза, на 25 % понизилось содержание в воздухе аммиака [9].

Минская область занимает центральную часть Беларуси между 55°00' и 52°23' с.ш. и 29°29' и 26°16' в.д. На долю Минской области и г. Минска приходится 31 % выбросов в атмосферу ЗВ всей республики.

Основными источниками загрязнения воздушного бассейна Минской области являются автотранспорт, предприятия теплоэнергетики, машиностроения, производства калийных удобрений, стройиндустрии, легкой промышленности и др. [16].

В общей структуре выбросов Минской области преобладают: оксид углерода – 67 %, углеводороды и ЛОС – 18 %, оксиды азота и твердые вещества. При этом мобильные источники обеспечивают более 80 % выбросов углеводородов и 67 % выбросов оксидов азота. Эмиссия диоксида серы на 70% обусловлена стационарными источниками [12].

С 2014 по 2020 гг. в общей эмиссии ЗВ в атмосфере Минской области наблюдалась тенденция к медленному снижению, он уменьшился на 19,2 тыс.тонн.

На рисунке 9 представлена градация по суммарным выбросам от стационарных и мобильных источников по Минской области.

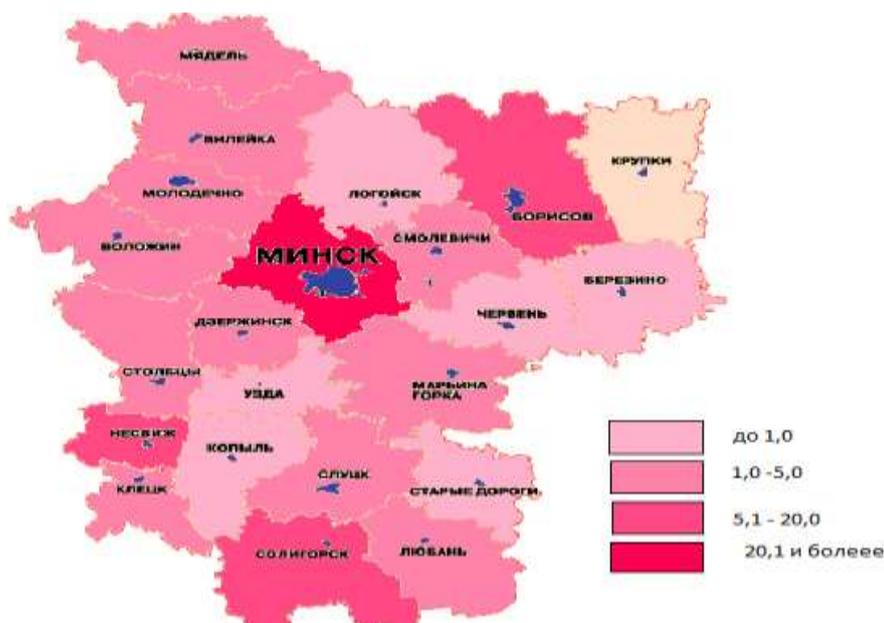


Рис. 9. Выбросы ЗВ в АВ от стационарных и мобильных источников по районам Минской области, тыс. тонн

Минская область является лидером по выбросам ЗВ в АВ от мобильных источников в расчете на один квадратный километр и составляет 4265 кг. Кроме того в 2020 г. количество исследованных проб воздуха увеличилось до 27,1 тыс. проб, что на 18,9 тыс. проб больше, чем в 2014 г., что свидетельствует о улучшении санитарного надзора за атмосферным воздухом Минской области.

Город Минск располагается между 53°58' и 53°48' с.ш. и 27°24' и 27°4' в.д. Поступление ЗВ в атмосферу г. Минска осуществляется в результате деятельности стационарных и мобильных источников эмиссии. С 1995 г. по 2020 г. для общей эмиссии ЗВ г. Минска была характерна тенденция к медленному увеличению за счет мобильных источников, но с 2014 г. наблюдается тенденция к незначительному снижению выбросов (рисунок 10). В Минске находится более 1300 предприятий, выбросы которых поступают в воздушный бассейн города. За 2020 год предприятиями г. Минска в атмосферу был выброшен 39,5% ЗВ, которые образовались в результате сжигания топлива и 60,5% – в результате технологических и других процессов [16,24].

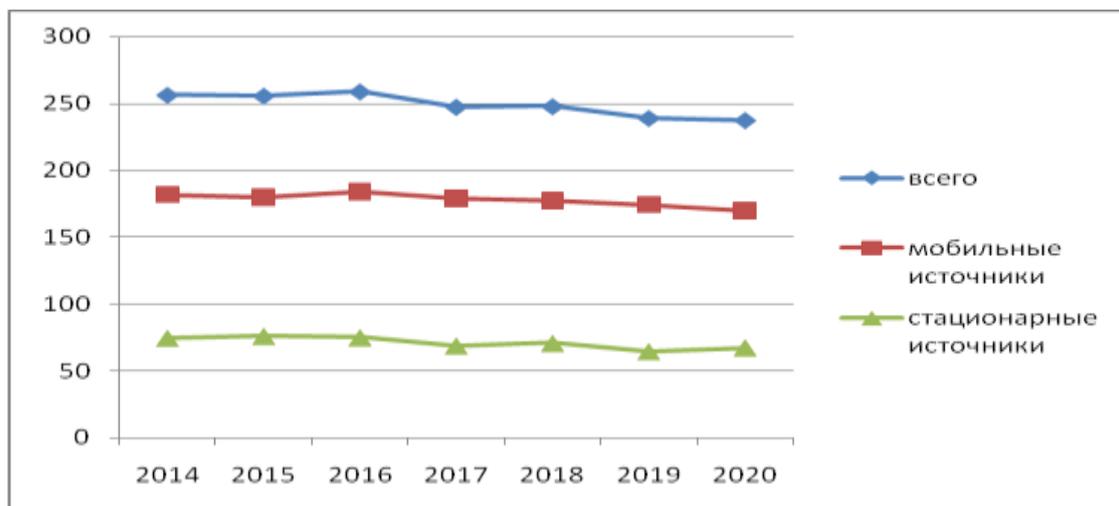


Рис. 10. Динамика выбросов ЗВ в АВ от стационарных и мобильных источников по г. Минск, тыс. тонн

Распределение выбросов ЗВ по административным районам города Минска неравномерно (рисунок 11). Наибольшая эмиссия характерна для Партизанского, Заводского и Фрунзенского районов, их доля в общем объеме выбросов составляет 80 %.

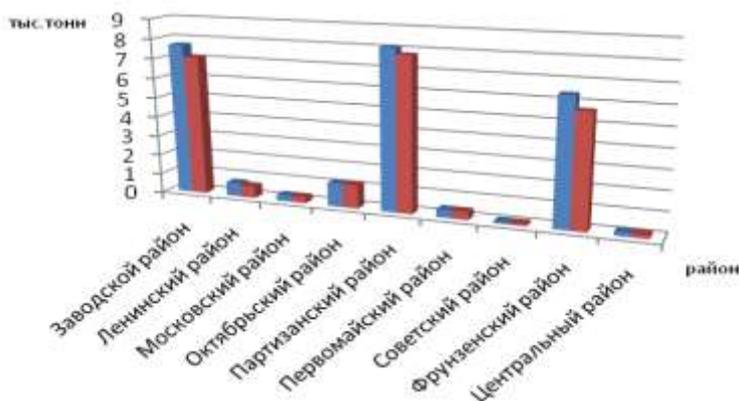


Рис. 11. Выбросы ЗВ в АВ по административным районам г. Минска, тыс. тонн

Для Фрунзенского района характерна максимальная эмиссия оксидов азота и диоксида серы - 44 и 58 % от суммарного выброса данных веществ в городе. Партизанский район выделяется по эмиссии оксида углерода, углеводородов, включая летучие органические соединения, и твердых веществ – соответственно 39, 33 и 42 %. Для Заводского района также характерны относительно высокие значения эмиссии основных веществ.

Выбросы ЗВ в атмосферу крупнейшими предприятиями г. Минска представлены на рисунке 12.

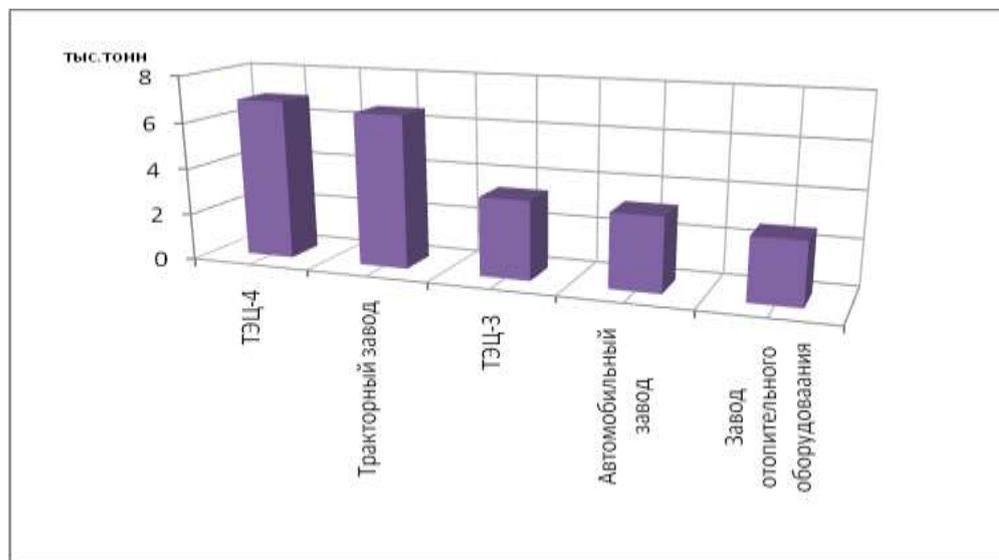


Рис. 12. Выбросы ЗВ в АВ крупнейшими предприятиями г. Минска, тыс. тонн

В г. Минске выброшено в АВ 82,8 % от мобильных источников, в основном обусловленных работой автотранспорта, как и во всех областных и районных городах Республики Беларусь [16].

Объем выбросов от мобильных источников зависит от их количества, расхода топлива (пробега), качества и характера топлива, технического совершенства и состояния транспортных средств, характера дорожной сети и других факторов.

Автомобильный парк города увеличивается каждый год, количество автомобилей предприятий и организаций увеличивается в среднем на 1 % в год, а ежегодный прирост числа индивидуальных автомобилей составляет 6 – 7 %.

Важным фактором, определяющим выбросы от автотранспорта, является характер и качество потребляемого топлива. Автотранспорт столицы, как и республики в целом, в качестве топлива использует бензин и дизельное топливо; в меньшей степени используются автомобили, работающие на сжиженном нефтяном газе и сжатом природном газе.

В г. Минске суммарный объем выбросов от стационарных и мобильных источников в 2020 г. составил 134,6 тыс.тонн, что на 14,1 тыс.тонн меньше чем в предыдущем году, и на 46,6 тыс.тонн в сравнении с 2014г. Максимальный вклад вносит работа автотранспорта.

Город Минск относится к городам с высокой плотностью эмиссий вредных веществ на единицу площади, однако, благодаря хорошим условиям рассеивания ИЗА, являющийся

комплексным показателем состояния, – один из самых низких среди крупных промышленных центров республики.

Средние за год концентрации взвешенных веществ составляли 0,1 – 0,2 ПДК, оксида углерода – 0,3 ПДК, диоксида азота – 0,4 – 0,5 ПДК. Превышения гигиенических нормативов зафиксированы только на стационарных станциях в г. Минске. Концентрации специфических веществ, например формальдегида находились в диапазоне 6,9 – 7,7 мкг/м³. Особенно повышение концентраций формальдегида наблюдалось в весенне–летний период и превышало гигиенические нормативы в 3 – 4 раза. Это было вызвано неблагоприятными метеорологическими условиями, способствующими накоплению ЗВ в приземном слое воздуха. Особенно это наблюдалось в феврале, марте и октябре – характеризовались теплой погодой с повышенным температурным режимом и частными туманами; ветры преобладали слабые и умеренные [24].

Анализ уровня ИЗА по данным стационарных наблюдений составил в г. Минске = 4,7, в г. Солигорске ИЗА = 5,0.

Могилевская область располагается в восточной половине Беларуси между 52°41' и 54°28' с.ш. и 28°04' и 32°47' в.д. По сравнению с другими областями вклад Могилевской области в загрязнение АВ составляет 10 % от общей суммы выбросов загрязняющих веществ. На территории области сеть мониторинга загрязнения АВ состоит из 8 станций (Могилев – 6, Бобруйск – 2 станции) [16].

Основными источниками загрязнения воздушного бассейна области являются автотранспорт, предприятия нефтехимии, теплоэнергетики, машиностроения, пищевой промышленности и др.

В 2020 г. стационарными и мобильными источниками выброшено ЗВ в воздушный бассейн области 113,0 тыс. тон (43,6 тыс. тонн и 69,4 тыс. тонн соответственно).

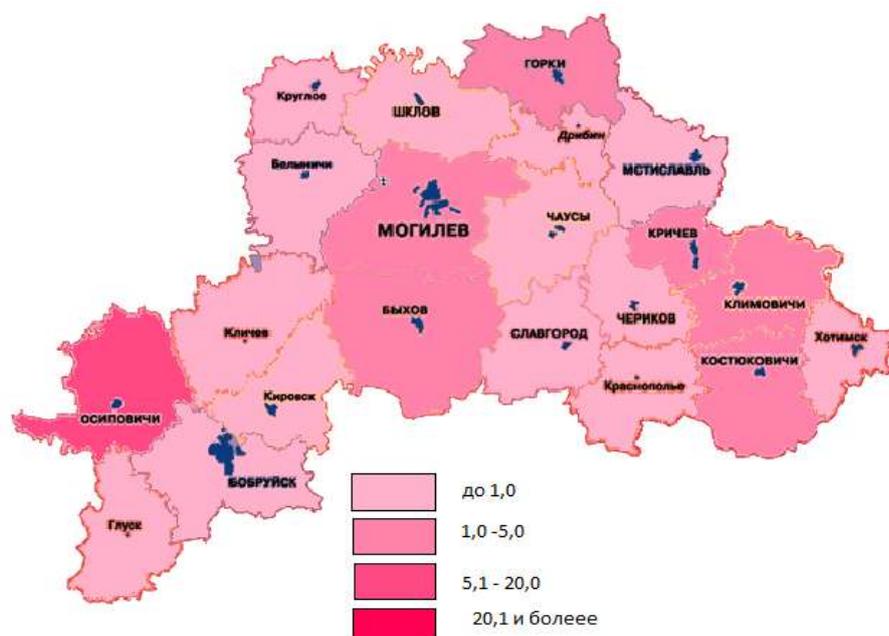


Рис. 13. Выбросы ЗВ в АВ от стационарных и мобильных источников по районам Могилевской области, тыс.тонн

На территории области по максимальной эмиссии выделяется Осиповичский район. Основными предприятиями, которые вносят вклад в загрязнение атмосферного воздуха являются: ОАО «Осиповичский завод автомобильных агрегатов», ИООО «Кровельный завод ТехноНИКОЛЬ», СЗАО «Стеклозавод Елизово», «Осиповичский завод железобетонных конструкций и др.

В пределах нормы находились концентрации оксида углерода и взвешенных веществ и составляли 0,2 – 0,3 ПДК. Но при разовых концентрациях наблюдались превышения гигиенических нормативов в 2 раза – диоксида азота. Это связано с неблагоприятными метеоусловиями, при которых происходило накопление примесей, как от низких, так и от высоких источников выбросов.

Концентрации формальдегида ниже, чем в других областях республики, но по сравнению с 2019 годом увеличилась в 1,3 раза.

Наблюдалось повышенное содержание фенола в феврале – обусловлено повышенным температурным режимом, слабым ветром, частыми туманами. В связи с этим загрязнение воздуха фенолом увеличилось в 2 раза. Уровень загрязнения считается невысоким.

В последние годы по Могилевской области существенно уменьшается количество выбросов как основных, так и специфических ЗВ. Особую роль играют в загрязнении атмосферного воздуха выбросы формальдегида, вклад которого в суммарный индекс загрязнения составляет 81 % [12,16].

Заключение. Анализ экологической обстановки урбанизированных территорий Республики Беларусь свидетельствует о том, что самыми заслуживающими особого внимания субъектами республики, где загрязнение воздушного бассейна масштабно – крупные областные центры и столица г.Минск. Кроме всего ИЗА велик в городах районного подчинения (например, Новополоцк, Солигорск, Мозырь, Речица и др.) в связи с работой крупных промышленных объектов. Это дает основание характеризовать интенсивность проявления в них этих проблем как высокую, а в областях территориях – как умеренную

Воздействие на загрязнение воздушного бассейна оказывают в значительной степени, мобильные источники (передвижной транспорт) – особенно загрязнение происходит в результате использования экологически опасных технологии производства, способа сжигания в двигателе транспорта и его технического состояния.

Полнота учета выбросов на территории республики для разных групп веществ различна: наибольшая для оксидов серы и азота, оксида углерода и твердых веществ, существенно более низкая – для тяжелых металлов, аммиака и стойких органических загрязнителей (СОЗ).

В 2020 г. общие валовые выбросы от загрязняющих веществ по сравнению с предыдущим годом имеют тенденцию к снижению по всем областям страны. Доля технологических процессов снизилась, а доля процессов, связанных со сжиганием топлива, увеличилась. Причиной послужил экономический кризис, охвативший не только нашу республику, но и весь мир в целом.

По городам Беларуси наблюдается незначительное варьирование показателей выбросов загрязняющих веществ (кроме Новополоцка, Гомеля, Минска), стоит отметить тенденцию снижения выбросов по всем городам.

Кроме того, выбросы сероуглерода в воздушный бассейн г. Могилева существенно ниже, чем в г. Светлогорске Гомельской области. Вместе с тем средние за год концентрации сероуглерода в Могилеве более, чем в 1,5 раза. Это связано с тем, что основной источник загрязнения воздуха сероуглеродом в г. Могилев расположен без достаточного учета розы ветров.

Расчет выбросов загрязняющих веществ в атмосферный воздух на одного жителя выделил города – лидеры (г. Новополоцк, г. Гомель). Но повышенный ИЗА имеют только 4 города из трех административных областей, что дает основание характеризовать интенсивность проявления в них данной проблемы как высокую, а в остальных областях - как умеренную.

Республика Беларусь располагает богатыми природными и курортными ресурсами для развития туризма и санаторного лечения. Наиболее благоприятным, большим туристско-рекреационным потенциалом обладают северо-восточные и юго-западные регионы республики. Необходимо учитывать экологические особенности страны и сложившуюся ситуацию регионального загрязнения воздушного бассейна при формировании курортного районирования и определения благоприятных туристско-оздоровительных зон на территории Беларуси. Оправдано их выделение в зависимости от геоклиматических характеристик регионов республики, что является предметом последующих исследований.

Литература:

- [1]. Безуглая Э.Ю., Смирнова Н.В. Воздух городов и его изменения. – СПб.: Астерион. 2008. –254 с.
- [2]. Бурак В.М., Глазычева Г.И., Курлович Т.И. Состояние природной среды Беларуси. Минск: РУП «Бел НИЦ «Экология»; 2019.
- [3]. Глазычева Г.И., Валентейчика В.В. Государственный кадастр атмосферного воздуха. Информационный бюллетень 2017 год. Минск: РУП «Бел НИЦ «Экология»; 2018.
- [4]. Город, архитектура, человек, климат / М.С. Мягков и [др.] . – М.: Архитектура-С, 2007 – 344 с.
- [5]. Городская среда: геоэкологические аспекты / В.С. Хомич и др.. – Минск: Беларуская навука, 2013. – 301 с.
- [6]. ГОСТ 17.2.1.03-84 «Охрана природы. Атмосфера. Термины и определения контроля загрязнения».
- [7]. ГОСТ 17.2.1.04-77 «Охрана природы. Атмосфера. Метеорологические аспекты загрязнения и промышленные выбросы. Основные термины и определения».
- [8]. ГОСТ 17.2.3.01-86. «Охрана природы. Атмосфера. Правила контроля качества воздуха населенных пунктов».

- [9]. Какарека, С.В. Аммиак в атмосферном воздухе: источники поступления, уровни содержания, регулирование /С.В.Какарека, А.В.Мальчихина. – Минск: Беларус.навука, 2016. – 253 с.
- [10].Какарека, С.В. Трансграничное загрязнение атмосферного воздуха и его регулирование /С.В.Какарека. – Минск:Беларус.навука, 2009. – 320 с.
- [11].Каравай Т.В., Табальчук Т.Г., Буйков И.В., Хитриков М.А., Богданович О.Л., Кашицкий Э.С. Особенности биоклиматического районирования Беларуси. Изобретатель. - №7, 2019.- С. 21-31.
- [12].Кокош Ю.Г., Какарека С.В. Сезонная динамика содержания формальдегида в атмосферном воздухе городов Беларуси. – Мн.: Приропользование, 2019. С.28-37.
- [13].Кочановский С.Б. Сохранение и рациональное использование природных ресурсов, охрана окружающей среды // Белорусский экономический журнал. – 2002. – № 8. – С. 37.
- [14].Матвеев А.В., Зерницкая В.П. Влияние процессов современной геодинамики на степень комфортности геологической среды для населения на территории восточной части Белорусского Полесья/Вестник Брестского государственного университета. Сер. 5, Хімія, біялогія, навукі аб Зямлі. – 2020. - № 1. – С. 94-104.
- [15].Матюхин, В.А., Разумов А.Н. Экологическая физиология человека и восстановительная медицина. М.: Медицина, 2009. – 424 с.
- [16].Охрана окружающей среды в Республике Беларусь, 2021: Статистический сборник. Мн.: Национальный статистический комитет, 2021. – 203 с.
- [17].Оценка риска для здоровья населения от воздействия химических веществ, загрязняющих атмосферный воздух: инструкция 2.1.6.11-9-29-2004//Современные методы диагностики, лечения и профилактики заболеваний: сб.инструкт.-метод.док. – Минск, 2005. – Вып.5, Т.6. – С. 83-157.
- [18].Состояние природной среды Беларуси: Экологический бюллетень 2008 г. / Под ред. В.Ф. Логинова. Мн.: Минсктиппроект, 2009. – 240 с.
- [19].Состояние природной среды Беларуси: Экологический бюллетень 2013 г. / Под ред. В.Ф. Логинова. Мн.: Минсктиппроект, 2014. – 364 с.
- [20].Состояние природной среды Беларуси: Экологический бюллетень 2014 г. / Под ред. В.Ф. Логинова. Мн.: Минсктиппроект, 2015. – 350 с.
- [21].Структура риска здоровью при воздействии комплекса химических факторов окружающей среды/В.Н.Дунаев и [др.].//Гигиена и санитария. – 2008. – №6. – С.67-71.
- [22].Титкова Н. Д., Ясовеев М. Г. Отрицательные и положительные черты развития туризма в Гомельской области // Современные технологии в сфере туризма, гостеприимства, рекреации, экскурсоведения и физической культуры: материалы Международной научно-практической конференции, проводимой в рамках VIII Форума творческой и научной интеллигенции государств-участников СНГ. Ч.1. Минск, 24 сентября 2013 г.— Минск: БГУФК. — С. 50—51.
- [23].Титкова Н.Д. Охрана воздушного бассейна техногенно перегруженного региона Вопросы естествознания: сб. науч. студ., магистров, асп. и мол. ученых фак. естествознания. – Мн.: БГПУ, 2005. – С. 104-106.
- [24].Титкова Н.Д., Ястребова Н.В. Качество и состояние атмосферного воздуха в городе Минске. Вопросы естествознания: сб. науч. студ., магистров, асп. и мол. ученых фак. естествознания. – Мн.: БГПУ, 2006. С.77-80.
- [25].Титкова Н.Д. Система мониторинга атмосферного воздуха, загрязнение воздушного бассейна г. Гомеля автотранспортом. Сахаровские чтения 2004 года: экологические проблемы XXI века: материалы межд. науч. конф. – Мн: Триолета, 2004. – С. 258-260.
- [26].Титкова Н.Д., Ясовеев М.Г., Гракова Л.В.Особенности локального мониторинга воздушного бассейна. Вопросы естествознания: сб.науч.ст.Вып. 2/редкол. М.Г. Ясовеев, В.Н.Киселев, Н.В.Науменко и[др.]; отв.ред.Ф.Ф.Лахвич. – Минск: БГПУ, 2008. С.137-141.
- [27].Филонов В.П. Эколого-эпидемиологическая оценка риска для здоровья человека качества атмосферы/В.П.Филонов, С.м.Соколов, Т.Е.Науменко. – Минск: ТРАНСТЭК, 2001. – С. 73-78.
- [28].Ціткова Н.Дз., Ясавееу М.Г. Утрыманне і расейванне шкодных рэчываў у атмасферным паветры Весці БДПУ, 2005, №2 сер.3. С.51-53.
- [29].Ясовеев М.Г., Титкова Н.Д., Гракова Л.В. Географические основы туризма, рекреации и краеведения в Беларуси: моногр. – Мн.: Право и экономика, 2010 – 210 с.

N.D.TITKOVA¹, S.V. GUBKIN¹, S.A. LYSENKO², E.S. KASHITSKIY¹

GEOECOLOGICAL SITUATION OF REGIONAL POLLUTION OF THE AIR BASIN OF THE REPUBLIC OF BELARUS IN DETERMINING PROMISING AREAS OF TOURISM INDUSTRY

¹*"Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus", Minsk, Belarus;*

²*"Institute of Nature Management of the National Academy of Sciences of Belarus", Minsk, Belarus*

Summary

The geoeological situation of atmospheric air pollution in the regions of the Republic of Belarus is

considered. Statistical data on emissions of pollutants from stationary and mobile sources are analyzed. The algorithm of formation of indicators of emissions of pollutants entering the atmospheric air from all organized and unorganized stationary mobile sources is presented.

Keywords: atmospheric air, emissions, pollutants, stationary sources, mobile sources, tourism.

УДК 578.834.1

Н.В. СИВЕЦ

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ БОКАПАРВОВИРУСОВ, ВЫЯВЛЕННЫХ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Минск, Республика Беларусь

В ходе исследования установлены нуклеотидные последовательности полных геномов НВов1, циркулирующих в нашей стране. Гомология последовательностей белорусских бокапарвовирусов с реверенс – штаммом ST2 (NC_007455.1) для BLR/Minsk/10/14, BLR/Minsk/11/14 и BLR/Mogilev/241/14 составила 99,7%, для вируса BLR/Gomel/285/15 составила 99,8%. Выявленные аминокислотные замены в последовательностях, кодирующих структурные и неструктурные белки НВов1, были локализованы в функционально значимых участках генома

Ключевые слова: НВов1, ДНК, сиквенсовая реакция, геном, аминокислотные замены.

Введение. В 2005 году в Швеции в носоглоточных мазках детей, госпитализированных с острыми респираторными инфекциями верхних и нижних дыхательных путей выявлен новый респираторный вирус – бокапарвовирус человека (НВов1) [1, 2]. Использование метода случайного скрининга в последующих исследованиях привело к открытию в 2009 и 2010 годах новых генотипов бокапарвовируса человека: 2, 3, и 4 (НВов2, НВов3 и НВов4) [3, 4, 5, 6]. В отличие от ранее описанного НВов1, генотипы НВов2, НВов3 и НВов4 были обнаружены в образцах фекалий человека. После открытия НВов1 было опубликовано большое количество исследований и показана активная циркуляция вируса во многих странах мира, в том числе и в Республике Беларусь [7]. Секвенирование нуклеотидных последовательностей бокапарвовируса человека показало наличие трех открытых рамок считывания (ORF). Левая рамка считывания ORF1 кодирует неструктурный мультидоменный белок NS1, правая ORF2 кодирует три вирусных структурных белка VP1, VP2, VP3. Третья рамка считывания ORF3 кодирует неструктурный белок NP1. Организация генома бокапарвовируса приведена на рисунке 1 [8].

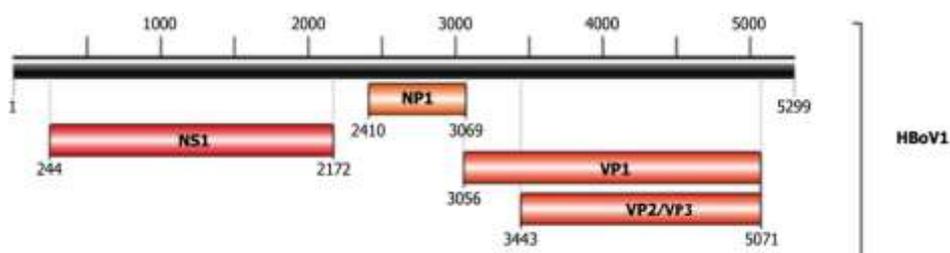


Рис. 1. Организация генома НВов1

Неструктурный белок NS1 НВов1 участвует в транскрипции, репликации и упаковке вирусного генома. Полная последовательность гена NS1 НВов1 имеет длину 1928 п.н. и кодирует полипептид из 643 аминокислот с молекулярной массой 100 кДа. Наличие второго неструктурного белка NP1 является отличительной чертой рода. Длина белка может варьировать в пределах вида. У бокапарвовируса человека белок NP1 состоит из 219 аминокислот и имеет молекулярную массу 25 кДа. Белок играет важную роль в репликации вирусной ДНК, а также в процессинге вирусной пре-мРНК. Белок NP1 также необходим для генерации мРНК, кодирующей структурные белки VPs. Белки VP1 (74 кДа), VP2 (64 кДа) и VP3 (60 кДа) имеют общий С-конец. Белок VP1 содержит уникальную последовательность VP1u областью размером 129 а.к. на N-конце. VP1u область является консервативной для всех парвовирусов и кодирует фермент фосфолипазу A2 (PLA2), которая необходима для модификации мембран и выхода из эндосомального/лизосомального пути во время доставки ДНК вируса в ядро, где в последующем происходит его репликация. Белок VP3 является главным структурным белком капсида и используется для типирования рода парвовирусов отвечает за формирование антигенных свойств.

В связи с отсутствием данных о генетических особенностях белорусских HBoV1 цель этой работы состояла в получении полных геномов и изучение первичной структуры вируса на нуклеотидном и аминокислотном уровне.

Материалы и методы. Материалом для исследования служили назофарингеальные мазки, полученные в рамках дозорного надзора за гриппом и другими ОРВИ в соответствии с Санитарными нормами, правилами и гигиеническими нормативами «Требования к проведению эпидемиологического надзора за острыми респираторными инфекциями в Республике Беларусь» №132 от 12.10.2010 года от детей в возрасте от 0 до 18 лет госпитализированных в стационары республики в период с октября 2010 года по октябрь 2018 года. На основе реферес – последовательности (номер депонента NC_007455.1) разработали восемь пар праймеров для получения необходимого количества матрицы и проведения последующего секвенирования бокапарвовирусов, выявленных на территории нашей страны. Праймеры для амплификации полного генома HBoV1 разрабатывали с учетом наличия перекрывающихся участков, что позволило проводить качественный анализ первичной структуры генов, кодирующих белки NS1, NP1, VP1/VP2/VP3. Олигонуклеотиды, использованные для проведения амплификации представлены в таблице 1. Разработанные праймеры и зонды были синтезированы в ОДО «Праймтех» (Республика Беларусь). Для выделения ДНК, РНК использовали коммерческий набор «ДНК-сорб» согласно инструкции производителя. Визуализацию продуктов амплификации проводили посредством гель-электрофореза в камере для горизонтального электрофореза multiSub Midi (Clever Scientific, Великобритания) в буферном растворе (200 мМ Трис, 100 мМ уксусная кислота, 50 мМ ЭДТА, pH 8,4) и агарозном геле 1,5%. ПЦР для накопления матриц ДНК проводили на амплификаторе MJ mini ("Bio-Rad, США) с использованием коммерческого набора «Genome Lab DTCS Quick Start Kit» (Beckman Coulter, США). Электрофорез и анализ продуктов реакции выполняли на автоматическом капиллярном ДНК - анализаторе Beckman Coulter «CEQ 8000» (Beckman Coulter, США). Сборка последовательностей их обработка осуществлялись в программном пакете Vector NTI 10 Advance (Invitrogen, США).

Результаты и их обсуждение. Изучение первичной структуры генома HBoV1 проводили в несколько этапов: получение необходимого количества матрицы интересующей нас последовательности, проведение секвенсовой реакции с последующим капиллярным электрофорезом, первичный анализ полученных данных в ходе проведения секвенирования и филогенетический анализ бокапарвовирусов, выявленных на территории нашей страны. Для отработки условий амплификации использовали образцы клинического материала, в которых методом ПЦР была выявлена ДНК HBoV1. При проведении исследований отбирали образцы с низкими значениями порогового цикла (Ct), основываясь на закономерностях вычислительной математики: тем меньше значение Ct, тем больше в исследуемом образце целевой молекулы ДНК. Эмпирическим путём был определен состав реакционной смеси: 10x ПЦР буфер (750 мМ Трис-HCl, 200 мМ (NH₄)₂SO₄, 0.1% Твин 20, pH 8,8) – 2,5мкл, 10мМ DNTPs – 0,5мкл, праймер (F,R) – 800нМ, 50мМ MgCl₂ – 1,5мкл, ДНК-полимераза HF – 0,5мкл, ДНК матрицы – 10мкл и вода для ПЦР – 2 мкл и отработан оптимальный режим для проведения амплификации, состоящий из следующих циклов: денатурация при 95°C – 5 мин., 95°C – 40 сек., отжиг праймеров от 52°C до 66°C – 60 сек. (для каждой пары праймеров своя температура отжига), элонгация при 72°C – 3 мин. Режим ПЦР повторяли 40 циклов, конечная элонгация 72°C – 3 мин., хранение 4°C. Визуализацию продуктов амплификации проводили посредством гель-электрофореза. Анализ электрофореграмм продуктов амплификации показал, что оптимальное накопление искомым матриц происходит в широком температурном диапазоне (рисунок 2). Каждую очищенную матрицу секвенировали в прямом и обратном направлении. Таким образом для секвенирования полного генома бокапарвовируса провели 16 секвенсовых реакций, используя следующий состав реакционной смеси: DTCS Quick Start Master Mix (8 мкл), праймер F или R 1,6мМ (2мкл), образец ДНК (5 мкл) и вода для ПЦР (5 мкл) и режим реакции (96°C – 20с, 50°C – 20с, 60°C – 4 мин), который повторяли в течении 30 циклов.

Полные нуклеотидные последовательности генов, кодирующих белки NS1, NP1, VP1/VP2 удалось определить для четырёх образцов. Образцы, которые использовали в исследовании были полученных из г.Минска в 2014 году от пациентов с симптомами обструктивного бронхита (BLR/Minsk/11/14, BLR/Minsk/10/14), из г.Гомеля (2015г., BLR/Gomel/285/15) и г.Могилева (2014г., BLR/Mogilev/241/14) от пациентов с тяжелым течением острой респираторной инфекции. Последовательности бокапарвовирусов BLR/Minsk/11/14, BLR/Minsk/10/14, BLR/Gomel/285/15 и

BLR/Mogilev/241/14 были депонированы в Международную базу данных (GenBank, NCBI) с кодом доступа MF376167.1, MF376168.1, MF376169.1, MF376170.1.

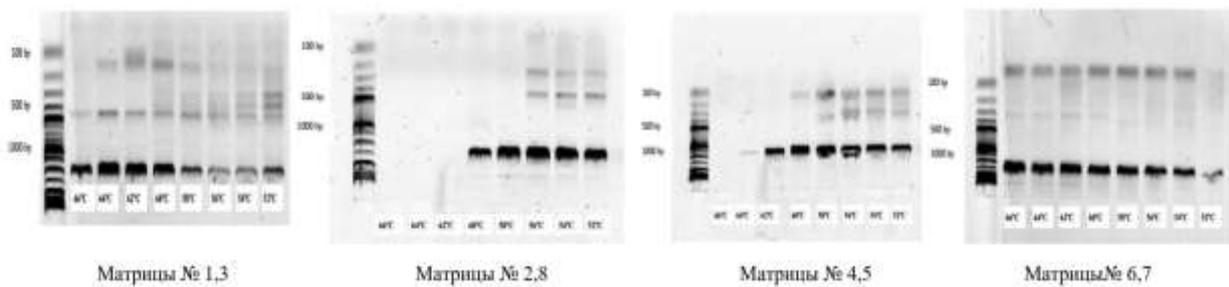


Рис. 2. Электрофореграмма продуктов амплификации

Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей бокапарвовирусов, циркулирующих в нашей стране и нуклеотидных последовательностей референс-вирусов, представителей рода *Voscarparvovirus* показал, что вирусы, выявленные на территории нашей страны, принадлежат к генотипу HBoV1. Гомология последовательностей белорусских бокапарвовирусов с референс – штаммом ST2 (NC_007455.1) для BLR/Minsk/10/14, BLR/Minsk/11/14 и BLR/Mogilev/241/14 составила 99,7%, для вируса BLR/Gomel/285/15 составила 99,8%. Полученные данные свидетельствуют о достаточно высокой консервативности среди бокапарвовирусов генотипа HBoV1, не смотря на географическую удаленность изолятов. После подтверждения принадлежности наших вирусов к генотипу HBoV1 следующим этапом стало изучения филогенетических взаимоотношений наших вирусов и бокапарвовирусов генотипа HBoV1, выявленных в других странах мира. Для выполнения данной задачи использовали 51 нуклеотидную последовательность полных геномов HBoV1 размером 5029 п.н. выделенных в других странах мира в период 2010 – 2019гг., которые имели максимальные отличия от референс – штамма ST2 (NC_007455.1). Согласно данным филогенетического анализа три белорусских вируса HBoV1 BLR/Mogilev/241/14, HBoV1 BLR/Minsk/10/14, HBoV1 BLR/Minsk/11/14 образовывали отдельный кластер и показали генетическое родство с референс вирусом ST2. Бокапарвовирус BLR/Gomel/285/15 группировался с HBoV1, выявленном в Египте в 2017 году (KU557404) (Рисунок 3).

При сопоставлении аминокислотных последовательностей гена NS1, NP1, VP1/ VP2/ VP3 исследуемых бокапарвовирусов с референс – вирусом были выявлены несинонимичные нуклеотидные замены. Наибольшее число замен в гене NS1 установлено для образцов BLR/Minsk/10/14 (восемь) и BLR/Minsk/11/14 (шесть). Замена пролина (P) на серин (S) в положении 157 и замена аспартата (D) на лизин (K) в положении 639 установлена у всех четырех белорусских HBoV1 (таблица 2). Анализ локализации аминокислотных замен у изучаемых вирусов показал, что шесть из семи аминокислотных замен в белке NS1 располагались в области сайт - специфических доменов, отвечающих за эндонуклеазную и геликазную активность, а именно в позициях: P157S, N184T, F208L, C420G, Q438P, W465G. Замена аспарагиновой кислоты на глютаминовую кислоту в положении 598 белка NS1 вирусов HBoV1 BLR/Minsk/11/14 и BLR/Minsk/10/14 и замена аспарагиновой кислоты на лизин в положении 639 HBoV1 BLR/Minsk/11/14, BLR/Minsk/10/14, BLR/Mogilev/241/14, BLR/Gomel/285/15 была локализована в С-терминальной части белка NS1, которая является транскрипторным доменом и отвечает за функционирование неструктурного белка NP1. Замены аминокислот в позициях 157, 208, 420, 449, 465, 639 привели к изменению заряда в данных сайтах. Все несинонимичные аминокислотные замены белка VP1/ VP2/VP3, выявленные у белорусских респираторных бокапарвовирусов представлены в таблице 3.

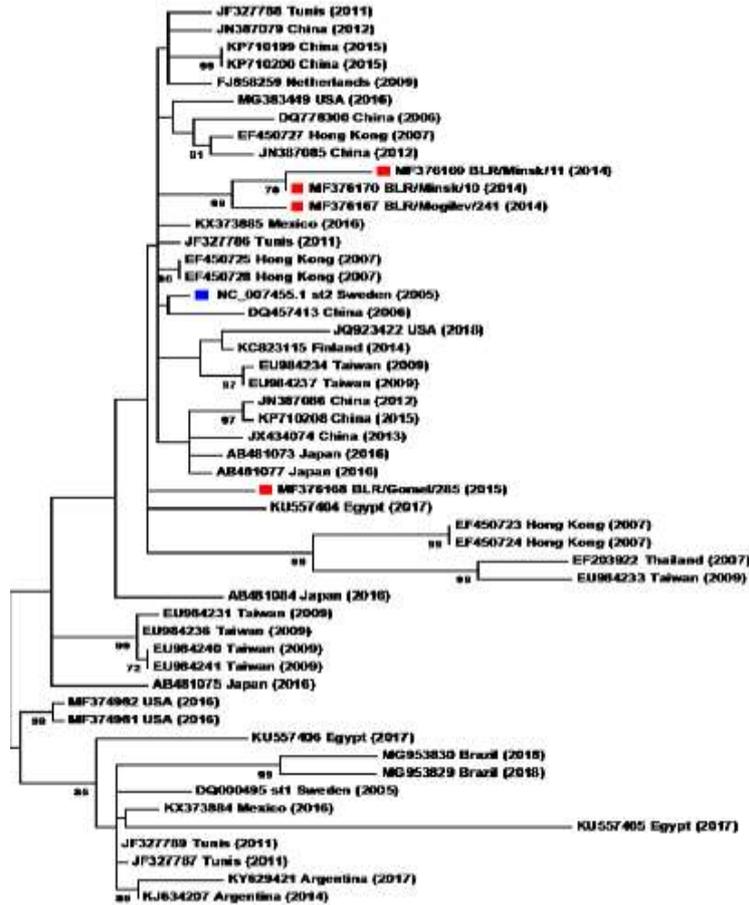


Рис. 3. Филограмма построенная на основе нуклеотидных последовательностей полного генома белорусских НВoV1 и НВoV1, выявленных в других странах мира (красным цветом выделены белорусские изоляты, синим – референс – штамм НВoV1 ST2)

Три аминокислотные замены (Y244H, P295S, H568N) кроме белорусских НВoV1 были выявлены и у НВoV1 из других стран мира. Так замена Y244H выявлена у бокапарвовирусов из Гонконга 2007 года (EF450723.1, EF450724.1), замена P295S выявлена у НВoV1 из Японии 2016 года – АВ481073.1, АВ481074.1, АВ481084.1 и Тайвани 2009 года – EU984231.1, EU984234.1, EU984236.1, EU984237.1, EU984240.1, EU984241.1, замена H568N выявлена у депонентов с номерами АВ481073.1, EU984234.1 EU984237.1, АВ481077.1, DQ457413.1, DQ778300.1, EF450725.1, EF450727.1, EF450728.1, FJ858259.1, JF327786.1, JF327788.1, JN387079.1, JQ923422.1, JX434074.1, KC823115.1, KP710199.1, KP710200.1, KX373885.1, MG383449.1.

Табл. 1. Олигонуклеотиды, использованные для проведения амплификации

Праймеры	Нуклеотидная последовательность праймера (5' - 3')	Позиция в геноме	T(°C) плавления	Длина ПЦР продукта	№ искомой матрицы
F1	GCCGGCAGACATATTGGATTCAA	1-24	65	737	1
R1	CCTCAGGTTCAAAAGGACGTGTA	714-737	63		
F2	AGTTGGGGGAGAAGGACTAA	609-628	58	715	2
R2	GCATGCCCAAGACTTGTCT	1305-1324	58		
F3	TGAACTACTCCTTATGCTTGAAGGT	1257-1281	63	671	3
R3	AGAAGAGCTGCAATCTCAGTAGCA	1905-1928	64		
F4	ATGTTACACGCGGCTCCATFAAA	1823-1844	60	739	4
R4	TGAGCCCCGAGCCTCTCTC	2548-2562	61		
F5	GACATCGCAAGTGGACTATTGT	2277-2297	60	906	5
R5	TGATCATGTAATTGAGCAGCG C	3162-3183	60		
F6	TGGGATGATGTGTACCGTAGACACTT	2950-2975	66	774	6
R6	GTCCATGGAGTTGTGACGCAGC	3705-3724	66		
F7	CACCTTACAAAACAGAGGC	3648-3669	66	712	7

R7	TGCACTGAGCAGGCCAGGTCC	4340-4360	67		
F8	TAAGACAAAACGGAAGCACAG	4265-4286	58	1034	8
R8	TGTACAACAACAACACATTAAGAT	5275-5299	58		

Табл. 2. Аминокислотные замены в гене NS1 белорусских бокапарвовирусов

Референс и исследованные Бокапарвовирусы	Позиция аминокислоты в гене NS1							
	157	184	208	420	449	465	598	639
ST2 NC_007455.1	P	N	F	C	Q	W	D	D
BLR/Minsk/10/14	S	T	L	G	P	G	E	K
BLR/Minsk/11/14	S	N	F	G	P	G	E	K
BLR/Mogilev/241/14	S	T	L	C	Q	W	D	K
BLR/Gomel/285/15	S	N	F	C	Q	W	D	K

Табл. 3. Аминокислотные замены в генах VP1/VP2/VP3 белорусских бокапарвовирусов

Номера депонентов	Изоляты HBoV1	№ аминокислотной позиции										
		189	244	295	416	439	568	591	628	629	630	643
ST2 NC_007455.1	ST2/Sweden/2005	K	Y	P	Q	R	H	K	C	T	R	I
MF376170.1	BLR/Minsk/10/14	R	H	P	Q	R	N	K	C	T	R	I
MF376169.1	BLR/Minsk/11/14	K	H	P	E	K	N	K	C	T	R	I
MF376167.1	BLR/Mogilev/241/14	R	H	P	Q	R	N	K	C	T	R	R
MF376168.1	BLR/Gomel/285/15	K	Y	S	Q	R	H	E	S	S	G	I

Заключение. Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей бокапарвовирусов, циркулирующих в нашей стране и нуклеотидных последовательностей референс -вирусов, представителей рода *Bocaparvovirus* показал, что вирусы, выявленные на территории нашей страны, принадлежат к генотипу HBoV1. Гомология последовательностей белорусских бокапарвовирусов с референс – штаммом ST2 (NC_007455.1) для BLR/Minsk/10/14, BLR/Minsk/11/14 и BLR/Mogilev/241/14 составила 99,7%, для вируса BLR/Gomel/285/15 составила 99,8%. Выявленные аминокислотные замены в последовательностях, кодирующих структурные и неструктурные белки HBoV1, были локализованы в функционально значимых участках генома возможно, данные аминокислотные замены влияют на вирулентность вируса, а также на спектр рецепторных взаимодействий и тропизм вируса, что требует дальнейшего изучения.

Литература

- [1] Allander T. A virus discovery method incorporating DNase treatment and its application to the identification of two bovine parvovirus species // J. P Natl Acad Sci USA. 2001. Vol. 25
- [2] Allander T. Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples // Proc Natl Acad Sci. 2005. Vol. 102
- [3] Arthur J.L. A novel bocavirus associated with acute gastroenteritis in Australian children // PLoS Pathog. 2009. Vol. 5.
- [4] Kapoor A. Human bocaviruses are highly diverse, dispersed, recombination prone, and prevalent in enteric infections // J. Inf. Dis. 2010. Vol. 201.
- [5] Teixeira de Sousa T. Human bocavirus 1 and 3 infections in children with acute gastroenteritis in Brazil // Mem Inst Oswaldo Cruz. 2012. Vol. 107.
- [6] Hedman K. Human bocavirus—the first 5 years // Med. Virol. 2012. Vol. 22 –
- [7] Сивец Н.В. Бокапарвовирусная инфекция у детей в Республике Беларусь: молекулярно-эпидемиологические аспекты // Журнал инфектологии. 2019. Т.11. №4.
- [8] Guido M. Human bocavirus: Current knowledge and future challenges // World J. Gastr. 2016. Vol.22.

N.V. SIVETS

MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF BOCAPARVOVIRUSES DETECTED IN THE REPUBLIC OF BELARUS

Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus

Summary

The study determined the nucleotide sequences of the complete genomes of HBoV1 circulating in our country. Sequence homology of Belarusian bocaparvoviruses with reference strain ST2 (NC_007455.1) for BLR/Minsk/10/14, BLR/Minsk/11/14 and BLR/Mogilev/241/14 was 99.7%, for BLR/Gomel/ 285/15 was

99.8%. The identified amino acid substitutions in the sequences encoding structural and nonstructural proteins of HBoV1 were localized in functionally significant regions of the genome

Key words: HBoV1, DNA, sequence reaction, genome, amino acid substitutions.

УДК 578.42:616-036.22]:628.3-047.36

Н.В. ПОКЛОНСКАЯ, Т.В. АМВРОСЬЕВА, Ю.Б. КОЛТУНОВА, Ю.А. ШИЛОВА,
И.В. БЕЛЬСКАЯ

СЛЕЖЕНИЕ ЗА ЦИРКУЛЯЦИЕЙ ВИРУСОВ НА ОСНОВЕ МОНИТОРИНГА СТОЧНЫХ ВОД – КАК ЭФФЕКТИВНЫЙ ИНСТРУМЕНТ КОНТРОЛЯ ЗА ИНФЕКЦИЯМИ И ПРОФИЛАКТИКИ БИОЛОГИЧЕСКИХ УГРОЗ

ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии

Настоящая статья посвящена развитию в нашей стране относительно нового направления исследований, получившего название «эпидемиология сточных вод», которое в настоящее время используется в мире в качестве эффективного инструмента контроля за актуальными и социально-значимыми инфекционными болезнями с целью раннего выявления новых и вновь возникающих вариантов возбудителей, потенциально представляющих биологическую угрозу населению в виде осложненной эпидемической ситуации.

В представленной работе проведен сравнительный анализ результатов мониторинга сточных вод и исследований биологического материала пациентов в отношении доминирующих кишечных вирусов и возбудителя COVID-19. Установлены типы и генотипы преобладающих в сточных водах кишечных вирусов. Показано, что в некоторые периоды наблюдения имело место параллельное увеличение/снижение частоты детекции возбудителя у пациентов и в сточной воде. Проведен анализ концентраций РНК/ДНК возбудителей в сточных водах. Показано, что в муниципальных сточных водах преобладали аденовирусы, энтеровирусы и норовирусы 2 геногруппы, тогда как в госпитальных доминировали ротавирусы А, вызывающие более тяжелые формы ОКИ, которые чаще приводят к госпитализации. В результате молекулярного типирования установлено, что в сточных водах присутствовали наиболее распространенные и широко циркулирующие генотипы вирусов – норовирус GI.4[P16], энтеровирусы Коксаки B5-B2f, Коксаки B5-B2a, ECHO30-E2, а также новый коронавирус SARS-CoV-2. Значительная часть аденовирусов была представлена респираторными типами – АдВ 3, 78, 2, 12, 1. Проведенные исследования показывают важность регулярного мониторинга сточных вод для предотвращения угроз вспышек и эпидемий инфекционных болезней.

Ключевые слова: эпидемиология сточных вод, кишечные вирусы, SARS-CoV-2, мониторинг, сточная вода.

Введение. Высокая генетическая вариабельность вирусов приводит к постоянному появлению новых геновариантов известных возбудителей, обладающих измененными свойствами, или возникновению новых патогенных для человека вирусов, что наносит значительный урон здоровью людей. Пандемия COVID-19 – яркий пример такого явления, когда вирус, возникший в результате рекомбинации и преодолевший межвидовой барьер, привел к кризису мирового масштаба и унес миллионы жизней. В прошедшие несколько десятилетий регистрировались менее глобальные вспышки заболеваний, возникшие в результате появления в человеческой популяции вирусов с измененными свойствами. Человечество не может предотвратить появление новых вирусов. В этих условиях усилия ученых направлены на предотвращение и смягчение последствий подобных явлений. Поэтому надзор за циркуляцией вирусов является важной частью систем здравоохранения разных стран. В последние годы для надзора за циркуляцией вирусов среди людей широко используется подход, основанный на мониторинге возбудителей в сточной воде. Это направление исследований называется «эпидемиология сточных вод» (ЭСВ) и является относительно новым направлением, основанным на выявлении различных биомаркеров в сточной воде для получения качественных и количественных данных, касающихся различных аспектов жизнедеятельности и здоровья жителей определенных географических регионов [6, 8].

На сегодняшний день ЭСВ признана одним из наиболее эффективных подходов к контролю за инфекционными болезнями, раннему выявлению новых и вновь возникающих инфекций на популяционном уровне [17, 18]. Исследования, основанные на ЭСВ, проводились для контроля за

инфекциями, вызванными вирусом гриппа, норовирусами, энтеровирусами, вирусом гепатита А, вирусами Денге и Зика и рядом других [4, 5, 9, 10]. В настоящее время такого рода исследования широко проводятся во многих странах в отношении коронавируса SARS-CoV-2 [2, 14]. Осуществление такого мониторинга чрезвычайно актуально в плане предотвращения угроз вспышек и эпидемий инфекционных болезней. С одной стороны, увеличение концентраций вирусов в сточной воде резко повышает риск попадания их из почвы в рекреационные воды, водоисточники и колодцы, что может приводить к реализации водного пути распространения инфекционных болезней и возникновению водных вспышек и эпидемий. С другой стороны, новые вирусы, или новые геноварианты известных вирусов, представляющие эпидемическую опасность для населения, могут детектироваться в сточной воде до их широкого распространения в популяции, что позволяет оперативно их обнаружить и предпринять меры для предотвращения роста вызываемой ими заболеваемости.

Целью представленной работы был сравнительный анализ результатов мониторинга сточной воды на территории Минска и Минской области в 2020-2021 г. и лабораторной диагностики у пациентов с ОКИ, проходивших лечение в тот же период времени, в отношении возбудителей актуальных социально значимых кишечных вирусных инфекций, а также SARS-CoV-2.

Материалы и методы. На протяжении 2020-2021 гг. собраны и исследованы 424 пробы биологического материала (фекалии) пациентов с ОКИ, а также 489 образцов сточных вод, полученных в местах их сброса на территории Минска и Минской области.

Детекцию доминирующих кишечных вирусов – ротавируса А (РоВ А), норовирусов 1 и 2 геногрупп (НоВ1 и НоВ2), аденовирусов F (АдВF), энтеровирусов (ЭВ) осуществляли методом ПЦР в режиме реального времени. Для выделения вирусных нуклеиновых кислот применялись коммерческие наборы «НК-экстра» (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Беларусь), для постановки ОТ-ПЦР в одной пробирке – «Набор для выявления ДНК (РНК) кишечных вирусов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флюоресцентной детекцией «ОКВИ-ПЦР» (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Беларусь).

Для молекулярного типирования НоВ2 секвенировали фрагменты генов РНК-полимеразы и основного капсидного белка VP1 [7], АдВF – фрагмент гена гексона [13], ЭВ – фрагмент гена основного капсидного белка VP1 [15]. Поиск гомологичных последовательностей осуществляли в базе данных NCBI с помощью программы BLAST [3]. Компьютерный анализ последовательностей проводили с помощью программы MEGA версии 7.0 [12]. Для генотипирования НоВ2 использовали программу «NorovirusGenotypingToolVersion 1.0» [11].

Расчет доверительных интервалов доли рассчитывали по распределению Пуассона (через χ^2). Достоверность обнаруживаемых различий определяли на основании критерия Хи-квадрат с поправкой Йейтса [1].

Результаты и их обсуждение. За двухлетний период проведения исследований в пробах сточных вод был идентифицирован 201 изолят кишечных вирусов (41% исследованных проб), за тот же период у пациентов с ОКИ было выявлено 200 изолятов возбудителей (47,2% исследованных образцов). Спектр и доли различных вирусов, среди обнаруженных у пациентов и в сточной воде, представлены на рисунке 1. Среди кишечных вирусов, обнаруженных у пациентов с ОКИ, преобладали РоВ А: они составляли 62% (95%ДИ: 51,6% – 73,9%), что отражает их доминирующий вклад в этиологию заболевания.

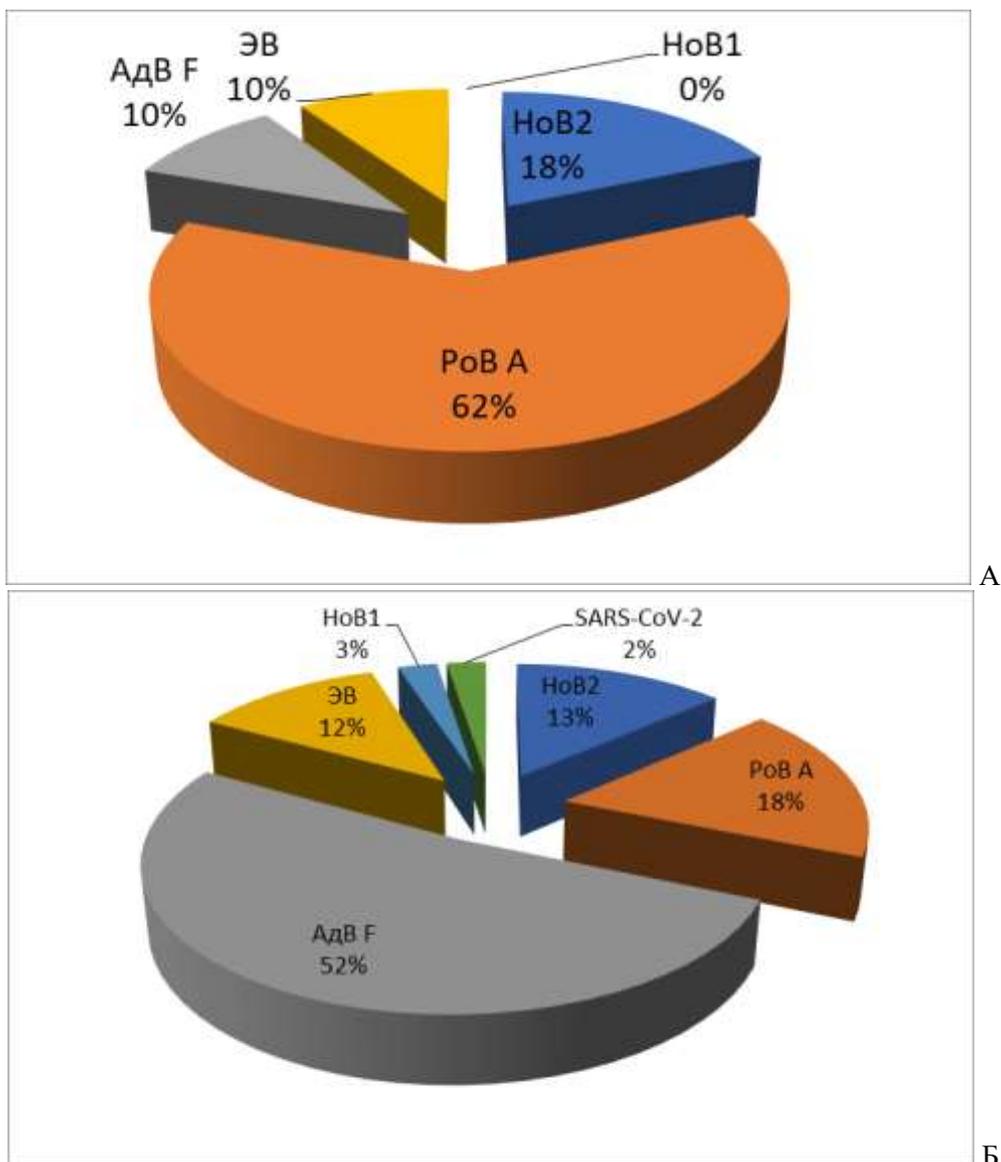


Рис. 1. Спектр и доли разных типов кишечных вирусов у пациентов с ОКИ (n=200) и в сточной воде (n=201)

На втором месте были HoB2 – 18,5 (95%ДИ: 13,0% – 25,5%), на третьем – АдВ F и ЭВ (95%ДИ: 5,7% – 14,8%) и 10,0% (95%ДИ: 6,1% – 15,4%). Частота обнаружения вирусов в сточной воде была принципиально другой: преобладающим возбудителем из всех идентифицированных был АдВ F ([54,5%] 95%ДИ: 44,5% – 66,0%), на втором месте – PoB A ([18,9%] 9,5%ДИ: 13,2% – 26,1%), на третьем – ЭВ ([12,6%] 95%ДИ: 8,1% – 18,7%). Такое распределение отражает широкую распространенность бессимптомного носительства АдВ F и, в меньшей степени, ЭВ в популяции и их относительно невысокий вклад в формирование заболеваемости ОКИ.

РНК SARS-CoV-2 в сточных водах Минска и Минской области в 2020 г. не выявлялась. В 2021 г. обнаружено присутствие SARS-CoV-2 во 2 кв. – 1 изолят, в 3 кв. – 3 изолята, в 4 кв. – 1 изолят. Общая частота обнаружения SARS-CoV-2 составила 1,0% (95%ДИ: 0,3% – 2,4%).

Далее было проведено сравнение поквартальной частоты детекции одних и тех же возбудителей у пациентов с ОКИ и в образцах сточных вод. Анализ полученных результатов (рисунок 2) показал, что высокая частота выявления возбудителя у пациентов с ОКИ не всегда сопровождалась повышением уровней детекции его в пробах сточной воды, хотя в некоторые периоды и в отношении отдельных возбудителей такая закономерность обнаруживалась. Так, если анализировать выявление PoB A у пациентов с ОКИ в 2020 г., то оказывается, что максимальная частота их детекции имела место в 1-2 кв. (32,9% – 36,4%, соответственно). В этот же период наблюдалась максимальная частота обнаружения PoB A в сточных водах – 18,5% – 15,2% образцов. В 3 кв. этого года частота детекции PoB A у пациентов с ОКИ резко снизилась до 6,7%, параллельно

частота детекции их в сточной воде упала до 0%. Однако в дальнейшем частота обнаружения PoV A у пациентов возросла до 25,0% – в 4 кв. 2020 г. и 63% – в 1 кв. 2021 г. При этом в анализируемых сточных водах PoV A не детектировались.

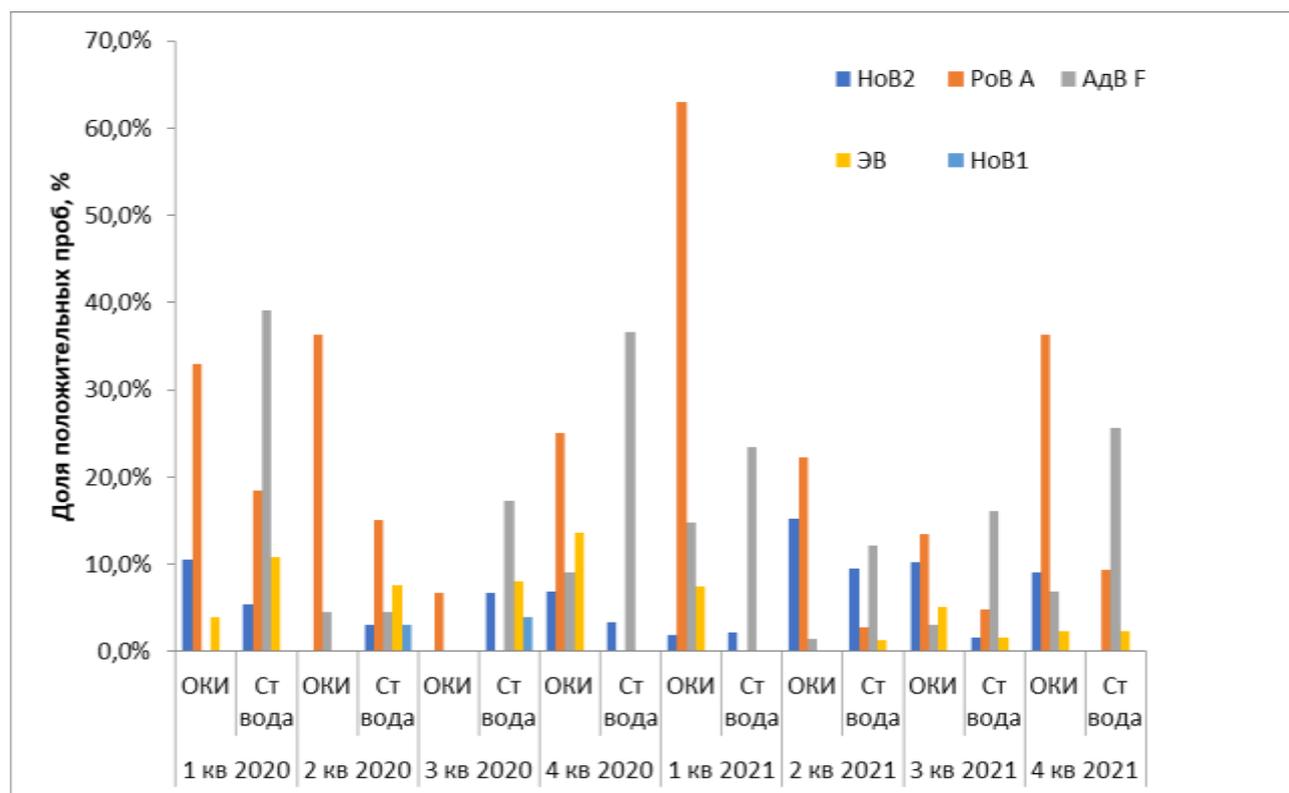


Рис. 2. Частота выявления различных типов кишечных вирусов в пробах биологического материала и сточных вод, отобранных в г. Минске и Минской обл. в течение 2020-2021 гг.

На протяжении последующих трех кварталов снижение/увеличение частоты выявления PoV A у заболевших так же не сопровождалось соответствующими изменениями уровней их детекции в сточной воде. В отношении NoB2 выявлено параллельное увеличение/снижение частоты детекции возбудителя у пациентов и в сточных водах на протяжении всех 4 кварталов 2021 г., однако в 2020 г. такие изменения частоты не наблюдались. Аналогичная ситуация имела место в отношении АдВ F.

Максимальная частота выявления РНК SARS-CoV-2 в пробах сточной воды имела место в 3 кв. 2021 г. – в период активной циркуляции дельта-варианта вируса.

Помимо частоты выявления вирусов в пробах сточных вод еще одной важной характеристикой, определяющей интенсивность их циркуляции, была концентрация возбудителя в исследуемых образцах. Так как большинство кишечных вирусов являются некультивируемыми, их количественное содержание в сточной воде определяли по концентрации нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК), которую, в свою очередь, определяли с помощью количественной ПЦР с использованием специально разработанных для этой цели калибраторов.

Результаты определения количества ДНК/РНК кишечных вирусов в сточной воде в течение 2021 г. представлены на рисунке 3. РНК PoV A присутствовала в образцах в концентрациях $2,75 \times 10^2$ – $9,9 \times 10^7$ ГЭ/проба, средняя концентрация $9,9 \times 10^6$ ГЭ/проба, медианная концентрация – $7,6 \times 10^4$ ГЭ/проба. ДНК АдВ F обнаруживалась в диапазоне $3,9 \times 10^2$ – $2,1 \times 10^8$ ГЭ/проба, средняя концентрация $1,1 \times 10^7$ ГЭ/проба, медианная концентрация $1,0 \times 10^6$ ГЭ/проба. РНК NoB2 детектировали в концентрации $2,6 \times 10^2$ – $1,4 \times 10^4$ ГЭ/проба, средняя концентрация $8,9 \times 10^2$ ГЭ/проба, медианная концентрация – $7,9 \times 10^2$ ГЭ/проба. РНК энтеровирусов выявляли в диапазоне $2,6 \times 10^2$ – $1,4 \times 10^4$ ГЭ/проба, средняя концентрация $8,9 \times 10^2$ ГЭ/проба, медианная концентрация – $7,9 \times 10^2$ ГЭ/проба.

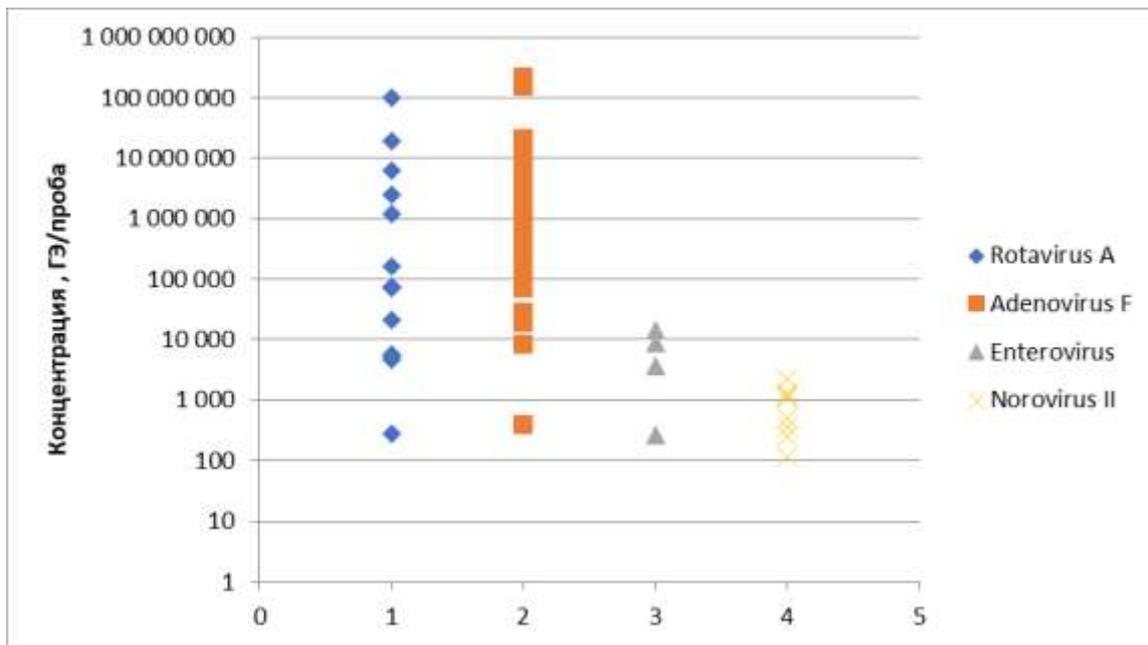


Рис.3. Концентрация кишечных вирусов, обнаруженных в сточной воде г. Минска и Минской области

Из полученных данных видно, что концентрации РoВ А и АдВF, обнаруживаемые в сточной воде, были значительно выше, чем концентрации НоВ и ЭВ. Данные различия могут быть обусловлены, с одной стороны, более активной циркуляцией вирусов в популяции, на что указывала и высокая частота выявления этих возбудителей в пробах сточных вод, а с другой – высокой вирусной нагрузкой в фекалиях пациентов с ротавирусной и аденовирусной инфекцией, в результате чего они выделяли в окружающую среду большое количество вируса.

Традиционно сточные воды разделяют на муниципальные – стоки жилых кварталов, школ, детских садов, различных учреждений, организаций и т.д., и госпитальные – стоки лечебных учреждений, где вероятность присутствия и высоких концентраций патогенных микроорганизмов гораздо выше [16]. Поэтому полученные в ходе настоящих исследований были проанализированы в двух соответствующих группах. Всего за 2020-2021 гг. был собран и проанализирован 191 образец госпитальных сточных вод и 355 проб муниципальных сточных вод. Частота обнаружения различных вирусов в сточных водах двух групп представлена на рисунке 4, который демонстрирует, что частота выявления кишечных вирусов-контаминантов в муниципальных и госпитальных сточных водах имела существенные отличия.

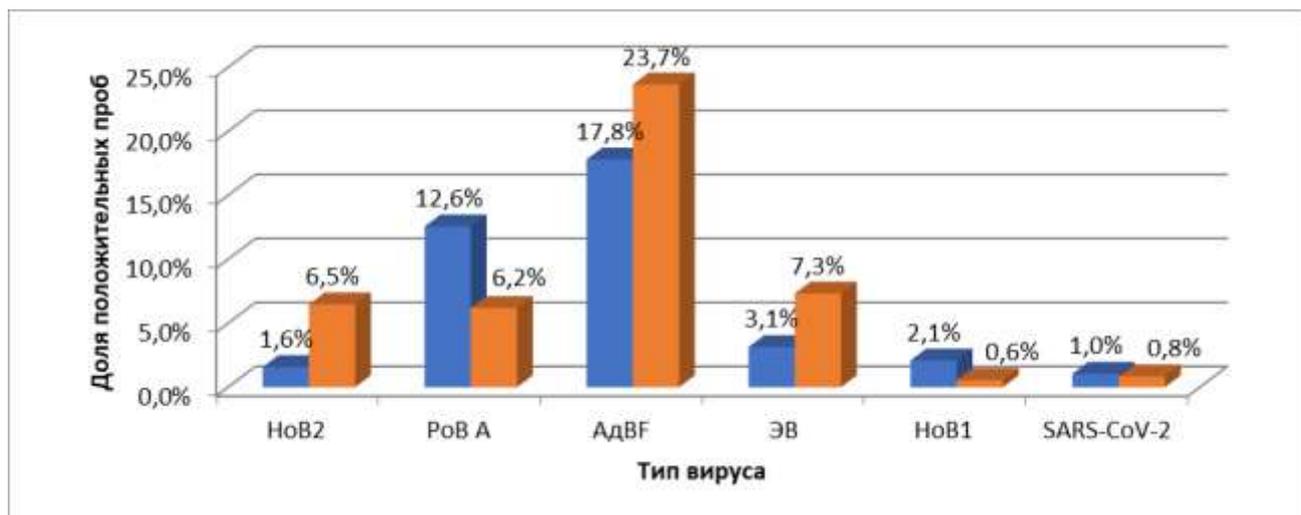


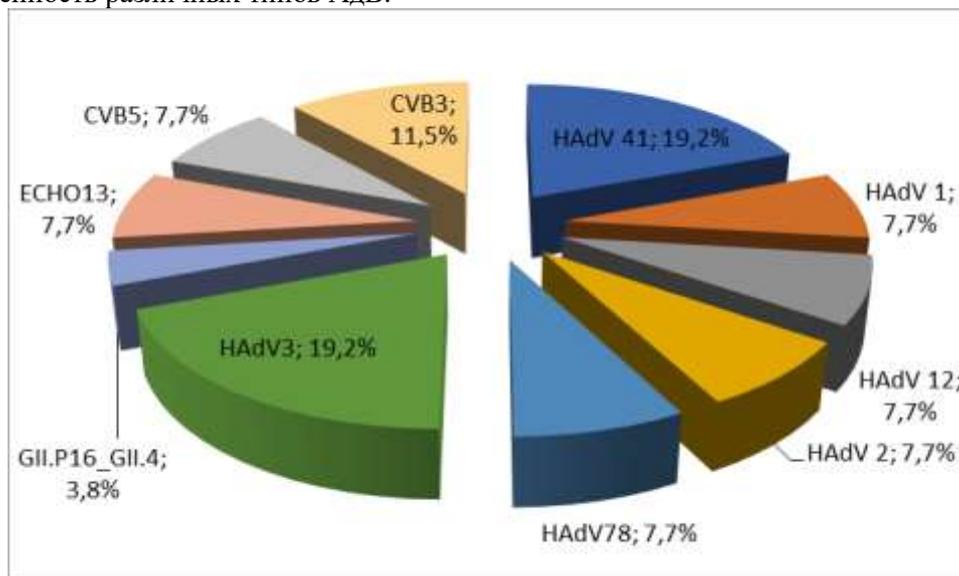
Рис.4. Частота детекции кишечных вирусов в госпитальных и муниципальных сточных водах

Так, в муниципальных сточных водах НоВ 2, АдВ F и ЭВ обнаруживались чаще, чем в госпитальных (в отношении НоВ 2 различия были достоверны, $p < 0,05$). Напротив, в госпитальных

сточных водах достоверно чаще преобладали PoB A ($p < 0,05$). При этом частота выявления SARS-CoV-2 в муниципальных и госпитальных стоках была приблизительно одинакова.

Полученные результаты позволяют предположить, что в муниципальных сточных водах преобладали те кишечные вирусы, для которых в значительной степени характерно бессимптомное носительство (АдВ F, ЭВ), или вирусы, которые вызывают достаточно легкие инфекции, такие как НоВ 2. В госпитальных сточных водах доминировали PoB A, поскольку они вызывают более тяжелое заболевание, особенно у детей, являющееся частой причиной обращения к врачу, а в некоторых случаях и госпитализации.

Молекулярное типирование кишечных вирусов, обнаруженных в сточных водах, проводили для тех возбудителей, которые присутствовали в пробах в концентрации, достаточной для проведения анализа. Согласно полученным результатам (рис.5), основной частью возбудителей, которые удалось типировать, были АдВ и ЭВ. При этом значительная часть обнаруженных аденовирусов была представлена АдВ 3, 78, 2, 12, 1 типов, которые не принадлежат к АдВ F и, как правило, не вызывают ОКИ. Такой результат молекулярного типирования является закономерным и отражает широкую распространенность различных типов АдВ.



типирования установлено, что в сточных водах присутствовали наиболее распространенные и широко циркулирующие генотипы вирусов.

Традиционно выполняемые авторами мониторинговые исследования сточных вод направлены на слежение за эпидемически значимыми кишечными вирусными патогенами, однако в условиях пандемии COVID-19 в перечень детектируемых вирусных агентов был включен новый коронавирус SARS-CoV-2. Малая частота выявления РНК SARS-CoV-2, который, в отличие от кишечных вирусов, имеет оболочку, на данном этапе работы была обусловлена, по-видимому, несовершенством методов его улавливания и концентрирования. В настоящее время авторами проводятся специальные исследования, направленные на разработку более эффективных технологий отбора образцов сточных вод и их пробоподготовки.

В целом, полученные в данной работе результаты указывают на важность регулярного мониторинга сточных вод в отношении возбудителей вирусных инфекций с природным резервуаром, создающих риск осложнения эпидемической ситуации и представляющих, при определенных условиях, потенциальную угрозу биобезопасности населения. Полученные данные являются важной дополнительной информацией о спектре и частоте их циркуляции в популяции человека, а также появлении эпидемически значимых новых геновариантов.

Литература

- [1]. С. Гланц. *Медико-биологическая статистика*. McGraw-Hill, 1994; М.: Практика, 1998. — 459 с.
- [2]. Ali W., Zhang H., Wang Z., Chang C., Javed A., Ali K. et al. Occurrence of various viruses and recent evidence of SARS-CoV-2 in wastewater systems. *J Hazard Mater*. 2021 Jul 15;414:125439.
- [3]. Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol*. 1990 Oct 5;215(3):403-10
- [4]. Bisseux M., Colombet J., Mirand A., Roque-Afonso A.M., Abravanel F., Izopet J. et al. Monitoring human enteric viruses in wastewater and relevance to infections encountered in the clinical setting: a one-year experiment in central France, 2014 to 2015. *Euro Surveill*. 2018 Feb;23(7):17-00237.
- [5]. Calgua B., Barardi C.R., Bofill-Mas S., Rodriguez-Manzano J., Girones R. Detection and quantitation of infectious human adenoviruses and JC polyomaviruses in water by immunofluorescence assay. *J. Virol Methods*. 2011 Jan;171(1):1-7.
- [6]. Daughton Ch. (2001). Illicit drugs in municipal sewage: Proposed new non-intrusive tool to heighten public awareness of societal use of illicit/abused drugs and their potential for ecological consequences.
- [7]. George S., Menon V.K., Ramani S., Kang G. Comparison of primers for the detection of genogroup II noroviruses in India. *Indian J Med Microbiol*. 2012 Jan-Mar;30(1):24-9.
- [8]. Gracia-Lor E., Rousis N.I., Hernández F, Zuccato E, Castiglioni S. Wastewater-Based Epidemiology as a Novel Biomonitoring Tool to Evaluate Human Exposure To Pollutants. *Environ Sci Technol*. 2018 Sep 18;52(18):10224-10226.
- [9]. He X.Q., Cheng L., Zhang D.Y., Xie X.M., Wang D.H., Wang Z. One-year monthly survey of rotavirus, astrovirus and norovirus in three sewage treatment plants (STPs) in Beijing, China and associated health risk assessment. *Water Sci Technol*. 2011;64(6):1202-10.
- [10]. Kazama S., Miura T., Masago Y., Konta Y., Tohma K., Manaka T., Liu X., Nakayama D, Tanno T, Saito M, Oshitani H., Omura T. Environmental Surveillance of Norovirus Genogroups I and II for Sensitive Detection of Epidemic Variants. *Appl Environ Microbiol*. 2017 Apr 17;83(9):e03406-16.
- [11]. Kroneman A., Vennema H., Deforche K., v d Avoort H., Peñaranda S., Oberste M.S., Vinjé J., Koopmans M. An automated genotyping tool for enteroviruses and noroviruses. *J Clin Virol*. 2011 Jun;51(2):121-5.
- [12]. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol Biol Evol*. 2016 Jul;33(7):1870-4.
- [13]. Lu X., Erdman D.D. Molecular typing of human adenoviruses by PCR and sequencing of a partial region of the hexon gene. *Arch Virol*. 2006 Aug;151(8):1587-602. .
- [14]. Mackul'ak T., Gál M., Špalková V., Fehér M., Briestenská K., Mikušová M. et al. Wastewater-Based Epidemiology as an Early Warning System for the Spreading of SARS-CoV-2 and Its Mutations in the Population. *Int J Environ Res Public Health*. 2021 May 25;18(11):5629.
- [15]. Mirand A., Archimbaud C., Henquell C., Michel Y., Chambon M., Peigue-Lafeuille H., Bailly J.L. Prospective identification of HEV-B enteroviruses during the 2005 outbreak. *J Med Virol*. 2006 Dec;78(12):1624-34.
- [16]. Prado T., Silva D.M., Guilayn W.C., Rose T.L., Gaspar A.M., Miagostovich M.P. Quantification and molecular characterization of enteric viruses detected in effluents from two hospital wastewater treatment plants. *Water Res*. 2011 Jan;45(3):1287-97.
- [17]. Sims N., Kasprzyk-Hordern B. Future perspectives of wastewater-based epidemiology: Monitoring infectious disease spread and resistance to the community level. *Environ Int*. 2020 Jun;139:105689.
- [18]. Xagorarakis I., O'Brien E. Wastewater-Based Epidemiology for Early Detection of Viral Outbreaks. *Women in Water Quality*. 2019;75-97.

N.V. PAKLONSKAYA, T.V. AMVROSIEVA, YU.B. KALTUNOVA, YU.A. SHILOVA, I.V. BELSKAYA

WASTEWATER BASED EPIDEMIOLOGY AS AN EFFECTIVE TOOL FOR INFECTION SURVEILLANCE AND BIOLOGICAL HAZARDS PREVENTION

The Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology

Summary

This article is dedicated to a relatively new for the country research area called "wastewater based epidemiology", which is currently used worldwide as an effective tool for an up-to-date monitoring of significant infectious diseases in order to provide an early identification of new and newly emerging variants of pathogens, that can potentially become a biological threat to the population in the form of the epidemic situation complications.

In the presented work, a comparative analysis of the results of wastewater monitoring and studies of the biological material from patients in relation to the dominant intestinal viruses is carried out. Types and genotypes of intestinal viruses prevailing in sewage have been identified. It was shown that in some periods of observation there was a parallel increase/decrease in the frequency of detection of the pathogen both in patients and in wastewater. The analysis of RNA/DNA concentrations of pathogens in wastewater showed that adenoviruses, enteroviruses and noroviruses of genogroup 2 prevailed in municipal wastewater, while rotaviruses A dominated in hospital wastewater, causing more severe forms of acute intestinal infections, that tend to lead to hospitalization. As a result of molecular typing, it was found that the most common and widely circulating virus genotypes were present in wastewater - norovirus GII.4 [P16], enteroviruses Coxsackie B5-B2f, Coxsackie B5-B2a, ECHO30-E2. A significant part of adenoviruses was represented by respiratory types - AdV 3, 78, 2, 12, 1. The conducted studies show the importance of regular monitoring of wastewater to prevent the threat of outbreaks and epidemics of infectious diseases.

Key words: wastewater based epidemiology, intestinal viruses, SARS-CoV-2, surveillance, wastewater

УДК 619:614.4(476)

А.М.СУББОТИН¹, И.И.СМИЛЬГИНЬ², И.А.ДАРОВСКИХ³, И.А.СУББОТИНА⁴

РАБОТА ВЕТЕРИНАРНОЙ СЛУЖБЫ В РАМКАХ ОБЕСПЕЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

¹Витебский областной исполнительный комитет, Витебск, Беларусь

²Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, Минск,
Беларусь

³Витебская областная ветеринарная лаборатория, Витебск, Беларусь

⁴Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины,
Витебск, Республика Беларусь

В статье приведены данные по специфике работы ветеринарной службы в рамках обеспечения биологической безопасности Республики Беларусь. Перечислены основные биологические риски в сельскохозяйственной отрасли по стратегическим направлениям «Биологическая безопасность животных» и «Биологическая безопасность растений», показаны основные направления работы ветеринарной службы по снижению биологических рисков, предотвращению развития чрезвычайных ситуаций в биологической сфере. Работая над концепцией Национальной биологической безопасности Республики Беларусь, ветеринарной службой были определены основные биологические угрозы и их источники, определены основные национальные интересы и направления работы по обеспечению биологической безопасности, определены индикаторы и критерии оценки состояния биологической безопасности. Национальные интересы и приоритетные направления обеспечения биологической безопасности республики в области ветеринарной деятельности заключаются в минимизации внешних и внутренних угроз по заносу и распространению заразных болезней животных.

В целях недопущения заноса и распространения заразных болезней в республике, в первую очередь, организовано проведение комплекса организационно-хозяйственных и ветеринарно-санитарных мероприятий.

С целью контроля ввоза подконтрольной продукции на территорию Республики Беларусь из третьих стран Департаментом, по установившейся практике, осуществляется выдача разрешений на ввоз таких товаров с учетом эпизоотического благополучия страны-импортера и проводится ветеринарный контроль на таможенной границе Евразийского экономического союза. Государственной ветеринарной службой проводится ветеринарно-санитарная экспертиза животноводческой продукции.

В целях оценки рисков по здоровью животных и раннего обнаружения заразных болезней животных проводится пассивный надзор.

Работа ветеринарной службы ведется в соответствии с международными стандартами, установленными Кодексом здоровья наземных животных Всемирной организации здравоохранения животных. Авторами статьи дано пояснение по основным правовым нормативам, актам, законам, международным стандартам и другим положениям, согласно которых ведется работа ветеринарной службы, в том числе и по обеспечению биологической безопасности.

Таким образом в статье подробно и последовательно описана роль и действия ветеринарной службы Республики Беларусь в рамках работы национальной системы обеспечения биологической безопасности.

Ключевые слова: биобезопасность, ветеринария, Министерство сельского хозяйства, риски, угрозы, национальные интересы.

COVID-19, SARS, MERS, вновь заявившая о себе бубонная чума, изменившая привычкам обезьянья оспа, новые вирусы, прионы, паразиты и вредители, глобальное потепление (а где-то – похолодание), засухи и наводнения, землетрясения, оползни. Все это – современные реалии, современная жизнь и атмосфера постоянной тревоги и опасений. Все это – глобальный вызов человеческой расе от природы, и все это – на фоне тяжелейших экономических и политических глобальных волнений.

Как часто и много за последние годы, месяцы и дни мы стали слышать фразы «биологическое оружие», «биологическая война», «биологическая опасность». И как часто эти фразы несут за собой реальные и страшные последствия.

Именно поэтому, исходя из сегодняшней глобальной беспокойной обстановки в эпидемиологическом и эпизоотическом отношении, на фоне угроз голода для миллионов людей и смерти от тяжелых и неизлечимых болезней так много стран всерьез занялись биологической безопасностью. Каждая из стран выбрала свои приоритетные направления, свои угрозы, поставила перед собой свои цели и задачи. Республика Беларусь так же не осталась в стороне и, благодаря усилиям и кропотливой работе межведомственной группы специалистов, представляющих Министерство здравоохранения Республики Беларусь, Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь, Национальную Академию Наук Республики Беларусь, при поддержке и курировании со стороны Совета Министров и Совета Безопасности Республики Беларусь 22 марта 2022 года была утверждена Концепция Национальной системы обеспечения биологической безопасности [5].

Концепция как официальный документ содержит в себе основной понятийный аппарат (терминологию), раскрывает цель и задачи, показывает и объясняет основные угрозы и пути их решения, в ней указаны основные стратегические направления работы по обеспечению биобезопасности, и многое другое [1, 4, 5].

Роль Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, и, непосредственно, роль Департамента ветеринарного и продовольственного надзора, значительна. Министерством ведется основная работа по таким стратегическим направлениям, как «Биологическая безопасность животных» и «Биологическая безопасность растений».

Работая над концепцией Национальной биологической безопасности, ветеринарной службой были определены основные биологические угрозы и их источники, определены основные национальные интересы и направления работы по обеспечению биологической безопасности, определены индикаторы и критерии оценки состояния биологической безопасности.

Из наиболее значимых и основных источников угроз биологической безопасности в области ветеринарной деятельности были определены следующие:

- заразные (инфекционные и паразитарные) болезни естественного происхождения, имеющие характер массовых вспышек, эпизоотий;
- занос и распространение ранее не регистрировавшихся на территории республики заразных болезней;
- возникновение на территории приграничных стран и стран-торговых партнеров эпизоотий (африканская чума свиней, высокопатогенный птичий грипп, ящур и др.);
- возникновение природных очагов заразных болезней (в том числе и зоонозного характера), нестабильная и имеющая тенденцию к ухудшению ситуация по эмерджентным природно-очаговым инфекциям (лептоспироз, бабезиоз, клещевые боррелиоз, энцефалит и анаплазмоз, туляремия, чума, лихорадка Западного Нила, Ку-лихорадка и др.);
- появление новых малоизученных заразных болезней, преодоление возбудителями заразных болезней межвидовых барьеров (SARS, MERS, COVID-19 и др.);
- отсутствие специфической иммунопрофилактики к отдельным заразным болезням ввиду отсутствия выработки у животных специфического иммунитета (африканская чума свиней);
- применение в различных сферах деятельности генетически модифицированных организмов;
- прогресс мировой биологической науки, практическое использования ее достижений, создающих дополнительные источники биологической опасности, развитие сети зарубежных биологических лабораторий;
- возможное создание и использование биологических поражающих агентов в военных и террористических целях (разработка биологического оружия), включая диверсии на биологически опасных объектах;
- нарастание антимикробной резистентности и, в целом, лекарственной устойчивости у патогенов (антибиотикорезистентные штаммы микобактерий, сальмонелл, эшерихий, чумной палочки др., устойчивость у малярийного плазмодия и анкилостом);
- увеличение количества крупнотоварных организаций, с высокой концентрацией поголовья животных, значительный рост биологических отходов, отсутствие эффективных технических

решений в отношении обеззараживания и утилизации биологических отходов, обеспечивающих недопущение загрязнения территорий [5].

Следует отметить, что параллельно с ветеринарной деятельностью, Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь осуществляет фито-санитарный контроль и государственную регистрацию сортов генно-инженерных растений, пород генно-инженерных животных и штаммов непатогенных генно-инженерных микроорганизмов и выдает свидетельство об их государственной регистрации, а также осуществляет надзор за соблюдением требований законодательства в областях племенного дела, ветеринарии, семеноводства, карантина и защиты сельскохозяйственных растений при осуществлении генно-инженерной деятельности. Поэтому биологические риски по стратегическим направления «Биологическая безопасность растений» и «Генетическая безопасность» так же контролируются ветеринарной службой страны (силами непосредственно ветеринарной службы или в сотрудничестве с другими ведомствами) [3].

Работа ветеринарной службы ведется в соответствии с международными стандартами, установленными Кодексом здоровья наземных животных Всемирной организации здравоохранения животных.

Стандарты Кодекса официально утверждены Всемирной ассамблеей делегатов – высшим полномочным органом Международного эпизоотического бюро (МЭБ, в новой аббревиатуре – ВОАН). Данные стандарты и рекомендации – это результат непрерывной работы Комиссии по ветеринарным стандартам для животных. Также, Кодекс является одной из составляющих свода правил Всемирной торговой организации (ВТО), которые регулируют международную торговлю [2, 3].

Соглашением о применении санитарных и фитосанитарных мер ВТО на МЭБ официально возложены обязанности по разработке международных референтных стандартов и рекомендаций в области здоровья животных и антропозоонозов.

Согласно Соглашению, свои национальные требования к импорту члены ВТО обязаны адаптировать к соответствующим рекомендациям, содержащимся в стандартах МЭБ.

Если же соответствующих рекомендаций не существует или страна устанавливает более строгие требования, она должна обосновать их научной оценкой рисков при импорте.

Кодекс определяет мировые стандарты ветеринарного благополучия, основанные на последних научных знаниях и технических достижениях. Стандарты, созданы в зависимости от типа товара, ветеринарного статуса экспортирующей страны (зоны) и мер снижения рисков по каждому из товаров – для недопущения заноса в импортирующую страну патогенных агентов.

Республика Беларусь является членом МЭБ. При разработке законодательства в области ветеринарии Минсельхозпрод руководствуется, как и все мировое сообщество, рекомендациями Кодекса.

В республике разработано более 80 нормативно правовых актов, касающихся ветеринарной деятельности, утвержденных на уровне Главы государства, правительства, Минсельхозпрода. Также разработано достаточное количество методических рекомендаций внутреннего пользования.

На постоянной основе проводится актуализация нормативно правовой базы (с учетом актуализации Кодекса, требований национального законодательства и практики применения норм).

Также, государственная ветеринарная служба участвует в разработке (с учетом интересов республики) международно-правовых актов, составляющих нормативную правовую базу Евразийского экономического союза, включая технические регламенты Таможенного союза, Евразийского экономического союза, содержащие ветеринарно-санитарные требования [3].

Кроме того, решением Комиссии Таможенного союза от 22 июня 2011 г. № 721 определено применение международных стандартов, рекомендаций и руководств.

В случае отсутствия документов Таможенного союза или документов национального законодательства, действующих на территории Таможенного союза, устанавливающих обязательные ветеринарные (ветеринарно-санитарные) требования к живым животным и продуктам животного происхождения, обязательные фитосанитарные требования к растениям и растительной продукции, обязательные санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к продуктам животного и растительного происхождения, следует применять стандарты, рекомендации и руководства Международного эпизоотического бюро, Международной конвенции по карантину и защите растений, Комиссии «Кодекс Алиментариус» (далее - международные стандарты) соответственно.

В случае, если ветеринарные, фитосанитарные и санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования, действующие на территории Таможенного союза, являются более

ограничительными, чем соответствующие международные стандарты, при отсутствии научного обоснования риска жизни или здоровью человека, животных или растений в соответствующей части применяются международные стандарты.

Национальные интересы и приоритетные направления обеспечения биологической безопасности республики в области ветеринарной деятельности заключаются в минимизации внешних и внутренних угроз по заносу и распространению заразных болезней животных.

В целях недопущения заноса и распространения заразных болезней в республике, в первую очередь, организовано проведение комплекса организационно-хозяйственных и ветеринарно-санитарных мероприятий. Ввоз товаров, подконтрольных государственной ветеринарной службе, осуществляется в соответствии с требованиями, определенными Решением Комиссии Таможенного союза от 18 июня 2010 г. № 317 «О применении ветеринарно-санитарных мер в Евразийском экономическом союзе». При необходимости, в случае угрозы заноса заразных болезней, вводятся временные ограничения на ввоз определенного перечня товаров из неблагополучных по заразным болезням стран (регионов).

С целью контроля ввоза подконтрольной продукции на территорию Республики Беларусь из третьих стран Департаментом, по установившейся практике, осуществляется выдача разрешений на ввоз таких товаров с учетом эпизоотического благополучия страны-импортера и проводится ветеринарный контроль на таможенной границе Евразийского экономического союза. Государственной ветеринарной службой проводится ветеринарно-санитарная экспертиза животноводческой продукции.

В целях оценки рисков по здоровью животных и раннего обнаружения заразных болезней животных проводится пассивный надзор, включающий мониторинг информации на сайте МЭБ; сбор информации из доступных средств массовой информации (отечественных и зарубежных); опросы населения, егерей, охотников на предмет смертности животных, численности популяции, миграций диких животных; организация системы оповещения ветеринарных служб об обнаружении трупов павших животных и их останков; организация проведения патологоанатомического вскрытия трупов павших животных; клинический осмотр животных; отбор образцов материала для диагностических исследований; другие эпизоотологические наблюдения [2, 3].

В целях организации активного надзора по особо опасным заразным болезням животных в республике ежегодно утверждается приказом Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь и выполняется Программа проведения мониторинга в области ветеринарии в целях изучения эпизоотической ситуации, оценки эффективности и полноты проведения ветеринарных мероприятий (вакцинаций).

В республике имеется и, в основной массе, оснащена сеть ветеринарных лабораторий, вовлечённых в скрининг заразных болезней.

Ветеринарные лаборатории имеют возможность (оснащены необходимым оборудованием, обеспечены специально обученным персоналом и диагностическими средствами) проводить исследования методами, рекомендованными МЭБ.

Ежегодно ветеринарные лаборатории участвуют обучающих семинарах, международных конференциях, тренингах, а также в программах по проверке квалификации как внутри республики (между ГУ «Белорусский государственный ветеринарный центр» и ветеринарными лабораториями республики), так и в международных сличительных исследованиях.

Ежегодно разрабатывается и выполняется план противоэпизоотических мероприятий, предусматривающий проведение плановых диагностических исследований и вакцинаций животных. В целях защиты здоровья животных в соответствии со схемами лечебно-профилактических мероприятий проводится плановая иммунизация, в том числе птицы против болезни Ньюкасла, свиней - против классической чумы и др.

В целях своевременного принятия мер по недопущению заноса и распространения заразных болезней животных, локализации очагов заразных болезней в республике создан резерв ветеринарных препаратов.

Для систематизации принимаемых мер обеспечена реализация утвержденных на уровне Правительства комплексных планов мероприятий по предотвращению возникновения и распространения отдельных инфекционных заболеваний (в 2021- 2022 гг. утверждены Комплексный план по предупреждению распространения COVID-19 в Республике Беларусь, Комплексный план мероприятий по профилактике бешенства в Республике Беларусь в 2021-2025 годах, Комплексный план по профилактике гриппа птиц). Реализация комплексных планов позволит распределять

функции и полномочия государственных органов и организаций в области обеспечения биологической безопасности, а также усовершенствовать координацию их деятельности.

На государственном уровне определены 36 пунктов пропуска через Государственную границу Республики Беларусь, в которых государственными контрольными органами осуществляется санитарно-карантинный контроль лиц, подконтрольных товаров и грузов с целью минимизации риска международного распространения заболеваний, имеющих международное значение, а также предотвращения оборота потенциально опасных для жизни и здоровья населения товаров и грузов [3].

Однако, не смотря на имеющиеся и используемые подходы по обеспечению биологического благополучия страны, в работе ветеринарной службы, необходимо усовершенствовать и дополнить стратегию обеспечения биологической безопасности республики по следующим направлениям:

1. Организация разработки и внедрения информационно- и прогнозно-аналитических систем обеспечения биобезопасности;

2. Организация системы осведомленности общественности по вопросам биологической безопасности, в том числе обратной связи и информировании населением компетентных органов при возникновении потенциальных угроз и заинтересованности населения в обеспечении биологической безопасности;

3. Интеграция и обмен информацией, технологиями оценки и прогнозирования развития биологических рисков и угроз в рамках международных объединений и организаций; расширение международного сотрудничества по вопросам биологической безопасности, в том числе для повышения уровня компетентности специалистов, совершенствования и модернизации работы диагностических лабораторий, создание референс-центров и центров по контролю заболеваний;

4. Обеспечение и регулярное проведение мониторинга за возбудителями, векторами и природными очагами новых и возвращающихся инфекций, в том числе общих для человека и животных;

5. Модернизация и внедрение отечественных технологий производства диагностических и иммунобиологических средств, а также разработка новых современных средств и методов диагностики, специфической профилактики и лечения заразных болезней.

Заключение. Обеспечение биологической безопасности страны возможно и зависит не только лишь от добросовестной работы ветеринарной службы, службы Министерства здравоохранения либо Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды, ученых и работников лабораторий. Только целенаправленная, ответственная и согласованная работа всех профильных ведомств при участии и поддержке руководства республики, при участии и небезразличном отношении каждого гражданина страны способна обеспечить достаточный уровень не только биологической безопасности, но и Национальной безопасности Республики Беларусь в целом.

Литература:

- [1]. Арчаков, В.Ю., Баньковский, А.Л., Савков, П.И. Обеспечение биологической безопасности в контексте современных вызовов и угроз: анализ зарубежных и отечественных практик // Новости медико-биологических наук. – 2021. – Т. 21. - № 4. – С. 5-21.
- [2]. Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://pravo.by/>. – Дата доступа: 26.09.2021.
- [3]. Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.mshp.gov.by/>. – Дата доступа: 26.09.2021.
- [4]. ГОСТ 22.0.04-97 Безопасность в чрезвычайных ситуациях. Биолого-социальные чрезвычайные ситуации. Термины и определения / Электронный фонд правовых и нормативно-технических документов [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200009375>. – Дата доступа: 06.06.2022.
- [5]. О концепции национальной системы обеспечения биологической безопасности. Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 22 марта 2022 г. № 161// Национальный правовой Интернет – портал Республики Беларусь, 25.03.2022, 5/50052.

A.M. SUBOTSIN¹, I.I. SMILHIN², I.A. DAROUSKIKH³, I.A. SUBOTSINA⁴

WORK OF THE VETERINARY SERVICE WITHIN THE FRAMEWORK OF ENSURING THE BIOLOGICAL SAFETY OF THE REPUBLIC OF BELARUS

¹Vitebsk Regional Executive Committee,

²Ministry of Agriculture and Food of the Republic of Belarus,

³Vitebsk Regional Veterinary Laboratory,

⁴Vitebsk Order "Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

Summary

The article presents data on the specifics of the work of the veterinary service in the framework of ensuring the biological safety of the Republic of Belarus. The main biological risks in the agricultural sector are listed in the strategic directions "Biological safety of animals" and "Biological safety of plants", the main directions of the work of the veterinary service to reduce biological risks, prevent the development of emergency situations in the biological sphere are shown.

Working on the concept of National biological safety, the veterinary service identified the main biological threats and their sources, identified the main national interests and areas of work to ensure biological safety, identified indicators and criteria for assessing the state of biological safety. National interests and priority areas for ensuring the biological safety of the republic in the field of veterinary activities are to minimize external and internal threats to the introduction and spread of contagious animal diseases.

In order to prevent the introduction and spread of infectious diseases in the republic, first of all, a complex of organizational, economic, veterinary and sanitary measures has been organized.

In order to control the import of controlled products into the territory of the Republic of Belarus from third countries, the Department, according to established practice, issues permits for the import of such goods, taking into account the epizootic well-being of the importing country and conducts veterinary control at the customs border of the Eurasian Economic Union. The State Veterinary Service conducts a veterinary and sanitary examination of livestock products.

In order to assess animal health risks and early detection of contagious animal diseases, passive surveillance is carried out,

The work of the veterinary service is carried out in accordance with international standards established by the Terrestrial Animal Health Code of the World Organization for Animal Health. The authors of the article gave an explanation of the main legal regulations, acts, laws, international standards and other provisions, according to which the work of the veterinary service is carried out, including the provision of biological safety.

Thus, the article describes in detail and consistently the role and actions of the veterinary service of the Republic of Belarus within the framework of the national system for ensuring biological safety.

Key words: biosafety, veterinary medicine, Ministry of Agriculture, risks, threats, national interests.

УДК 504.06: 575.856 (476) (047.31)

Г.В.МОЗГОВА¹, А.В.КИЛЬЧЕВСКИЙ¹, А.Н.ОСТРОВСКАЯ¹,
Т.В.ЖЕЛЕЗНОВА², Н.И.ДРОБОТ¹, В.С.ОСТАПЧИК¹, А.М.КРИВЕЦКАЯ¹

МЕТОДИКА ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ БЕЗОПАСНОСТИ В ОТНОШЕНИИ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫХ ОРГАНИЗМОВ

¹Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь;

²Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь,
Минск, Беларусь

По состоянию на 2022 г. в отдельных странах мира были разрешены для выращивания в окружающей среде и использования в хозяйственной деятельности 438 генно-инженерных линий 33 видов растений; в замкнутых системах, исключая контакт с окружающей средой, находятся генно-инженерные микроорганизмы, используемые для производства лекарств, БАД, пищевых веществ; за последние пять лет были одобрены для использования в хозяйственной деятельности несколько генно-инженерных животных. С целью выявления рисков генно-инженерных организмов (ГИО) перед регистрацией нового генно-инженерного сорта растения, породы животного, штамма микроорганизма должна быть проведена оценка рисков: выявление и оценка потенциального неблагоприятного воздействия генно-инженерных организмов на сохранение и устойчивое использование биологического разнообразия в потенциальной принимающей среде и оценка рисков здоровью человека. В статье рассматривается методика оценки рисков ГИО, разработанная для концепции национальной системы обеспечения биологической безопасности.

Ключевые слова: генно-инженерные организмы, ГИО, генная инженерия, генно-инженерная деятельность, ГИД, оценка риска

На международном уровне правовое регулирование безопасности современных биотехнологий и генно-инженерных организмов определяют Конвенция о биологическом разнообразии от 5 июня 1992 г [1] и Картахенский протокол по биобезопасности к данной Конвенции от 29 января 2000 г [2]. Цель указанных международных договоров состоит в формировании правовых основ охраны биологического разнообразия от потенциальных угроз, представляемых генно-инженерными организмами (ГИО; синоним – живые измененные организмы, ЖИО в соответствии с определением Картахенского протокола по биобезопасности), произведенными с помощью современных биотехнологий. В данном контексте используется узкая трактовка термина «биобезопасность», которая рассматривается только как безопасность деятельности, осуществляемой с использованием методов генной инженерии в целях создания ГИО.

В 2006 г. в Республике Беларусь принят «Закон о безопасности генно-инженерной деятельности» [3], в рамках которого определены основные правовые и организационные механизмы, разработана система мер для выявления, мониторинга и контроля ГИО от момента их создания, работ с ними в замкнутых системах, высвобождения в окружающую среду и использования в хозяйственных целях.

Обеспечение биологической безопасности может включать обширный круг рисков, обусловленных опасными биологическими факторами, как естественной природы, так и связанных с профессиональной деятельностью человека [4]. В настоящее время к глобальным рискам в первую очередь относятся: угрозы естественного или преднамеренного распространения опасных инфекционных агентов, некорректное использование современных возможностей генной инженерии и синтетической биологии, достижений фундаментальной биологической науки (прежде всего геномных и постгеномных исследований), а также распространение инвазивных видов растений и животных.

Основными объектами в рамках реализации стратегического направления «Генетическая безопасность» являются: ГИО, включая неразрешенные ГИО и ГИО не прошедшие оценку рисков, ГИО с высоким потенциалом распространения в окружающей среде и инвазивности, ГИО полученные методами синтетической биологии и отдельных направлений геномного редактирования;

расшифрованные последовательности геномов организмов, которые могут быть использованы для создания товаров двойного назначения.

На рисунке 1 представлены основные компоненты процесса оценки рисков согласно [5]. По мере получения на каждом из этапов результатов и появления новой информации предусматривается пересмотр результатов определенных этапов оценки рисков, как показано при помощи жирных и двунаправленных стрелок на рисунке 1. Наличие рамки вокруг этапов 2 и 3 указывает на то, что данные этапы могут иногда рассматриваться одновременно или в обратном порядке. Пунктирные стрелки используются для указания последовательности рассмотрения вопросов вне рамок процесса оценки рисков.

Отправной точкой оценки рисков (стадия планирования оценки рисков, рисунок 1) является определение ее контекста и сферы действия, соответствующих конечным стратегиям и целям защиты.

Данный процесс может включать обмен информацией и консультации с участием экспертов по оценке рисков, лиц, ответственных за принятие решений и других заинтересованных сторон до проведения собственно оценки рисков с целью установления целей защиты, конечных объектов оценки и порогов риска, актуальных для данной оценки. В ходе этого процесса могут выявляться актуальные для рассматриваемого случая вопросы, которые следует задать в процессе оценки риска. После этого этапа проводятся остальные этапы оценки рисков.

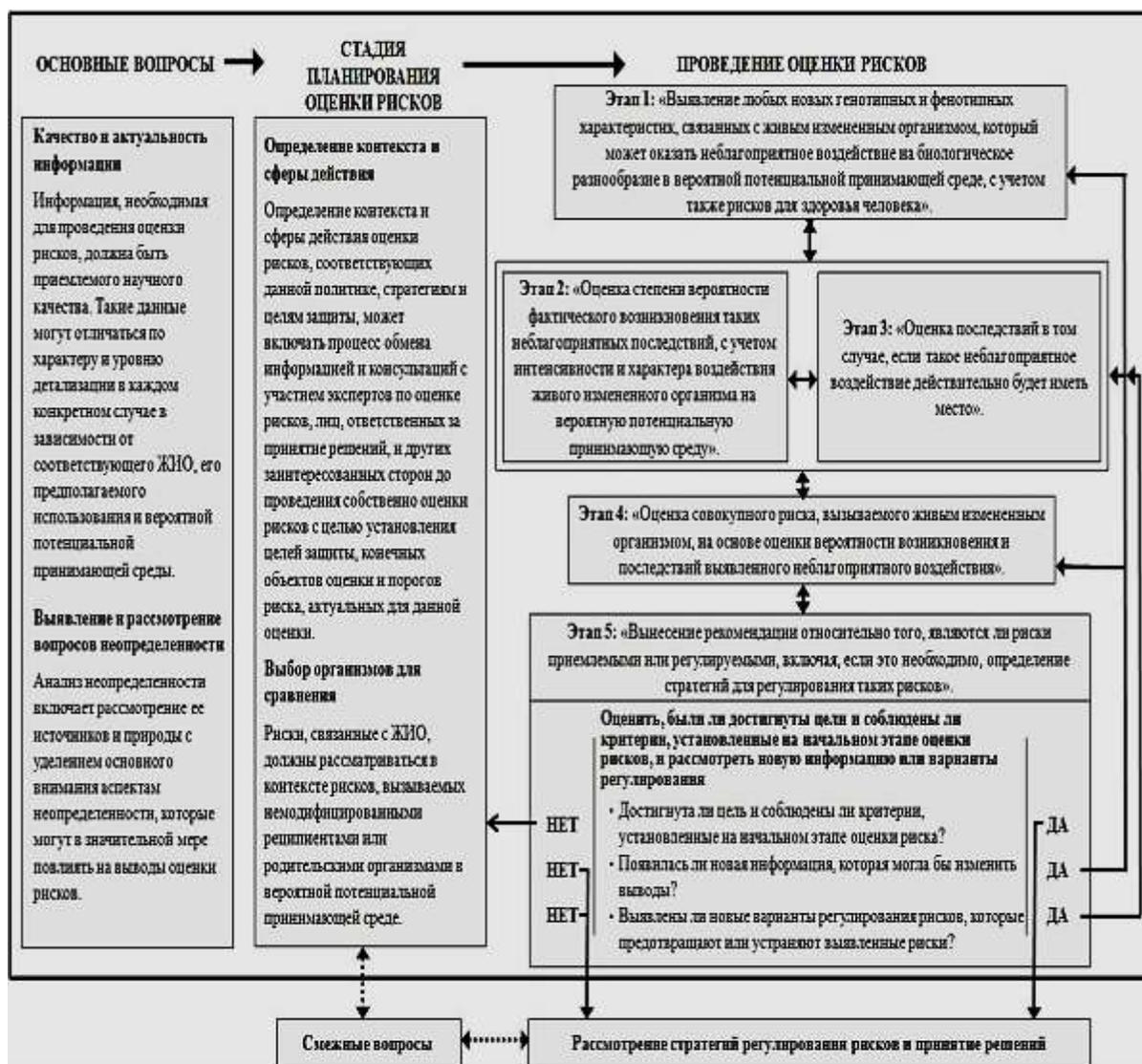


Рис. 1. Блок-схема процесса оценки рисков [5].

Критериями отбора при выявлении рисков ГИО или организмов, разработанных методами генной инженерии являются: актуальность угрозы, вероятность её возникновения; вероятность воздействия на здоровье человека; вероятность воздействия на объекты окружающей среды; тяжесть последствий для здоровья человека; тяжесть последствий для объектов окружающей

среды; наличие методов выявления и мониторинга угрозы; наличие мер управления рисками, надзора и контроля; наличие средств защиты от угрозы; наличие механизмов возмещения ущерба.

Совокупный риск, определенный на основании оценки отдельных рисков, описывается качественными показателями: высокий риск, средний риск или низкий риск.

Средний и высокий риски определяют организацию соответствующих стратегий лечения и/или контрольных мер регулирования ГИО.

Оценка рисков и угроз, которые могут представлять ГИО, их критериев и индикаторов, должна основываться на существующей национальной и общепризнанной международной методологии оценки экологических рисков и рисков для здоровья человека, а также на основе нормативно-правовых актов Республики Беларусь в сфере обеспечения безопасности генно-инженерной деятельности.

О величине потенциального отрицательного влияния ГИО судят на основании уровней рисков (оценочных показателей), определенных в статье 13 Закона Республики Беларусь № 96-З «О безопасности генно-инженерной деятельности» [6]:

первый уровень риска – работа с непатогенными генно-инженерными организмами;

второй уровень риска – работа с условно патогенными генно-инженерными организмами;

третий уровень риска – работа с патогенными генно-инженерными организмами, способными вызывать опасные инфекционные заболевания и распространять инфекцию, для которых имеются эффективные меры профилактики и лечения;

четвертый уровень риска – работа с патогенными генно-инженерными организмами, которые являются возбудителями особо опасных инфекционных заболеваний, обладающих способностью быстро распространяться, и для которых неизвестны эффективные меры профилактики и лечения.

Необходимо принимать во внимание, что по национальному законодательству работы с ГИО, относящимся ко второму – четвертому уровням рисков, проводятся только в замкнутых системах, исключающих их высвобождение в окружающую среду либо взаимодействие с окружающей средой. Под замкнутой системой в соответствии с [6] следует понимать систему, в которой осуществляются работы с ГИО, оснащенная необходимым специальным оборудованием и устройствами, исключающими контакт ГИО с окружающей средой и воздействие на неё. Таким образом, к таким организмам применяются не оценка рисков, а меры контроля и надзора, направленные на исключение их непреднамеренного и преднамеренного высвобождения в окружающую среду из замкнутой системы. Они определены в Постановлении Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 21 июня 2019 г. № 61 и в Инструкциях к данному Постановлению [7].

К организмам первого уровня риска, которые находятся на стадии разработки в лабораторных условиях и не прошли государственную процедуру оценки рисков, проводимую перед первым высвобождением ГИО в окружающую среду для испытаний либо перед использованием в хозяйственной деятельности, применяются меры контроля, определенные в Постановлении Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь от 17 августа 2006 г. № 50 и Постановлении Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь от 17.08.2006 № 51 [8, 9]. Для таких организмов согласно Постановлению Совета Министров от 12 июля 2019 г. №382 «Об оценке рисков в генно-инженерной деятельности и выдаче разрешительного документа» должны быть разработаны методы детекции, которые в последующем позволят осуществлять их мониторинг при непреднамеренном и преднамеренном высвобождении [10].

Основываясь на международном и национальном опыте Национальным координационным центром биобезопасности, была разработана методика по оценке рисков воздействия ГИО на сохранение и устойчивое использование биологического разнообразия, с учетом рисков для здоровья человека. Данная методика была апробирована при анализе 10 заявок на оценку рисков от организаций-разработчиков ГИО организациями, уполномоченными проводить оценку рисков возможных вредных воздействий генно-инженерных организмов на здоровье человека и окружающую среду, необходимую для одобрения высвобождения ГИО в окружающую среду либо для использования в хозяйственной деятельности [11 – 13].

Для проведения оценки рисков ГИО, экспертами принимаются во внимание существенно важные научные данные, касающиеся:

1. Признаков немодифицированного организма-реципиента или родительских организмов. Особое внимание уделяется биологическим характеристикам реципиента, у которого при изменении генома могут произойти изменения в синтезируемых веществах либо признаках, что может повлечь

за собой неблагоприятное воздействие. Организация экономического сотрудничества и развития (Organisation for Economic Co-operation and Development, OECD) разработала консенсусные документы по биологическим признакам и композиционным свойствам для определенных видов организмов [14], которые могут использоваться в процессе анализа.

2. Генетической модификации (модификаций) – вставки или делеции генетического материала, и сопутствующей информации о векторе и доноре, включая информацию о том, приведет ли использование метода трансформации к присутствию вектора (части вектора) в ГИО.

3. Описания всех встраиваемых генов и любых последовательностей (целевой ген, селективный ген, все регуляторные и др. встраиваемые области), так как существует вероятность возникновения непреднамеренных эффектов вставки.

4. Информации о методе трансформации. Для агробактериальной трансформации требуется описание донорного штамма и любой плазмиды, содержащейся в нем; отсутствие агробактериальной контаминации (например, трехступенчатая методика скрининга с применением бактериологической индикаторной среды), ПЦР на наличие гена *VirG*, находящегося вне области переносимой Т-ДНК; для прямой трансформации – включает доказательство отсутствия загрязняющих последовательностей хромосомной ДНК бактерий или других плазмидных ДНК или векторных последовательностей.

5. Молекулярных характеристик ГИО, относящихся к модификации: например, сайты встраивания, число копий вставки, стабильность, целостность и геномная организация реципиента, специфика генетических элементов (например, факторы транскрипции), уровни экспрессии генов, преднамеренные и непреднамеренные генные продукты.

Разработчики должны доказать, что встроенная последовательность соответствует последовательности вставки, которую предполагали трансформировать. Данные о фланкирующих последовательностях необходимы, поскольку могут выявить вставку, разрыв известных открытых рамок считывания (Open Reading Frame, ORF) или регуляторных областей, а также увеличивают вероятность синтеза новых химерных белков в результате вставки. В случае выявления потенциальных химерных ORFs необходимо проведение биоинформатического анализа для установления возможного сходства с известными токсинами и аллергенами [15]. В зависимости от полученной информации, может потребоваться дополнительный анализ для оценки риска. Например, транскрипционный или трансляционный анализ для выявления, синтезируются ли новые белки.

6. Биологических особенностей ГИО. Основное внимание уделяется преднамеренным или непреднамеренным генотипическим и фенотипическим изменениям в ГИО, которые, по сравнению с немодифицированными реципиентами (родительскими организмами), могут привести к неблагоприятному воздействию.

Данные для проведения детального сравнительного анализа могут быть получены из различных источников в зависимости от вида ГИО и масштабов высвобождения. Экспериментальные данные получают при выращивании ГИО в климокамерах, теплицах, также могут использоваться данные более ранних полевых высвобождений. Полевые испытания проводят в различных условиях окружающей среды, представляющих условия каждой принимающей среды, в которой будет производиться коммерческое высвобождение.

В сравнительном анализе используются базы данных по молекулярно-генетическим и химическим анализам, токсикологическим и аллергологическим тестам [16].

Данные о коммерческом высвобождении идентичных ГИО в различных условиях окружающей среды для сравнения могут быть получены от Механизма посредничества к Картахенскому протоколу по биобезопасности (Biosafety Clearing House, BCH) [17].

7. Целей высвобождения или использования и масштабов высвобождения, что может определить дальнейшие стратегии регулирования рисков.

8. Потенциальной принимающей среды, включая информацию о возможности приобретения устойчивости целевых организмов к новому признаку ГИО, направленному против них (например, вероятность приобретения устойчивости сорняков к гербициду).

9. Взаимодействия между ГИО и вероятной потенциальной принимающей средой, которые могут оказать неблагоприятное воздействие. Учитываются жизнестойкость и инвазивность ГИО, возможность вертикального и горизонтального переноса генов в принимающей среде; возможное неблагоприятное воздействие на нецелевые организмы (токсичность, аллергенность, мультитрофное воздействие), приводящее к изменению биогеохимических характеристик принимающей среды.

Поскольку каждое новое изменение генома, приводящее к разработке ГИО, является уникальным, при оценке рисков ГИО руководствуются основным принципом – принципом предосторожности: оценка рисков должна осуществляться на индивидуальной основе с учетом потенциальной среды высвобождения ГИО. Требуемая информация может отличаться по характеру и уровню детализации в каждом конкретном случае в зависимости от видовой принадлежности ГИО, его предполагаемого использования (лабораторные условия, полевые испытания, выпуск на рынок) и вероятной потенциальной принимающей среды (например, наличие диких родственников, видов-мишеней, видов, находящихся под угрозой исчезновения и т.д.).

На сегодняшний день не существует универсального общепринятого подхода для оценки совокупного риска, скорее используется целый ряд подходов, доступных для реализации этой цели (например, наилучшая оценка риска, в которой учитываются разнообразные показатели). Эти показатели могут быть качественно или количественно взвешены и объединены с помощью матриц риска, индексов риска или моделей (таблица 1).

Описание риска:

1. Минимальный – риск незначителен и нет необходимости в проведении мероприятий по борьбе с последствиями,
2. Неопасный – риск минимален, но могут потребоваться более серьезные действия по его минимизации по сравнению с установленными,
3. Средний – выраженный риск, который потребует эффективных мер по его минимизации,
4. Высокий – недопустимый риск, пока не будут разработаны подходящие эффективные меры по его минимизации.

Основное правило – средний и высокий риски определяют организацию соответствующих стратегий лечения или контрольных мер регулирования.

Совокупный риск любого ГИО или организма, полученного методами генной инженерии, устанавливается на основании оценки следующих наиболее критических индикаторов:

1. является ли ГИО объектом незаконного трансграничного перемещения;
2. является ли ГИО объектом непреднамеренного трансграничного перемещения;
3. подтверждено ли, что ГИО высвобожден в окружающую среду;
4. характеристик ГИО;
5. существуют ли методы мониторинга, контроля и возмещения ущерба.

Данные индикаторы могут быть использованы в качестве оценочной шкалы (ответ на каждый вопрос – «да», «нет», «неизвестно») экспертами, проводящими оценку рисков ГИО, органами контроля и надзора, таможенных служб и другими уполномоченными организациями для определения совокупного риска ГИО и принятия мер по отношению к нему. Необходимо отметить, что ответ «неизвестно» говорит о том, что в отношении данного индикатора нет сведений и, если такой индикатор критичен (например, неизвестно проявляет ли организм токсические или аллергенные свойства, разработаны ли методы мониторинга, контроля или обезвреживания), к такому организму применяется принцип предосторожности, и уровень совокупного риска повышается, пока не будет доказана его безопасность или не появятся сведения по пунктам 1-5 индикаторов.

В Таблице 2 представлен пример оценки уровней совокупного риска, разработанный для концепции национальной системы обеспечения биологической безопасности, которая утверждена постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 22 марта 2022 года № 161: ГИО перемещен незаконно, при детекции организма методом ПЦР выявлено, что он является неразрешенным ГИО, проявляет аллергенные свойства и также является инвазивным видом. К нему не разработаны методы обезвреживания, неизвестны инструкции по использованию и методы, гарантирующие биологическую безопасность, не известно разработаны ли планы ликвидационных мероприятий в случае возникновения чрезвычайной ситуации (ЧС) вследствие незапланированного высвобождения и нет механизма возмещения ущерба. На основании анализа уровней совокупного риска определено, что риск – высокий.

Табл. 1. Тяжесть и вероятность наступления риска и классификация его уровней, цитировано по [18]

		Вероятность				
		Частый	вероятный	редкий	крайне редкий	мало-вероятный
		A	B	C	D	E
Тяжесть	Катастрофический	I	крайне высокий			
	Критический	II		высокий		
	Средний	III		средний		
	Незначительный	IV	Низкий			
Уровень риска						

Табл. 2. Оценка уровней совокупного риска (внутреннего и внешнего) для индивидуальных ГИО или организмов, разработанных методами генной инженерии, для помощи принятия решения по таким организмам экспертами по оценке рисков и органами, производящими мониторинг, надзор и контроль ГИО¹

Незаконное трансграничное перемещение	Непреднамеренное трансграничное перемещение	Подтверждено, что организм высвобожден в окружающую среду	Характеристика ГИО/ синбио организма								Методы мониторинга и контроля, возмещения ущерба				
			Неразрешенный ГИО	Патоген или условный патоген	Инвазивный организм	Проявляет токсические свойства	Проявляет аллергенные свойства	Проявляет другие свойства, которые могут повлечь	Проявляет свойства, которые могут повлечь исчезновение редких видов растений и животных в среде	Проявляет свойства, которые негативно повлияют на целевые	Способен усилить инвазивный потенциал либо другие отрицательные свойства диких родственных видов	Разработан метод детекции	Разработан метод обезвреживания	Есть контрольный организм	Разработаны инструкции по использованию ГИО/ методы,
Да	Нет	Не известно	Да	Да	Да	Нет	Да	Не известно	Да	Не известно	Нет	Да	Не известно	Не известно	Нет

Тщательный анализ действующего законодательства и международных подходов к регулированию сферы биологической безопасности, включая многосторонние международные соглашения, показал, что для совершенствования национальной системы обеспечения биобезопасности может быть успешно применен комплексный подход, включающий адаптацию зарубежного опыта и имеющегося технического нормативно-правового регулирования в Республике Беларусь. Разработана методика оценки рисков ГИО, включенная концепцию национальной системы обеспечения биологической безопасности, которая может быть использована для оценки рисков ГИО и принятия решения по ним органами государственного управления и иными организациями в области безопасности генно-инженерной деятельности.

Литература

- [1]. The Convention on Biological Diversity [Электронный ресурс] / Режим доступа: <https://www.cbd.int/intro/>. – Дата доступа: 08.06.2022.
- [2]. Картахенский протокол Организации Объединенных Наций по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии [Электронный ресурс] : [заключен в г. Монреале 29.01.2000 г.] // ilex. Республика Беларусь / ООО «Юрспектр». Нац. центр правовой информ. Респ. Беларусь. – Минск, 2016-2021.

¹ Ответ: “да”, “нет” или “неизвестно”; уровень риска определяется на основании совокупности ответов (высокий, средний или низкий);

² организмы, на которые не направлено действие продукта ГИО;

³ для ГИО в замкнутых системах.

- [3]. О безопасности генно-инженерной деятельности [Электронный ресурс] : Закон Респ. Беларусь от 9 янв .2006 г., № 96-З : в ред. Закон Респ.Беларусь от 18.12.2018 г. // iLex. Республика Беларусь / ООО «Юрспектр». Нац. центр правовой информ. Респ. Беларусь. – Минск, 2016-2021.
- [4]. О концепции национальной системы обеспечения биологической безопасности. Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 22 марта 2022 г. № 161 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: 09.06.22.
- [5]. Guidance of risk assessment of living modified organisms [Электронный ресурс] / Режим доступа: <https://www.cbd.int/doc/meetings/bs/mop-08/official/bs-mop-08-08-add1-en.pdf/>. – Дата доступа: 09.06.2022.
- [6]. О безопасности генно-инженерной деятельности [Электронный ресурс] : Закон Респ. Беларусь от 9 янв .2006 г., № 96-З : в ред. Закон Респ.Беларусь от 18.12.2018 г. // iLex. Республика Беларусь / ООО «Юрспектр». Нац. центр правовой информ. Респ. Беларусь. – Минск, 2016-2021.
- [7]. Постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 21 июня 2019 г. № 61 «Об изменении постановления Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 25 августа 2006 г. № 65» – [Электронный ресурс] / Национальный центр правовой информации Республики Беларусь. – Режим доступа: <https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=W21934376&p1=1&p5=0>. – дата доступа: 09.06.22.
- [8]. Постановлении Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь от 17 августа 2006 г. № 50 «О требованиях безопасности к замкнутым системам при осуществлении работ первого уровня риска генно-инженерной деятельности» – [Электронный ресурс] / Национальный центр правовой информации Республики Беларусь. – Режим доступа: <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/blr164957.pdf>.- дата доступа: 09.06.22.
- [9]. Постановление Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь от 17 августа 2006 г. № 51 «О порядке учета юридическими лицами и индивидуальными предпринимателями созданных ими и вывозимых из Республики Беларусь непатогенных генно-инженерных организмов» [Электронный ресурс] / Национальный координационный центр биобезопасности. – режим доступа: <https://biosafety.igc.by/wp-content/uploads/2021/01/26Minprirody-51.-Red.-12.-2019-g.pdf>. – Дата доступа: 09.06.22.
- [10]. Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 12 июня 2019 г. № 382 «Об оценке рисков в генно-инженерной деятельности и выдаче разрешительного документа» – [Электронный ресурс] / Национальный координационный центр биобезопасности. – режим доступа: <https://biosafety.igc.by/wp-content/uploads/2021/01/08Postanovlenie-Sov-Mina-382-2.pdf>. – Дата доступа: 09.06.22.
- [11]. «Руководство по оценке рисков в отношении живых измененных организмов» Механизма посредничества к Картаженскому протоколу по биобезопасности // Электронный ресурс. Режим доступа: <http://www.cbd.int/doc/meetings/bs/mop-06/official/mop-06-13-add1-ru.pdf>. – Дата доступа: 09.06.22.
- [12]. Порядок проведения оценки риска возможных вредных воздействий генно-инженерных организмов на здоровье человека: Инструкция по применению / В.Г.Цыганков [и др.] // Утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь 25 августа 2006. – Регистрационный №076-0806. – Минск, 2006. – 15 с.
- [13]. Мозгова, Г.В. Оценка рисков воздействия ГМО на сохранение и устойчивое использование биологического разнообразия, с учетом рисков для здоровья человека. Методические рекомендации / Г. В. Мозгова ; ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси. – Согласовано с Минприроды Республики Беларусь 22.10.2014 г. № 3-2-11/ 1124 – вн. – Минск : Право и экономика, 2014. – 58 с.
- [14]. OECD (Organisation for economic co-operation ad development). Consensus documents for the work on harmonisation of regulatory oversight in biotechnology. – 2009. [Электронный ресурс] : веб-сайт OECD . – Режим доступа : http://www.oecd.org/document/51/0,3343,en_2649_3438_234617_1_1_1,00.html. – Дата доступа: 09.06.22.
- [15]. Ермишин А.П., Подлиских В.Е., Воронкова Е.В, Аношенко Б.Ю, Зарьков В.М. Биотехнология. Биобезопасность. Биозтика / под.ред. А.П. Ермишина. – Мн.: Тэхналогія, 2005. – 430 с.
- [16]. Risk assessment of food allergens part 1: review and validation of codex alimentarius priority allergen list through risk assessment. – 2022. // Электронный ресурс. Режим доступа: <https://www.fao.org/3/cb9070en/cb9070en.pdf>. – Дата доступа: 09.06.22.
- [17]. Вебсайт Механизма посредничества по биобезопасности Biosafety Clearing House // Электронный ресурс. Режим доступа: – <http://bch.cbd.int>. – Дата доступа: 09.06.2022.
- [18]. Biosafety resource book. C. Risk analysis / A. Sensi [et al.]. – Food and Agriculture Organization of the United Nations : Rome, 2011. – 82 p.

METHODOLOGY TO ASSESS THE NATIONAL SECURITY STATE WITH REGARD TO GENETICALLY ENGINEERED ORGANISMS

¹ *Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*

² *Ministry of Natural Resources and Environmental Protection of the Republic of Belarus, Minsk, Belarus*

Summary

As of 2022, in some countries across the globe, 438 genetically engineered lines of 33 plant species were allowed for cultivation in the environment and use in economic activity; in self-contained systems excluding contact with the environment, there are genetically engineered microorganisms used for the production of medications, dietary supplements, and food substances; over the past five years, several genetically engineered animals have been authorized for use in economic activity. In order to identify the risks of genetically engineered organisms (GEOs), before registering a new genetically engineered plant variety, an animal breed, and a microorganism strain, a risk assessment should be carried out – identification and assessment of a potential adverse effect of genetically engineered organisms on the conservation and sustainable use of biological diversity in the potential receiving environment and the assessment of risks to human health. The Article discusses the GMO risk assessment methodology developed for the concept of the national biological safety system.

УДК 608.3-047.36(476)

А.М. ДРОНИНА¹, А.Л. ЛЕШКЕВИЧ², И.А. СУББОТИНА³, Г.В. МОЗГОВА⁴,
Т.В. ЖЕЛЕЗНОВА⁹, И.А. ДАРОВСКИХ⁶, Е.С. НОСОВА¹, В.Ю. АРЧАКОВ¹⁰,
А.М. СУББОТИН⁷, П.И. САВКОВ¹⁰, В.А. ГОРБУНОВ¹,
М.О. ДОСИНА⁸, А.В. КИЛЬЧЕВСКИЙ⁵, А.А. ТАРАСЕНКО⁸

ОСНОВНЫЕ ТЕНДЕНЦИИ И НАЦИОНАЛЬНЫЕ ИНТЕРЕСЫ В ОБЛАСТИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ

¹Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Беларусь

²Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, Минск, Беларусь

³Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины, Витебск, Беларусь

⁴Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

⁵Национальная академия наук Беларуси, Минск, Беларусь

⁶Витебская областная ветеринарная лаборатория, Витебск, Беларусь

⁷Витебский областной исполнительный комитет, Витебск, Беларусь

⁸Министерство здравоохранения Республики Беларусь, Минск, Беларусь

⁹Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь, Минск, Беларусь

¹⁰Государственный секретариат Совета Безопасности Республики Беларусь, Минск, Беларусь

Авторами было дано обоснование необходимости выделения биологической безопасности в отдельную сферу Национальной безопасности Республики Беларусь, определено и обосновано понятие «биологическая безопасность», которое включено в национальную систему обеспечения биологической безопасности, утвержденную Постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 22 марта 2022 г. № 161, определены границы указанной междисциплинарной области, ее ключевых отличительных особенностей от иных сфер, предусмотренных концепцией национальной безопасности Республики Беларусь в соответствии с Указом Президента Республики Беларусь от 9 ноября 2010 года № 575.

Установлено, что обеспечение биологической безопасности осуществляется по следующим стратегическим направлениям, выделяемым в соответствии с основными сферами воздействия опасных биологических факторов: биологическая безопасность человека, биологическая безопасность животных, биологическая безопасность растений, генетическая безопасность, контроль инвазивных видов. Обоснованы основные тенденции и национальные интересы в области биологической безопасности для включения в концепцию национальной безопасности. Таким образом, статья дает общее представление о самом понятии и смысле биологической безопасности и показывает основные направления работы ответственных ведомств.

Ключевые слова: биологическая безопасность, опасный биологический фактор, концепция национальной системы обеспечения биологической безопасности, стратегические направления, национальные интересы в области биологической безопасности.

Введение. На формирование глобальных угроз биологической безопасности оказывает влияние множество факторов как естественного происхождения, так и преднамеренного, искусственного распространения. Активизация инфекций, как следствие естественных природных процессов, увеличивающееся количество трансграничных поездок, рост международной торговли, развитие биотехнологий, в том числе двойного назначения, региональные конфликты, терроризм усугубляют риски возникновения и глобального распространения опасных инфекционных заболеваний и других угроз биологического характера. Проблема противодействия этим угрозам приобретает все большее значение в современном мире. Пандемия COVID-19, заставила

международное сообщество пересматривать подходы к проблеме обеспечения биологической безопасности. Нестабильна ситуация по зоонозным и зооантропонозным природно-очаговым инфекциям: геморрагической лихорадке с почечным синдромом, лептоспирозу, туляремии, инфекциям, передаваемым клещами (Лайм-боррелиозу, энцефалиту и анаплазмозу) и другим, отмечаются случаи завоза «экзотических» лихорадок Денге, Чикунгуньи, регистрируются местные случаи лихорадки Западного Нила, продолжается распространение парентеральных гепатитов, ВИЧ - инфекции. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в период с 7 по 27 мая 2022 года выявлено более 550 случаях заражения оспой обезьян в 30 странах мира [1].

Преодоление в конце 2019 г. межвидового барьера очередным бета-коронавирусом в китайской провинции Хубэй привело к вспышке тяжелого острого респираторного заболевания COVID-19, стремительно переросшего в пандемию, что привело к серьезным последствиям и обострило проблему обеспечения биологической безопасности.

В последние годы в мире происходит бурное развитие генетических технологий, в том числе технологий получения генно-инженерных организмов – от редактирования существующих геномов до создания методами синтетической биологии искусственных клеток (организмов) с полностью новой синтетической ДНК. Организмы, разработанные методами генетической инженерии и синтетической биологии, могут нести благо для человечества, но не исключено возникновение отрицательных эффектов и проявлений, либо их использование как товаров двойного назначения.

Организационные основы обеспечения биобезопасности в Республике Беларусь на национальном и международном уровнях в достаточной мере урегулированы, созданы необходимая правовая база и специализированные структуры (государственные санитарно-эпидемиологическая и ветеринарная службы, государственная инспекция по семеноводству, карантину и защите растений, национальный координационный центр биобезопасности в области генно-инженерной деятельности) [2].

В Республике Беларусь существует законодательное регулирование отдельных направлений биологической безопасности, существуют органы законодательного управления и институты, занимающиеся мониторингом, надзором и контролем отдельных направлений деятельности. Однако до 2022 года в стране не было общепринятого и законодательно закрепленного понятия «биологическая безопасность». В настоящее время концепция национальной безопасности Республики Беларусь сформулирована в соответствии с Указом Президента Республики Беларусь от 9 ноября 2010 года № 575 (КНБ). Проблема биологической безопасности в рамках КНБ отдельно не рассматривается. Она подразумевается в составе демографической и экологической безопасностей. Это ведет к разобщенности в деятельности ведомств и отсутствию должной координации при планировании и осуществлении мероприятий обеспечения биобезопасности. В целях совершенствования всей системы обеспечения национальной безопасности необходимо включить в нее понятие «биологическая безопасность» с обоснованием основных тенденций и национальных интересов в данном направлении.

Цель исследования – обосновать понятие «биологическая безопасность», определить границы указанной междисциплинарной области, ее ключевых отличительных особенностей от иных сфер, предусмотренных КНБ, обосновать основные тенденции и национальные интересы в области биологической безопасности.

Материалы и методы. Анализ проведен с использованием он-лайн сервиса iLex ООО «Юрспектр» [3], Национального правового портала Республики Беларусь Pravo.by [4], он-лайн банка данных Национального координационного центра биобезопасности [5], веб-сайтов Министерства здравоохранения Республики Беларусь [6], Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь [7], Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь [8] и Белорусского института системного анализа (БелИСА) <http://belisa.org.by/ru/register> и др.

Результаты и их обсуждение. Определение понятия. В широком понимании обеспечение биологической безопасности может включать упреждение воздействия на здоровье человека, животных и окружающую среду, а также нейтрализацию обширного круга рисков, обусловленных опасными биологическими факторами как естественной природы, так и связанных с хозяйственной деятельностью человека. В настоящее время к глобальным рискам в первую очередь относятся: угрозы естественного или преднамеренного распространения опасных инфекционных агентов, некорректное использование современных возможностей геномной инженерии и синтетической

биологии, достижений фундаментальной биологической науки (прежде всего геномных и постгеномных исследований), а также распространение инвазивных видов растений и животных.

Проведенный анализ национального законодательства показывает, что термин «биологическая безопасность» не был утвержден ни в одном из Законов Республики Беларусь, которые регулируют противодействие глобальным рискам. В частности, различные определения термина «биологическая безопасность» приведены в действующих в Республике Беларусь межгосударственном стандарте «ГОСТ 22.0.04-97 Безопасность в чрезвычайных ситуациях. Биологосоциальные чрезвычайные ситуации. Термины и определения» [9], Санитарных нормах и правилах «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки» [10].

В этой связи, ключевым моментом является введение понятия «биологическая безопасность» в понятийно-категориальный аппарат концепции национальной системы обеспечения биологической безопасности, утвержденной постановлением Совета Министров Республики Беларусь 22 марта 2022 года № 161 (концепция) [11].

Смысловые значения терминов социальная, демографическая, экологическая и биологическая безопасности в определенной части близки, поскольку все они базируются на «обеспечении защищенности населения и окружающей среды от воздействия неблагоприятных биологических факторов, процессов и явлений природного и техногенного характера, а также внутренних и внешних угроз».

Вместе с тем, отличие термина «социальная безопасность» от термина «биологическая безопасность» заключается в наличии в его определении положения о «состоянии защищенности благосостояния и духовно-нравственных ценностей общества». Сутью термина «демографическая безопасность» является «защищенность общества и государства от демографических явлений и тенденций, социально-экономические последствия которых оказывают негативное воздействие на устойчивое развитие Республики Беларусь». Такими факторами, негативно влияющими на устойчивое развитие страны, могут быть (и являются) «патогенные биологические агенты» естественного и антропогенного происхождения. Сутью термина «экологическая безопасность» является «состояние защищенности окружающей среды, жизни и здоровья граждан от угроз, возникающих в результате антропогенных воздействий, а также факторов, процессов и явлений природного и техногенного характера», что в определенной части совпадает с определением термина «биологическая безопасность». Отличительной чертой термина «биологическая безопасность» является то, что в нем указывается на «защищенность от воздействия опасных биологических факторов».

Таким образом, в соответствии с концепцией [11] биологическая безопасность – состояние защищенности населения, животных и растений, окружающей среды от воздействия опасных биологических факторов, при котором обеспечивается допустимый уровень биологического риска. Ключевое отличие заключается в том, что ни в одном из понятий не рассматривается воздействие опасных биологических факторов (воздействие патогенных биологических агентов и иных организмов, в том числе созданных методом геномной инженерии и синтетической биологии) на состояние защищенности населения, животных и растений, окружающей среды (здоровье человека, животных, растений, продукция животного и растительного происхождения и (или) окружающая среда).

В рамках понятийно-категориального аппарата «биологическая безопасность» наиболее близким к выделенным стратегическим направлениям является определение, принятое в Федеральном Законе Российской Федерации от 25 декабря 2020 г. «О биологической безопасности в Российской Федерации» [12], которое было рассмотрено и адаптировано для целей КНБ.

Концепцией установлено, что обеспечение биологической безопасности осуществляется по следующим стратегическим направлениям, выделяемым в соответствии с основными сферами воздействия опасных биологических факторов: биологическая безопасность человека, биологическая безопасность животных, биологическая безопасность растений, генетическая безопасность, контроль инвазивных видов.

В Республике Беларусь сформирована государственная система реагирования на ЧС, в том числе санитарно-эпидемиологического характера, ведется планомерная работа по укреплению ее потенциала. В состав данной системы входят профильные министерства и ведомства. Преобладающая доля вопросов биологической безопасности относится к компетенции лишь

нескольких профильных ведомств – Министерства здравоохранения (Минздрав), Министерства сельского хозяйства и продовольствия (Минсельхозпрод), Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды (Минприроды).

Минздравом сформирована отраслевая подсистема реагирования на чрезвычайные ситуации в области обеспечения биологической безопасности, которая функционирует при тесном взаимодействии профильных научно-практических учреждений и специализированных служб – государственной санитарно-эпидемиологической службы и службы экстренной медицинской помощи. Специфика деятельности Минздрава в области биобезопасности, прежде всего, связана с функционированием системы эпидемиологического слежения, обеспечением противоэпидемического режима работы с материалом, зараженным или подозрительным на зараженность возбудителями 1-4 групп риска.

Специфика деятельности Минсельхозпрода в области биобезопасности, прежде всего, связана с двумя сферами – ветеринарией, а также карантин и защитой растений от вредителей, болезней и сорняков. По оценке ведомства, правовые и организационные меры в области защиты сельскохозяйственных животных и растений в достаточной мере урегулированы, создана необходимая правовая база и специализированные структуры – государственная ветеринарная служба и главная государственная инспекция по семеноводству, карантину и защите растений. В дополнение к этому в сфере ветеринарии параллельно с комиссией по чрезвычайным ситуациям (КЧС) на уровне Правительства почти десятилетие действует профильный межведомственный координационный орган – Республиканский штаб по принятию экстренных мер по ликвидации африканской чумы свиней и других опасных болезней животных под председательством вице-преьера, что свидетельствует об опыте и уровне организации ветеринарных мероприятий в стране.

В рамках компетенции Минприроды отдельные вопросы биобезопасности регулируются Законом об охране окружающей среды и Законом об обращении с отходами, согласно которому вводится понятие «опасные отходы» (в т.ч. биологически опасные вещества), а также предусматривается разработка классификатора отходов, и совместно с Минздравом и МЧС определяется порядок установления степени их опасности (в т.ч. на основе свойств токсичности и инфекционности). Вместе с тем, специфика деятельности Минприроды (как и Минлесхоза) в области охраны окружающей среды предопределяет отнесение опасных биологических факторов к сфере экологической безопасности.

К компетенции Минздрава, Минприроды и Минсельхозпрода также относится государственное управление и контроль (надзор) в области безопасности генно-инженерной деятельности, в рамках которой проблема биобезопасности рассматривается прежде всего в контексте безопасного использования биотехнологий при работе с генно-инженерными организмами (ГИО) разной степени патогенности. При этом Минздрав определяет порядок осуществления работ с микроорганизмами 1-4 групп риска. К компетенции двух других министерств отнесены только работы с непатогенными ГИО. При этом, Минприроды является Национальным координационным центром Картахенского протокола по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии, также при министерстве функционирует Экспертный совет по биобезопасности генно-инженерных организмов. Также в республике на базе Института генетики и цитологии НАН Беларуси создан Национальный координационный центр биобезопасности (НКЦБ), в компетенцию которого входит сбор, анализ и систематизация информации, консультирование в области безопасности генно-инженерной деятельности, формирование банка данных о ГИО, научная экспертиза безопасности ГИО и взаимодействие с международными организациями и НКЦБ других стран в этой сфере. НКЦБ также является национальным координационным центром по Механизму посредничества к Картахенскому протоколу по биобезопасности.

Основные тенденции и национальные интересы в области биологической безопасности.

Распространение массовых инфекционных заболеваний на фоне недостаточной эффективности мер реагирования на чрезвычайные ситуации биологического характера в целом следует отнести к наиболее непредсказуемой, труднопрогнозируемой угрозе последних лет и на ближайшую перспективу. Пандемия COVID-19 показала реальную уязвимость мировой экономики, систем здравоохранения большинства государств перед лицом внезапной биологической угрозы. В складывающихся условиях очевидна прямая зависимость политической, экономической, социальной, информационной и иных сфер от новых биологических угроз.

Особую обеспокоенность на современном этапе вызывают и иные сопутствующие факторы – широкое распространение лекарственной устойчивости среди различных видов микроорганизмов (бактерий, вирусов, микроскопических грибов), паразитических простейших и многоклеточных организмов, изменение сезонности и географического распространения опасных инфекционных и паразитарных заболеваний, появление новых и возвращение известных, но ранее сдерживаемых болезней, проникновение чужеродных видов животных и растений. Множество из них к тому же рассматривается в контексте потенциального биологического оружия, и даже те заболевания, которые не регистрируются у человека, способны наносить непоправимый ущерб сельскому хозяйству, или приводят к введению ограничений и нарушению торговых отношений, а также пагубно воздействуют на состояние генофонда сельскохозяйственных животных и растений.

В условиях прогнозируемого расширения спектра угроз биологической безопасности представляется обоснованным выделение данного направления в качестве самостоятельной сферы национальной безопасности. В связи с этим предлагается дополнить КНБ термином «биологическая безопасность» в соответствии с определением, включенным в концепцию [11].

Основными национальными интересами в биологической сфере, закреплёнными в концепции [11], являются следующие.

Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения, предотвращение недопустимых потерь сельскохозяйственных животных и растений от заразных болезней и вредителей приобретает особое значение для сохранения устойчивого социально-экономического развития страны, здоровья и качества жизни граждан в условиях возникновения крупномасштабных биолого-социальных чрезвычайных ситуаций естественного или искусственного характера (эпидемий, эпизоотий, эпифитотий, биологических аварий на объектах жизнеобеспечения).

Развитие контролируемых биотехнологий, обеспечение соответствия продовольствия и растительной продукции санитарно-противоэпидемическим, ветеринарно-санитарным и фитосанитарным требованиям международных организаций и стран-импортеров в целях реализации экспортного потенциала Республики Беларусь и расширения ее присутствия на мировом рынке также относится к основным национальным интересам в биологической сфере. Существует реальная опасность использования отдельных ГИО, продуктов синтетической биологии в качестве товаров двойного назначения и их бесконтрольного завоза (заноса) на территорию Республики Беларусь. Помимо производства биопрепаратов для медицины, ветеринарии и растениеводства, генно-инженерные технологии используются для производства некоторых лекарственных средств (инсулин, цитокины и интерлейкины), а также широкого спектра ферментных препаратов и аминокислот. Большинство из них приходится закупать за рубежом, страна и жизни людей при этом становятся зависимыми от их поставок. Недостаточный уровень санитарно-эпидемиологического, ветеринарного, карантинного фитосанитарного контроля (надзора) за экспортом продукции животного и растительного происхождения, не соответствующий международным требованиям, может повлечь значительные экономические и имиджевые потери для страны.

Регулирование распространения и численности агрессивных чужеродных (инвазивных) видов растений и животных является в настоящее время глобальной экологической и социально-экономической проблемой в мире и представляет национальный интерес в биологической сфере. Инвазивные виды вытесняют аборигенные виды растений и животных, трансформируют и уничтожают местные экосистемы, наносят значительный экономический ущерб странам и представляют опасность для здоровья людей. Разработка мер по предотвращению биологических инвазий, смягчению их последствий и мониторингу являются обязанностью всех стран, подписавших Конвенцию о биологическом разнообразии (Рио-де-Жанейро, Бразилия, 1992).

Укрепление международных и региональных механизмов обеспечения биологической безопасности следует рассматривать как один из национальных приоритетов в данной сфере. Отсутствие действенного международного механизма контроля за соблюдением режима нераспространения биологического оружия, активное использование за рубежом биотехнологий с потенциалом двойного назначения, непрозрачный характер биологических программ ряда государств создают реальные риски возникновения пандемий, эпизоотий и эпифитотий искусственного характера.

Заключение.

Таким образом, было обосновано понятие «биологическая безопасность», которое включено в концепцию [[11]], определены границы указанной междисциплинарной области, ее ключевых

отличительных особенностей от иных сфер, предусмотренных КНБ, обоснованы *основные тенденции и национальные интересы в области биологической безопасности для включения в КНБ.*

Литература:

- [1]. PRO/RUS> Зарубежное эпидобозрение [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://promedmail.org/?lang=ru> – Дата доступа: 28.05.2022.
- [2]. Арчаков, В.Ю., Баньковский, А.Л., Савков, П.И. Обеспечение биологической безопасности в контексте современных вызовов и угроз: анализ зарубежных и отечественных практик // *Новости медико-биологических наук.* – 2021. – Т. 21. - № 4. – С. 5-21.
- [3]. ilex - легкий поиск точных ответов на профессиональные вопросы [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://ilex-private.ilex.by/>. – Дата доступа: 26.09.2021.
- [4]. Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://pravo.by/>. – Дата доступа: 26.09.2021.
- [5]. НКЦБ – Сайт Национального координационного центра биобезопасности Республики Беларусь [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://biosafety.igc.by/>. – Дата доступа: 26.09.2021.
- [6]. Министерство здравоохранения Республики Беларусь [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://minzdrav.gov.by/ru/>. – Дата доступа: 26.09.2021.
- [7]. Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.mshp.gov.by/>. – Дата доступа: 26.09.2021.
- [8]. Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://minpriroda.gov.by/ru/>. – Дата доступа: 26.09.2021.
- [9]. ГОСТ 22.0.04-97 Безопасность в чрезвычайных ситуациях. Биолого-социальные чрезвычайные ситуации. Термины и определения / Электронный фонд правовых и нормативно-технических документов [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200009375>. – Дата доступа: 06.06.2022.
- [10]. Постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 6 января 2017 г. № 2 «Об утверждении Санитарных норм и правил «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки» / Национальный правовой интернет-портал Республики Беларусь [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://pravo.by/upload/docs/op/W21731726p_1485896400.pdf. – Дата доступа: 06.06.2022.
- [11]. О концепции национальной системы обеспечения биологической безопасности. Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 22 марта 2022 г. № 161// Национальный правовой Интернет – портал Республики Беларусь, 25.03.2022, 5/50052.
- [12]. О биологической безопасности в Российской Федерации: Федеральный закон Российской Федерации 30 дек. 2020 г. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/573249393>. – Дата доступа: 26.09.2021.

А.М. DRONINA¹, А.Л. LESHKEVICH², И.А. SUBOTSINA³, Г.В. MOZGOVA⁴, Т.В. ZHELEZNOVA⁹, И.А. DAROUSKIKH⁶, Е.С. NOSOVA¹, В.Ю. ARCHAKOV¹⁰, А.М. SUBOTSIN⁷, П.И. SAVKOV¹⁰, В.А. GORBUNOV¹, М.О. DOSINA⁸, А.В. KILCHEVSKY⁵, А.А. TARASENKO⁸

MAJOR TRENDS AND NATIONAL INTERESTS IN THE FIELD OF BIOLOGICAL SAFETY

¹Republican Scientific and Practical Center of Epidemiology and Microbiology, Minsk, Belarus

²Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Minsk, Belarus

³Vitebsk Order of the Badge of Honor State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Belarus

⁴Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

⁵National Academy of Sciences of the Republic of Belarus, Minsk, Belarus

⁶Vitebsk Regional Veterinary Laboratory, Vitebsk, Belarus

⁷Vitebsk Regional Executive Committee, Vitebsk, Belarus

⁸Ministry of Health Republic of Belarus, Minsk, Belarus

⁹Ministry of Natural Resources and Environmental Protection of the Republic of Belarus, Minsk, Belarus

¹⁰State Secretariat of the Security Council of the Republic of Belarus, Minsk, Belarus

Summary

The authors justified the need to single out biological safety as a separate area of the National Security of the Republic of Belarus, defined and substantiated the concept of "biological safety", which is

included in the national system for ensuring biological safety, approved by the Decree of the Council of Ministers of the Republic of Belarus dated March 22, 2022 No. 161, defined the boundaries of this interdisciplinary area, its key distinguishing features from other areas provided for by the concept of national security of the Republic of Belarus in accordance with the Decree of the President of the Republic of Belarus dated November 9, 2010 No. 575. It has been established that the provision of biological safety is carried out in the following strategic areas, identified in accordance with the main areas of influence of dangerous biological factors: human biological safety, animal biological safety, plant biological safety, genetic safety, control of invasive species. The main trends and national interests in the field of biological safety are substantiated for inclusion in the concept of national security.

Thus, the article gives a general idea of the very concept and meaning of biological safety and shows the main areas of work of the responsible departments.

Key words: biological safety, biological hazard, the concept of a national biological safety system, strategic directions, national interests in the field of biological safety.

УДК 738.046.4

Е.Н. КРОТКОВА, М.О. ДОСИНА

СИСТЕМА ПОДГОТОВКИ НАУЧНЫХ КАДРОВ КАК КОМПОНЕНТ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ В ЗДРАВООХРАНЕНИИ

Министерство здравоохранения Республики Беларусь, Минск, Беларусь

Авторами было дано обоснование необходимости внесения изменений в концепцию Национальной безопасности Республики Беларусь. Факторами, способствующими инновационному развитию, являются государственная политика в области здравоохранения, благоприятная институциональная среда, высокий научный потенциал, осуществление подготовки и закрепления квалифицированных кадров в отечественной медицинской науке. Всемерное наращивание квалификации и профессионализма кадрового потенциала, повышение социального статуса ученого, создание возможностей для его самореализации и профессионального роста должны стать областями приоритетного внимания государства. Формирование нового качества кадрового потенциала сегодня требует не только овладения все увеличивающимся набором знаний, умений и навыков, но и развития таких компетенций, как активная жизненная позиция, лидерские качества и умения делегировать полномочия; способность работать в команде и отстаивать свою точку зрения; готовность быстро осваивать новые предметные (междисциплинарные) области и творчески подходить к решению поставленных задач; самостоятельность планирования исследований и ответственность при их выполнении

Ключевые слова: научно-техническая безопасность, кадровая политика.

В настоящее время достижения науки и развитие новых технологий, заметно упростили процессы для некоторых сфер человеческой жизнедеятельности, но и создали новые угрозы, противодействие которым становится первоочередной задачей [1, 2].

Создание эффективной системы стимулов для развития высокотехнологичных производств и механизма перетока финансовых, трудовых и материальных ресурсов из сокращающихся в перспективные сферы экономики, всеобъемлющая информатизация экономики и общества призваны обеспечить формирование качественно нового технологического уклада в Республике Беларусь, расширение экспорта наукоемкой продукции, привлечение иностранных инвестиций и интеграцию национальной инновационной системы в глобальную инновационную систему мира [3, 4].

В соответствии с национальной инновационной доктриной развития науки Республики Беларусь, устойчивое развитие экономики на современном этапе возможно только на основе императивов науки, подготовке и сохранении кадрового потенциала, повышения эффективности коммерциализации результатов научного труда и трансфера новых технологий, в том числе медицинских. Последнее является одним из важнейших направлений улучшения здоровья нации и повышения качества жизни населения республики.

Соответственно, одним из приоритетных направлений инновационного развития отрасли здравоохранения республики является разработка и внедрение в практику новых медицинских технологий – отечественных и наиболее эффективных зарубежных высокотехнологичных методов профилактики, ранней диагностики, лечения и реабилитации, прежде всего, социально значимых заболеваний [5].

Факторами, способствующими инновационному развитию, являются государственная политика в области здравоохранения, благоприятная институциональная среда, высокий научный потенциал, осуществление подготовки и закрепления квалифицированных кадров в отечественной медицинской науке.

Кадры интеллектуальной экономики – ключевой фактор перспективной модели развития Беларуси. Всемерное наращивание квалификации и профессионализма кадрового потенциала, повышение социального статуса ученого, создание возможностей для его самореализации и профессионального роста должны стать областями приоритетного внимания государства.

Все современные системы оценки результативности науки в качестве основных наукометрических критериев используют оценку итоговой научной продукции и результатов ее

практического освоения. Поэтому экспертиза результатов научной деятельности (отчетов или другой продукции) является основой для принятия управляющих решений. Соответственно, качество экспертизы определяет качество управления наукой.

В комплексной оценке результативности научных коллективов и эффективности научных исследований общеприняты такие формализованные показатели, как число публикаций, количество получаемых патентов, показатели научно-практической деятельности и др., что позволяет сравнивать деятельность отдельных научных коллективов, в том числе и во временной динамике.

Сегодня результаты ряда исследований подтверждают высокую корреляцию между уровнем научных результатов, количественными показателями научных достижений, финансированием научно-исследовательских работ и научным статусом ученых.

Серьезной проблемой научно-технической безопасности является заметное снижение качества подготовки научных работников, проявляющееся в активном замещении развивающихся методов обучения упрощенными способами механического запоминания информации типа централизованного тестирования.

Однако надо отметить, что в последние годы наименьшей кадровой реорганизации подверглись учреждения образования системы здравоохранения, при этом имел место рост численности научных работников высшей научной квалификации, а процесс оптимизации численности научных кадров продолжается до сих пор. На рисунке 1 приведена динамика изменения процента численности научных сотрудников за период с 2015 по 2021 год. Отмечена положительная динамика, особенно на интервале 2019-2021 годы. Так в 2019 году процент научных сотрудников составлял 57%, а к 2021 году увеличился до 62,3%.



Рисунок 1 - Динамика изменения процента численности научных сотрудников за период с 2015 по 2021 год

Для медицинской отрасли как в целом и для всей научной сферы актуальной является проблема старения научных кадров. Так, среди докторов наук более 65% старше 60 лет. Но в сфере здравоохранения есть потенциал на будущее: в аспирантуре и докторантуре обучается **690** аспирантов и **140** докторантов, при этом около 10% молодых ученых страны – это медики.

Кроме того, в последние годы отмечен рост, пусть и пока небольшой, кандидатов наук в возрасте до 30 лет и докторов наук в возрасте до 40 лет (рисунок 2).



Рисунок 2 – Процент кандидатов наук в возрасте до 30 лет и докторов наук в возрасте до 40 лет от общего количества сотрудников со степенью

Тем не менее, нельзя не отметить интерес молодежи к науке, увеличивается численность молодых ученых, обучающихся в медицинских университетах и аспирантуре и работающих над кандидатскими диссертациями. Во всех учреждениях образования продолжается активная работа студенческих научных обществ.

В то же время численность научных работников системы здравоохранения, участвующих в выполнении НИОК(Т)Р, за последние 5 лет принципиальных изменений не претерпела (рисунок 3).

Профессорско-преподавательский состав медицинских учреждений образования численно тоже мало менялся и составлял в среднем около 3000 человек (2019 г – 2735 человек, 2020 г. – 3041). Можно сказать, что медицинская наука республики в последнее пятилетие имела сильный кадровый потенциал: от 52 до 55 % научных работников имели высшую научную квалификацию (доктора и кандидата наук) (рисунок 4).

При этом ежегодно продолжалась работа более чем над 200 докторскими и около 1000 кандидатскими диссертациями, более 30% научных работников без степени также постоянно повышали свою квалификацию (курсы повышения квалификации, семинары, подготовка специалиста на рабочем месте и т.д.).

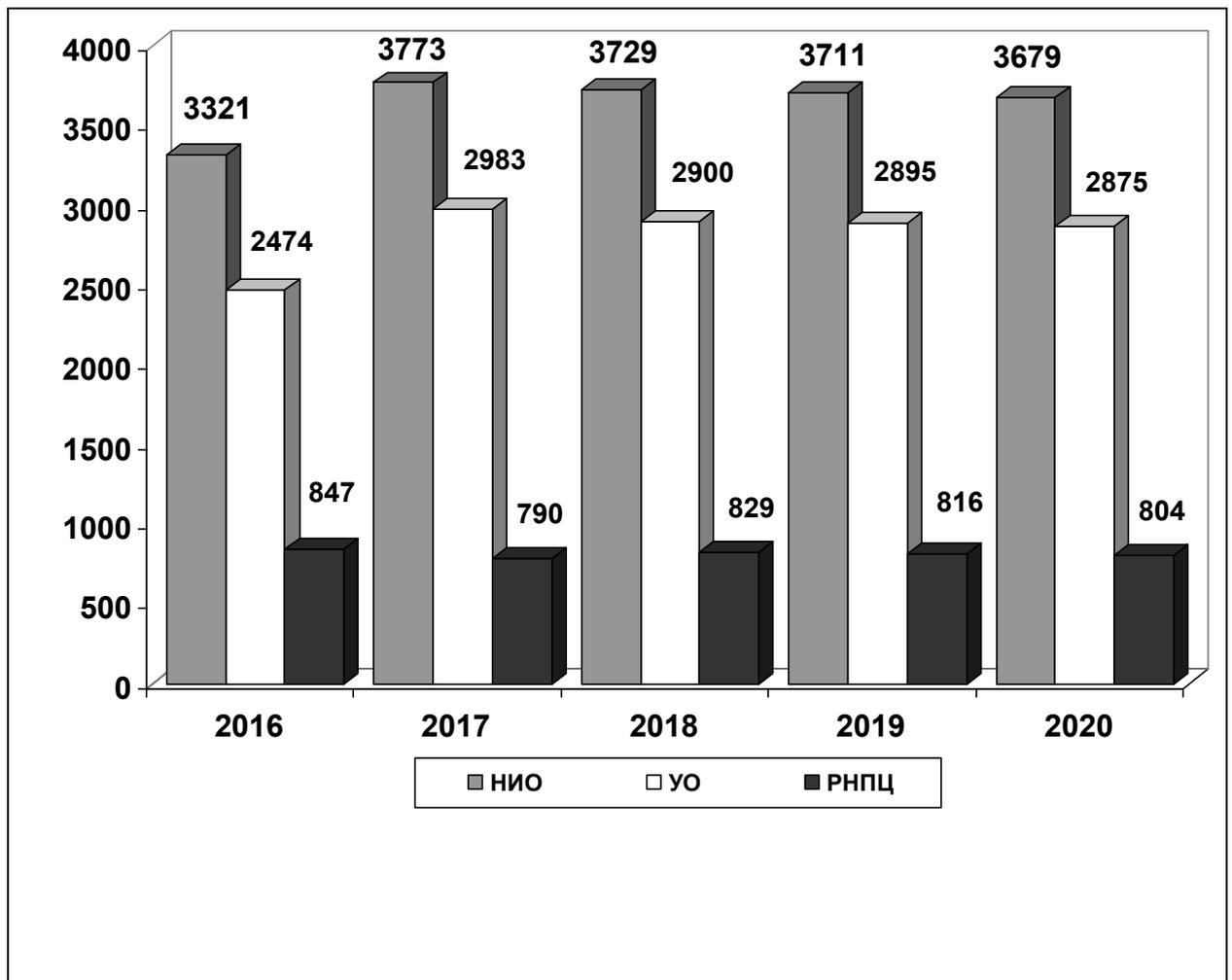


Рисунок 3 - Динамика численности научных работников системы Министерства здравоохранения Республики Беларусь за период 2016–2020гг.

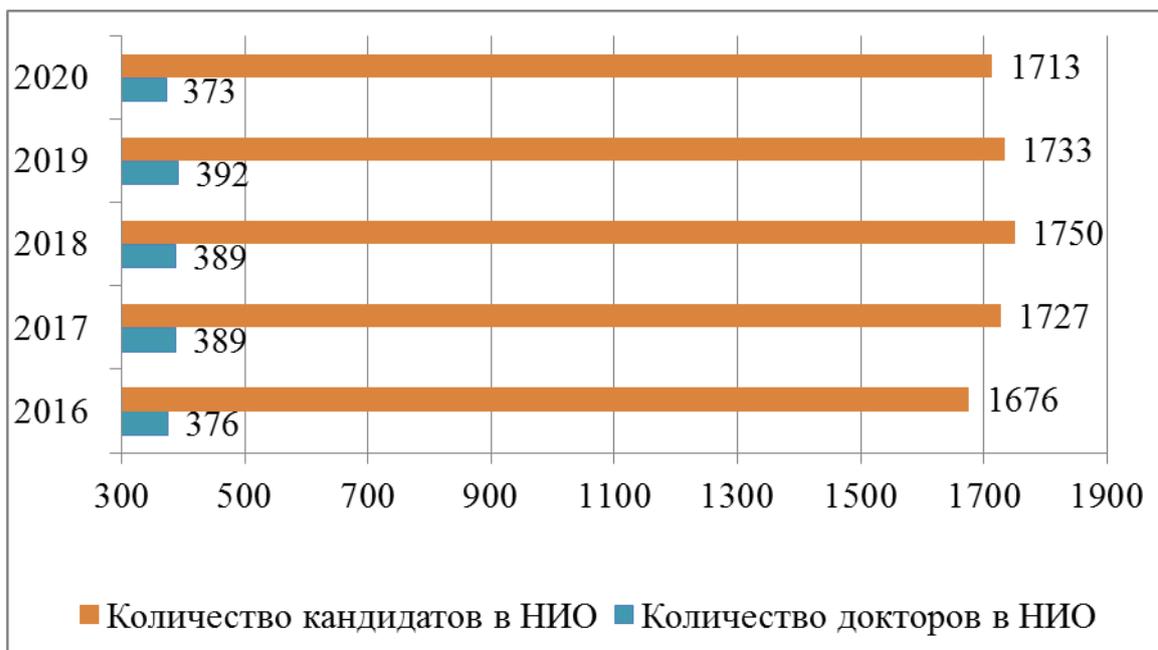


Рисунок 4 - Динамика численности докторов и кандидатов наук, работавших в НИО системы Министерства здравоохранения Республики Беларусь в 2016–2020 гг.

В течение ряда последних лет в подведомственных Минздраву организациях ежегодно защищались примерно 10–20 докторских и около 100 кандидатских диссертаций по различным медицинским специальностям. К примеру, в 2020 году ВАК Республики Беларусь были утверждены 17 докторских и 82 кандидатские диссертации. При этом большинство из них были выполнены и защищены в медицинских университетах.

Такой уровень подготовки кадров высшей научной квалификации с присвоением ученых степеней позволяет поддерживать в течение последние лет в научных организациях Минздрава Республики Беларусь количество кандидатов наук на уровне 1676 – 1750 человек, докторов наук – 370–390. Так, на начало 2021 года 2086 специалистов имели ученые степени доктора или кандидата наук. Кроме того, ежегодно во всех организациях продолжалась работа более чем над 200 докторскими и около 1000 кандидатскими диссертациями.

Важным показателем эффективности подготовки кадров высшей научной квалификации является соотношение сроков подготовки научной диссертации и ее утверждения ВАК Республики Беларусь. Исследование динамики ежегодного присуждения ученых степеней лицам, которые в разное время проходили обучение в аспирантуре, показывает, что наибольшее число диссертаций защищается в течение 3-4 лет и более после окончания аспирантуры.

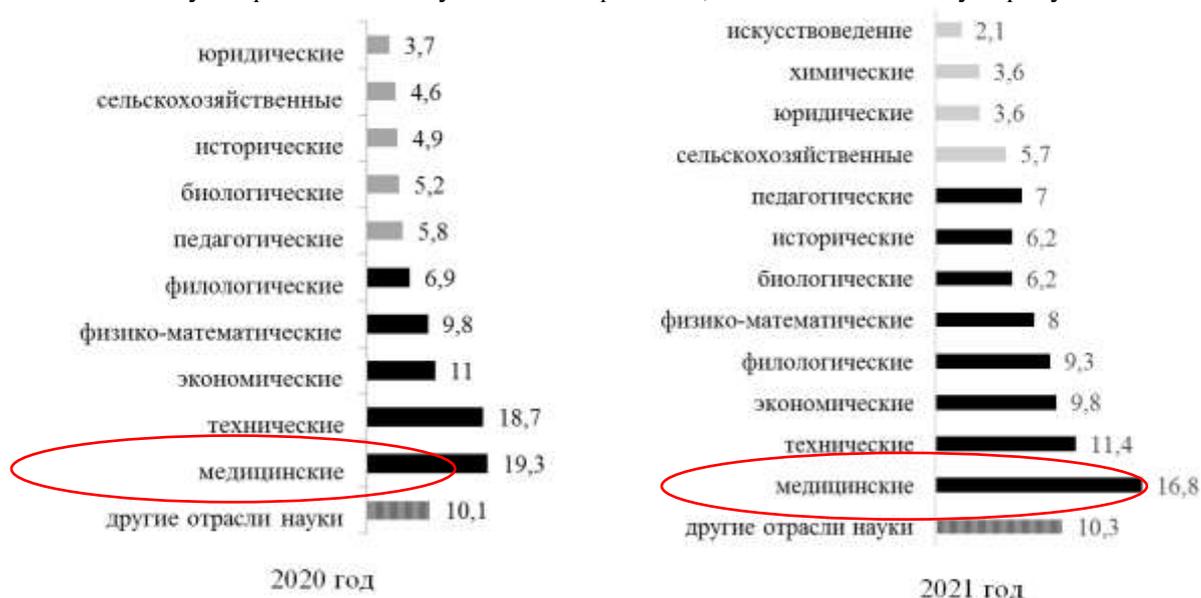
Исходя из сказанного, важнейшими постоянно решаемыми задачами по улучшению подготовки кадров высшей научной квалификации для отрасли здравоохранения остаются:

повышение статуса ученого, мотивации научного роста и роли науки в социально-экономической системе Республики Беларусь;

совершенствование механизма конкурсного отбора (оценки) абитуриентов в аспирантуру и докторантуру с учетом потребностей отрасли;

обеспечение эффективного функционирования аспирантуры и докторантуры, в том числе за счет укрепления материально-технической и информационной базы научных организаций как основы качественной подготовки ученых.

Все это позволяет сегодня Министерству здравоохранения Республики Беларусь эффективно осуществлять подготовку кадров высшей научной квалификации, о чем свидетельствует рисунок 5.



Структура отраслей науки (в % от общего числа успешно защищенных диссертаций), по которым присуждались ученые степени в 2020 и 2021 гг.

Рисунок 5 – Структура отраслей науки, по которым присуждались ученые степени в 2020 и 2021 годах

В связи с вышесказанным, среди основных национальных интересов в сфере научно-технической безопасности Республики Беларусь в медицинской области следует обратить внимание на следующие:

– формирование системы технологического предвидения, основанной на передовом отечественном и зарубежном опыте.

– сохранение кадровой основы научного потенциала страны, противодействие интеллектуальной миграции научных сил за границу, систематическое воспроизводство научных кадров, создание им соответствующих научной квалификации условий жизни и повышение престижа научной деятельности.

Формирование нового качества кадрового потенциала сегодня требует не только овладения все увеличивающимся набором знаний, умений и навыков, но и развития таких компетенций, как активная жизненная позиция, лидерские качества и умения делегировать полномочия; способность работать в команде и отстаивать свою точку зрения; готовность быстро осваивать новые предметные (междисциплинарные) области и творчески подходить к решению поставленных задач; самостоятельность планирования исследований и ответственность при их выполнении.

В рамках активизации процессов создания задела для передовых технических укладов общими принципами развития кадрового потенциала в Беларуси должны стать: – усиление кооперации образования, фундаментальной и прикладной науки:

- внедрение механизма целевой подготовки научных работников высшей квалификации в отечественных и зарубежных учреждениях образования и научных организациях по приоритетным научным специальностям и в соответствии с потребностями развития наукоемких и высокотехнологичных отраслей;

- практическая реализация концепции «Университет 3.0», которая предполагает создание интегрированной образовательной, научно-исследовательской и предпринимательской среды путем использования модели гибкой современной компании, инкубатора стартапов, центра регионального развития, что обеспечивает единство системы «образование–наука–инновации–коммерциализация–производство»;

- расширение системы филиалов кафедр учреждений высшего образования на производственных предприятиях для специализированной научной подготовки студентов, магистрантов и аспирантов на всех этапах образовательного процесса;

- развитие академической, университетской, отраслевой и корпоративной науки по приоритетным направлениям научной, научно-технической деятельности с учетом региональных особенностей;

- организация совместных проектов на межотраслевой основе, а также совместно с авторитетными международными исследовательскими центрами;

- расширение взаимодействия университетов с отраслями и организациями – заказчиками кадров.

Не маловажным остается вопрос стимулирования развития творческих, изобретательских и предпринимательских способностей личности на протяжении всей жизни. Комплекс мероприятий должен включать:

- обновление содержания образования и переход к новому поколению стандартов высшего образования, обеспечивающих подготовку специалистов, способных к самостоятельной научно-исследовательской, проектно-конструкторской, инновационной, управленческо-аналитической деятельности;

- обеспечение мобильности и гибкости программ высшего образования в соответствии с меняющимися потребностями рынка труда, инновационным развитием отраслей экономики и социальной сферы; развитие сетевых взаимодействий учреждений высшего образования;

- формирование инфраструктуры раскрытия творческого потенциала детей и школьников, стимулирующей овладение научными, научно-техническими знаниями и практическими навыками коммуникации, соревновательности, инициативности и самообучения;

- развитие социально-личностных компетенций студентов, магистрантов, аспирантов, нацеленных на профессиональное самосовершенствование,

- модернизация форм, методов, технологий образовательного процесса на основе стратегий проблемно-исследовательского, активного, коллективного обучения;

- создание системы мер по повышению мотивации молодых талантливых специалистов к поступлению в аспирантуру, обеспечение роста социальной защищенности молодых ученых, создание возможностей для их профессионального роста.

Литература

- [1]. Ребров С.Д., Агафонов И.А. ВЗАИМОСВЯЗЬ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА И ЭКОНОМИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ // Вестник Алтайской академии экономики и права. – 2018. – № 7. – С. 142-147
- [2]. Поведская Е.В., Масейра А.Д. Человек и новые информационные технологии: Завтра начинается сегодня. – СПб., 2007. – 320 с.
- [3]. Патрушев Н.П. Особенности современных вызовов и угроз национальной безопасности России // Журнал рос. права. 2007. № 7 (127). С. 3–12.
- [4]. Генеральная Ассамблея [ЭЛЕКТРОННЫЙ РЕСУРС] / Преобразование нашего мира: Повестка дня в области устойчивого развития на период до 2030 года // Режим доступа: https://www.un.org/ga/search/view_doc.asp?symbol=A/RES/70/1&Lang=R
- [5]. О приоритетных направлениях научной, научно-технической и инновационной деятельности на 2021 - 2025 годы
Указ № 156 от 7 мая 2020 г. <https://president.gov.by/ru/documents/ukaz-no-156-ot-7-maya-2020-g>

E.N. KROTKOVA, M.O. DOSINA

SYSTEM OF SCIENTIFIC PERSONNEL TRAINING AS A COMPONENT OF SCIENTIFIC AND TECHNICAL SAFETY OF THE REPUBLIC OF BELARUS IN HEALTH CARE

Ministry of Health of the Republic of Belarus, Minsk, Belarus

Summary

The authors justified the need to make changes to the concept of the National Security of the Republic of Belarus. The factors contributing to innovative development are the state policy in the field of healthcare, a favorable institutional environment, high scientific potential, training and retention of qualified personnel in domestic medical science. Every possible increase in the qualifications and professionalism of the personnel potential, raising the social status of a scientist, creating opportunities for his self-realization and professional growth should become areas of priority attention of the state. The formation of a new quality of personnel potential today requires not only mastering an ever-increasing set of knowledge, skills and abilities, but also the development of such competencies as an active life position, leadership qualities and the ability to delegate authority; the ability to work in a team and defend their point of view; willingness to quickly master new subject (interdisciplinary) areas and creatively approach the solution of tasks; independence in research planning and responsibility in their implementation.

Key words: scientific and technical safety, personnel policy.

УДК 577.3:612.337:616–003.725.616.348–002

В.В. СОЛТАНОВ, В.А. СЕРГЕЕВ, Л.М. КОМАРОВСКАЯ

МЕХАНИЗМЫ МОДУЛЯЦИИ МОТОРИКИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА В УСЛОВИЯХ ФОРМИРОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО КОЛИТА

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

Согласно результатам исследований в процессе развития воспаления в толстой кишке происходят значительные преобразования в функциональных связях желудка и кишечника с ЦНС. Установлено, что механические, химические раздражения рецепторов различных участков ЖКТ вызывают у колитных животных торможение тонической эфферентной импульсации в волокнах вегетативных нервов, а не активирующей реакции, как отмечается в контроле. Эффекты рефлекторного угнетения активности характерны для симпатических волокон брыжеечных, селезеночного и особенно для эфферентных проводников вагуса под диафрагмой. Кроме того, в этих опытах обнаружено существенное падение суммарной импульсации нейронов медиальной РФ продолговатого мозга как спонтанной, так и при раздражении интероцепторов, что связано с ослаблением афферентной импульсации в вагусе под диафрагмой. Подобные эффекты, как показано, вызываются и введением внутрибрюшинно или в различные отделы ЖКТ эндотоксина. Вероятно, ЛПС и продуцируемые под их влиянием провоспалительные цитокины, реализуют свое действие в ослаблении синаптической передачи возбуждения в нервных центрах регуляции вегетативных функций.

В процессе формирования по общепринятой методике колита, эфферентная импульсация брыжеечных нервов падает по частоте и амплитуде, что влечет за собой сильные изъязвления слизистой оболочки кишки. Такого рода повреждения наступают уже в острых опытах на животных (крысах), но более выражены в хронических экспериментах, через 4–6 суток. Эти опыты свидетельствуют о важной роли эфферентных волокон данных нервов, их тонической активности в поддержании естественной регуляции защитной функции ЖКТ.

В условиях экспериментального колита или действия ЛПС у крыс постоянно регистрируются инвертированные по направленности ответы гладких мышц (судя по потенциалам) желудка или кишечника в ответ на действие адекватных препаратов (А, НА, аденозин, гидрокортизон), а также на раздражение механорецепторов. По сравнению с контролем (торможение моторики) возникали в основном стимулирующие реакции.

Согласно данным всех проведенных исследований, микроорганизмы кишечника, цитокины, эндотоксины, медиаторы образуют в совокупности важное гуморальное звено (наряду с нервным) коммуникаций в механизмах реализации периферических и центральных взаимосвязей как в условиях возникновения воспалительных реакций в ЖКТ, так и в других ситуациях изменений двусторонних отношений интестинальная микробиота – мозг.

Ключевые слова: колит, эндотоксины, микробиота, липополисахарид, вагус, брыжеечные нервы, толстая кишка, эфферентная импульсация, желудочно-кишечный тракт (ЖКТ).

Представления об участии микрофлоры, эндогенных физиологически активных веществ в процессе воспаления и расстройств моторики кишечника значительно расширены в последнее время. Обширная группа симбионтов, заселяющая ЖКТ, оказывает существенное влияние на пищеварение, иммунитет и ряд других функций, включая развитие кишечного эпителия и его активность. Воспалительные расстройства сопряжены с изменением соотношения и количества многих видов бактерий в кишке. Имеются доказательства, что начальные этапы и продолжительность различных заболеваний зависят от микрофлоры полости кишки [1]. Несбалансированность между защитными и патогенными видами бактерий в полости, снижение барьерной функции и повреждение слизистого слоя приводят к повышению количества плотно соединенных со слизистой оболочкой бактерий у пациентов при болезни воспаленного кишечника [2] и возникновению чрезмерных аутоиммунных реакций к нормальной микрофлоре [3]. Дисбиоз микрофлоры кишки, последующие функциональные расстройства, обусловлено рядом факторов, среди которых преобладают стрессовые ситуации, пищевые предпочтения, генетические особенности и другие трудно учитываемые причины. Инфузия ЛПС безмикробным крысам вызывает у них хроническое кишечное воспаление [4]. В таких случаях

бактериальные кишечные ЛПС можно рассматривать в качестве одного из главных компонентов в цепи последовательных превращений в слизистой оболочке, лежащих в основе нарушений регуляторных процессов, как на местном, так и на системном, межсистемном уровнях.

В настоящей работе приведены результаты исследований по означенной тематике, выполненных группой сотрудников. Экспериментальные данные получены в опытах на наркотизированных крысах. Колит вызывали введением в дистальную часть ободочной кишки 4% раствора уксусной кислоты за 1–12 суток до основного эксперимента. О повреждении слизистой оболочки судили по общепринятым в литературе показателям [5, 6]. Основной методический прием – анализ электрической активности висцеральных нервов, потенциалов гладких мышц кишки. Другие особенности методики приводятся по ходу изложения материалов.

Роль эфферентных волокон в формировании повреждений. В наших исследованиях с моделированием повреждений слизистой оболочки установлено, что процессы развития структурных нарушений в толстой кишке регулярно сопряжены с угнетением тонической импульсации симпатических волокон брыжеечных нервов и повышением моторики данного органа [7]. Кроме того, как установлено, только денервация кишечных сегментов перерезкой брыжеечных нервов приводит к подобным указанным повреждениям в слизистой оболочке, но менее выраженным. Кроме того, формирование воспалительной реакции в условиях предварительной перерезки, соответствующего раздражаемому участку кишки, брыжеечных нервов приводит к более значительным повреждениям слизистой оболочки (таблица 1). В целом такого рода полученные данные свидетельствуют о важной роли тонического адренергического контроля в поддержании иммунного статуса кишечника. Как известно, симпатические эфферентные волокна внутренних органов оказывают посредством адренорецепторов ингибирующее влияние на иммунные клетки [8, 9]. В связи с этим ослабление такого рода контроля в кишечнике должно способствовать повышению воспалительных реакций, выявленных в наших исследованиях.

Табл. 1. Повреждения слизистой оболочки ободочной кишки в начальной (4 часа) стадии развития экспериментального колита

Серия опытов	Площадь всех повреждений, см ²
Интактные крысы	0,05±0,01 (6)
Колит	2,87±0,48* (7)
Десимпатизация	2,05±0,28* (6)
Десимпатизация + колит	4,74±0,80* (8)

Примечание: Знак * – достоверные эффекты ($P<0,05$) по отношению к показателям в контроле.

Согласно другим, характеризуемым ниже данным, эндотоксины, представляя собой основополагающие факторы в возникновении и поддержании патологических процессов путем стимуляции продукции в кишке цитокинов, других физиологически активных веществ, распространяют свое действие на местные механизмы регуляции функций, а также на интероцептивные рефлекторные реакции, реализуемые на уровне нервных центров и периферических вегетативных ганглиев в период формирования воспаления в ЖКТ.

Локальные и рефлекторные эффекты действия раздражителей. Прежде всего обращают на себя внимание факты об особенностях местных влияний ряда физиологически активных веществ на моторику толстой кишки, проявляющихся в инверсии ответов после формирования очага воспаления в слизистой оболочке. Как оказалось, инфузия в полость воспаленной ободочной кишки или нанесение на серозную оболочку адреномиметика норадреналина приводила к сократительным реакциям гладких мышц, показателем чего служило увеличение амплитуды медленноволновой электрической активности кишки и появление спайковых разрядов [5]. В контрольных же экспериментах регистрировались типичные для нормы ингибирующие ответы. Аденозин, инъецируемый в полость толстой кишки на фоне воспаления слизистой оболочки, вызывал противоположные тормозным в контроле [6, 11] реакциям, усиление моторики, на что указывало появление быстрых потенциалов гладких мышц [11]. Подобные изменения ответов гладких мышц имеют место при введении в кишку гидрокортизона [10]. Испытывались и другие эндогенные вещества. Эндотоксин, стимулирующий в контрольных опытах двигательную активность кишки, оказывал у колитных крыс ингибирующее влияние [10]. Примечательно, что отмеченные инвертированные ответы гладких мышц регистрировались после инфузии применяемых раздражителей и в неповрежденную поперечную, восходящую ободочную и слепую кишку. Отмеченные преобразования при колите объясняются скорее всего перераспределением активности

типов и подтипов рецепторов. Согласно имеющимся сведениям, пусковые влияния на гладкие мышцы аденозин оказывает через A₂, тормозные – A₁ рецепторы, а суммарный ответ зависит от степени возбуждения тех и других рецепторных приборов [11].

Наряду с локальными, на уровне толстой кишки, существенную роль по нашим данным играют изменения отдаленных, рефлекторных взаимосвязей внутренних органов. Судя по литературе, исследования системных нейрогуморальных реакций органов пищеварения в условиях патологии не получили должного развития. В условиях острых и хронических заболеваний кишечника, повышение проницаемости слизистой оболочки и изменения содержания биологически активных веществ в периферической крови, в том числе и провоспалительных цитокинов, могут трансформироваться функциональные взаимосвязи между органами системы пищеварения [12]. Как показывают наши исследования, при раздражении механорецепторов ободочной кишки посредством растяжения баллоном известные тормозные реакции желудка [13] преобразуются в стимулирующие в серии экспериментов с формированием воспаления в слизистой оболочке толстой кишки [10].

Использовали, как и ранее, физиологически активные вещества, являющиеся аналогами местных эндогенных соединений [14–16]. Установлено, что после введения в просвет ободочной кишки ЛПС происходит уменьшение амплитуды спонтанной электрической активности гладких мышц тощей кишки. Одновременно с этим отмечается ослабление активности двенадцатиперстной кишки. Если означенное воздействие на рецепторы производится на фоне сформированного воспаления в ободочной кишке, то, как правило, регистрируются противоположные по направленности ответы, представленные усилением активности в проксимальных отделах кишечника [10, 14]. В обеих сериях экспериментов реакции гладких мышц отличаются относительно большой продолжительностью в течение всего времени наблюдений, составляющего не менее 50–90 мин.

Другие исследованные раздражители вызывают подобные трансформации. Так, реакции гладких мышц тощей, двенадцатиперстной кишки, регистрируемые в условиях экспериментального колита после инфузии в толстую кишку раствора аденозина, становятся стимулирующими – противоположными по направленности в сравнении с контролем [11, 14]. Инверсия тормозных в стимулирующие рефлекторные ответы гладких мышц желудка наблюдается и при введении в ободочную кишку гидрокортизона [10]. Не являются исключением из общей тенденции изменения висцеро-висцеральных рефлексов и эффекты стимуляции рецепторов ободочной кишки раствором ацетилхолина, поскольку в условиях колита установлено появление активирующих реакций гладких мышц (увеличение амплитуды потенциалов) гастродуоденальной зоны вместо наблюдаемых в контроле тормозных ответов [15]. Перечисленные результаты исследований указывают таким образом о существовании вполне четкой закономерности – инверсии направленности реакций гладких мышц желудка, тонкой кишки, наступающей в период развития и сформировавшегося колита. Характеризуемые эффекты изменений типичных для нормы рефлекторных реакций указывают на существенные нарушения моторики кишки, причем длительно сохраняющиеся в эксперименте в течение 5–7 суток. Экспериментальные материалы получены в результате использования адекватных раздражителей, физиологически активных веществ, имеющих соответствующие рецепторы в кишечнике – глюкокортикоидов, липополисахаридов, норадреналина, аденозина, ацетилхолина. Действие при колите в наших опытах этих препаратов на ободочную кишку из тормозного преобразуется в стимулирующее.

Как установлено, у животных с колитом инвертация рефлекторных реакций происходит и в проксимальных отделах ЖКТ в случае применения пищевого раздражителя, молока, а также обычной воды. Если в контроле введение молока в желудок приводило к расслаблению гладких мышц как данного органа, так и двенадцатиперстной кишки (известный процесс рецептивной релаксации), то на фоне сформированного колита регистрировали противоположный по направленности ответ – стимуляцию моторных реакций гастродуоденальной зоны. Важно подчеркнуть, что данный инвертированный эффект сохранялся у крыс с воспалением в ободочной кишке и в условиях ваготомии или, в другой серии опытов, и после внешней децентрализации желудка и кишечника (после ваготомии и перерезки всех постганглионарных, краниальных и каудальных брыжеечных нервов) [16, 19]. Последние факты дают основание полагать, что передача отмеченных влияний с толстой кишки опосредуется гуморальным путем. Подтверждением тому служат последующие серии экспериментов, направленных на изучение эфферентной импульсации в различных висцеральных нервах.

Все описанные экспериментальные данные свидетельствуют, кроме того, что многие эндогенные физиологически активные вещества, продуцируемые в толстой кишке, выступают в роли

стимуляторов рецепторных приборов чувствительных волокон в слизистой оболочке, дают начало висцеро-висцеральным рефлекторным реакциям. Отмеченные сведения вносят значительные коррективы в существующие представления о механизмах реакций, инициируемых раздражением рецепторов толстой кишки, особенно в условиях развития воспалительных процессов в кишечнике.

Иные взаимоотношения складываются, судя по результатам наших опытов, с так называемыми «нисходящими» влияниями раздражения механорецепторов с проксимальных на дистальные отделы ЖКТ. По данным литературы желудок оказывает возбуждающие влияния на моторику илеоцекальной области кишечника и толстой кишки [13]. В соответствии с отмеченными сведениями растяжение в наших опытах пилорической части желудка баллоном сопровождалось усилением высоковольтной спайковой активности гладких мышц ободочной кишки, что является показателем возникновения либо интенсификации сокращений кишки. Эти моторные эффекты не только сохранялись у животных с экспериментально индуцируемым колитом, но и значительно увеличивались по амплитуде потенциалов и продолжительности. Так, в контроле площадь регистрируемой после раздражения высоковольтных быстрых потенциалов составляла $15,3 \pm 0,82$ мкВ·с, продолжительность фазы активации $10,1 \pm 3,19$ с, при колите соответственно $41,5 \pm 8,97$ мкВ·с и $19,6 \pm 3,64$ с ($p < 0,001$). Последние факты отражают процесс повышения по сравнению с нормой интенсивности рефлекторных моторных реакций ободочной кишки вслед за раздражением механорецепторов желудка. Подобные реакции усиления активирующих влияний на двигательную активность и ускорения транзита нейтрального красителя ободочной кишки получены у колитных крыс при стимуляции хемо- и механорецепторов слепой кишки [17, 18].

Рефлекторные реакции эфферентных волокон, потенциалы нейронов РФ. Растяжение в этих опытах краниального участка толстой кишки баллоном, введенным в ее просвет (давление 25–30 мм рт.ст.), сопровождается четкими эффектами увеличения частоты и амплитуды спонтанной эфферентной импульсации в брыжеечном нерве тощей кишки [20]. После прекращения раздражения активность возвращается к исходному уровню. Иная картина отмечается в аналогичных опытах, проведенных на 3–5 сутки развития колита. Обращает на себя внимание прежде всего тот факт, что исходная, тоническая центробежная активность брыжеечных нервов того же отдела кишки значительно менее выражена. Более того, растяжение ободочной кишки в части опытов (35%) приводит к угнетению регистрируемых показателей. В других случаях эффекты раздражения отсутствуют, либо (37%) возникают возбуждающие реакции, которые оказываются намного слабее в сравнении с контролем. Согласно результатам количественной оценки двух серий экспериментов средняя амплитуда колебаний интегрированной фоновой эфферентной импульсации в контроле составляла $46,25 \pm 0,76$ мкВ ($n=12$), а после формирования воспаления в нисходящей ободочной кишке – всего лишь $8,63 \pm 0,2$ мкВ ($n=11$), $p=0,001$ [20]. Следует также отметить, что рефлекторные изменения активности симпатических эфферентных волокон на растяжение кишки колитных крыс недостоверны. Таким образом, в условиях экспериментального колита наступает значительное ослабление тонической эфферентной импульсации брыжеечных нервов тощей кишки, а рефлекторные ответы ее модуляции весьма незначительны и наблюдаются лишь в части опытов. Вследствие таких преобразований нервного контроля значительно ослаблены механизмы торможения моторики кишки.

Об этом свидетельствуют и данные по регистрации эфферентной импульсации в ободочном нерве, который содержит симпатические центробежные волокна, иннервирующие толстую кишку [21]. Умеренное по силе растяжение проксимальной части ободочной кишки баллоном приводит к увеличению в большей степени межзальной импульсации в этом нерве. Ответы существенно изменяются в период острого колита. Значения амплитуды фоновой активности оказываются, как правило, намного меньше по сравнению с контролем. Если в контрольных сериях экспериментов средние значения фоновой суммарной импульсации составляли $28 \pm 0,9$ мкВ, то в стадии острого колита – только $6,8 \pm 0,2$ мкВ ($n=7$, $p < 0,001$), а растяжение кишки остается без эффектов.

По мнению многих авторов в развитии расстройств кишечника при воспалении решающую роль могут играть эндотоксины. Поэтому вполне допустимо предположение, что в период развития воспаления в слизистой оболочке ободочной кишки эндогенные токсины проявляют свое действие в описанных выше симпатингибирующих эффектах. И действительно, в тех же, как и прежде, методических условиях проведения острых экспериментов введение в ободочную кишку экзогенного ЛПС (1–10 мкг) имело своим следствием угнетение тонической эфферентной активности симпатических волокон ободочного и краниальных брыжеечных нервов. Симпатингибирующие реакции развивались через 5–10 мин и сохранялись на однократную фазу препарата в течение всего

опыта, который длился не менее 2-х часов. Растяжение ободочной кишки баллоном до применения ЛПС приводило, как обычно, к рефлекторному увеличению показателей эфферентной активности. По результатам количественной оценки изменений импульсации по сравнению с контролем установлено, что средние значения амплитуды суммарной фоновой активности краниальных брыжеечных нервов уменьшались с 46,2 мкВ до 9,2 мкВ ($P < 0,01$, $n=6$), ободочного – с 28,09 мкВ до 7,4 мкВ ($P < 0,01$, $n=7$).

В постганглионарных нервных ветвях чревного сплетения также отмечается угнетение симпатической эфферентной импульсации вслед за инфузией 10 мкг ЛПС в желудок. Происходит значительное падение активности нервов на длительный период, до 2 часов и более [21]. Вместе с тем, желудок оказывается наименее чувствительным среди отделов ЖКТ к эндотоксину, поскольку доза (1мкг) вводимого препарата была неэффективной.

В описываемых сериях экспериментов проведен аналогичный анализ активности эфферентных волокон дорсального ствола вагуса под диафрагмой [21], регистрируемой в тех же, как и прежде, условиях. Фоновая импульсация нерва представлена, надо подчеркнуть, сравнительно слабо выраженными по амплитуде потенциалами и сохраняется на некотором постоянном уровне (с небольшими отклонениями) без посторонних воздействий на interoцепторы. При растяжении ободочной кишки отмечается незначительное увеличение активности по частоте и амплитуде.

Раздражение механорецепторов ободочной кишки колитных крыс, как и при регистрации реакций симпатических эфферентных волокон, вызывает снижение спонтанной импульсации эфферентов вагуса. Как правило, в этих опытах наблюдалось ослабление тонической эфферентной импульсации. Так, в сравнении с соответствующими характеристиками спонтанной активности в контроле уровень достоверности (P) падения частоты фоновой (регистрируемой до раздражений рецепторов кишки) эфферентной импульсации вагуса у колитных крыс составил $< 0,001$, амплитуды – был равен 0,08. Для сравнения с отмеченными данными в просвет ободочной кишки вводили ЛПС до формирования воспаления. В таких случаях в эфферентах вагуса возникает довольно быстро (латентный период меньше 1 мин) тормозная реакция, т.е. спонтанная импульсация угнетается. По данным всей серии опытов ($n=6$) средняя частота импульсации составляла в фоне – 136 ± 5 имп/с, а при действии ЛПС – 22 ± 7 имп/с ($p < 0,001$); амплитуда, соответственно – $4,2 \pm 0,5$ мкВ и $2,8 \pm 0,4$ мкВ ($p < 0,08$). Растяжение ободочной кишки, производимое на фоне действия ЛПС, инфузируемого в толстую кишку, остается без реакции изменений эфферентной активности блуждающего нерва [21]. Следует отметить, что введенный в ободочную кишку ЛПС в условиях экспериментального колита вызывает резкое и глубокое торможение исходной импульсации на длительное время. Средняя частота импульсации во всех этих опытах составляла: в фоне – 56 ± 12 имп/с, в реакции – 13 имп/с, $p < 0,01$; амплитуда соответственно $2,8 \pm 0,2$ мкВ и $1,9 \pm 0,04$ мкВ, $P < 0,006$ ($n=6$).

Активность симпатических волокон селезеночного нерва отличается не ингибирующей, как обычно, а стимулирующей реакцией при действии ЛПС на слизистую оболочку ободочной кишки. Но тот же раздражитель у колитных крыс имеет своим следствием тормозную реакцию [22].

Проведенные исследования позволяют заключить, что в процессе развития колита происходило существенное ослабление тонической импульсации и рефлекторных реакций эфферентных волокон вагуса под диафрагмой, (как и брыжеечных нервов), о чем свидетельствуют факты снижения по частоте и амплитуде фоновой импульсации и отсутствия реакции на раздражение механорецепторов ободочной кишки. Таким образом, при возникновении воспаления в толстой кишке изменения в нервно-рефлекторной регуляции функции связаны с угнетением симпатического и парасимпатического эфферентного звена эффектов, не ограничиваются толстой кишкой, а распространяются на весь ЖКТ, т.е. носят системный характер и служат показателем большой зависимости процессов нервной регуляции висцеральных функций от ЛПС грамм-отрицательных микроорганизмов и провоспалительных цитокинов.

Вместе с тем полученные данные свидетельствуют, что в условиях колита эндотоксины представляют собой основополагающие факторы поддержания патологических процессов путем стимуляции продукции в кишке цитокинов, других физиологически активных веществ, действие которых распространяется на местные механизмы регуляции функций и системные нервно-гуморальные interoцептивные рефлекторные реакции. Представленные экспериментальные факты о модуляции активности симпатических и парасимпатических нейронов служат доказательством реагирования сегментарных и надсегментарных центральной нервной системы структур на периферическое действие эндотоксинов.

В ряде исследований, в которых анализировали электрическую активность нейронов ретикулярной формации продолговатого мозга, установлено, что инфузия ЛПС (10мкг) в тощую кишку сопровождается усилением регистрируемой внеклеточно микроэлектродом суммарной импульсации нейронов, а в ободочную, наоборот – угнетением активности РФ. Эти реакции существенно преобразуются, если раздражитель инфузируется на фоне колита: с тощей кишки ответы становятся ингибирующими в виде торможения на длительный период потенциалов (≈ 30 мин), а с ободочной кишки тоническая (фоновая) активность нейронов РФ не изменяется [23, 24]. Следовательно, в условиях экспериментального колита происходит нарушение афферентных связей толстой и дистальной части тонкой кишки с продолговатым мозгом. Эти эффекты сопряжены с выявленными в электронномикроскопических исследованиях структурными перестройками. Так, в отличие от контрольных экспериментов, в ядре солитарного тракта на 4-е сутки колита обнаружено разрастание глии, распад дендритов и аксонов. Периваскулярное пространство расширено и к капиллярам вплотную прилегают макрофаги с включенными в их цитоплазме продуктами распада клеток [25]. В дорсальном моторном ядре вагуса сосредоточено большое число везикул, возрастает количество глиальных клеток и их отростков, выявляются деструктивные изменения нервных элементов, нарушения структуры синапсов: уменьшение количества или отсутствие везикул, набухание митохондрий и разрушение их крист. В микроциркуляторном русле наступают изменения, подобные наблюдаемым в сосудах ядра солитарного тракта [25]. Эти экспериментальные материалы указывают на ослабление межнейронных связей в продолговатом мозге при колите, что и проявляется в ослаблении нервного контроля функций ЖКТ.

Как следует из дальнейших исследований, РФ продолговатого мозга играет решающую роль в организации ответных реакций на интероцептивные воздействия. Так, внутрибрюшинное введение 10 мкг ЛПС в остром эксперименте сопряжено с хорошо выраженным, статистически достоверным угнетением тонической внеклеточно регистрируемой импульсной активности дорсомедиальной бульбарной РФ на 35–50% от исходных, фоновых значений частоты. Латентный период ответов 15–17 мин, продолжительность – более 2 часов. В этих же экспериментах регистрировали изменения в содержании КА, проявляющиеся в генерализованных эффектах. Установлено достоверное уменьшение содержания норадреналина и адреналина в надпочечниках и повышение этих показателей в других тканях – сердце, селезенке, крови, а также норадреналина в лимфатических узлах брыжейки [26].

На введение внутрибрюшинно 40 мкг ЛПС получены такие же изменения КА в отмеченных выше тканях. Дополнительно установлено повышение норадреналина и адреналина в подвздошной кишке, гипоталамусе, продолговатом мозге. По прошествии 5 часов инъекции ЛПС содержание КА в тканях снижено, кроме повышенного уровня адреналина в надпочечниках и селезенке [26].

Гуморальные пути взаимодействий. В связи с представленными выше экспериментальными данными, указывающими на угнетение, а также на инверсию центрально обусловленных рефлекторных взаимосвязей внутренних органов во время острой фазы воспаления, на передний план в таких ситуациях выступают и становятся доминирующими периферические внецентральные взаимодействия органов вегетативной сферы организма. Получены конкретные доказательства этого положения.

Регистрировали одновременно потенциалы гладких мышц различных отделов ЖКТ. Денервация ЖКТ осуществлялась путем перерезки под диафрагмой вентрального и дорсального стволов блуждающего нерва (ваготомия), а также всех постганглионарных нервов в области чревной, краниальной и каудальной брыжеечной артерий (для устранения связей желудка и кишечника с краниальными и каудальными брыжеечными ганглиями) до регистрации указанных показателей. Кроме того, на границе с *rectum* производили перерезку толстой кишки вместе с тазовыми нервами.

Примечательно, что спонтанная электрическая активность исследуемых участков ЖКТ в условиях перерезки экстраорганных нервов представлена высокоамплитудными медленными волнами возбуждения и в сегментах тонкой кишки протекает в виде залпов электрических осцилляций. Намного чаще, чем в норме, локально возникают быстрые потенциалы, отражающие местное сокращение кишки или желудка.

Введение в желудок воды сопровождается усилением в большей или меньшей степени текущих потенциалов во всех изученных частях кишечника, в отличие от контрольных опытов, когда имеют место тормозные ответы (в условиях сохранения иннервации). В соответствии с обобщенными результатами в большей части опытов (65%) происходит увеличение амплитуды медленных импульсов гладких мышц. Как следует из данных таблицы 2, достоверные эффекты

характерны для двенадцатиперстной, подвздошной, ободочной кишки. Что касается быстрых потенциалов, которые служат показателем сократительных ответов гладких мышц, то вслед за инфузией в желудок воды также отмечаются преимущественно стимулирующие ответы, но в двенадцатиперстной кишке они недостоверны (таблица 2). Только тормозные реакции, т.е. понижение амплитуды импульсов, а также фазные ответы, наблюдаются лишь в единичных случаях, поэтому в анализ данных они не включены.

Пиковые потенциалы возникают обычно спорадически, тогда как медленные, будучи увеличенными по амплитуде, регистрируются более длительное время. Из других особенностей эффектов следует отметить большую вариабельность их латентных периодов от 40–60 с до 15 мин и относительно большая продолжительность реакций гладких мышц, наблюдаемых в течение всего эксперимента.

Подобные изменения регуляторных процессов характерны для эффектов инфузии в желудок молока, отражающих, как можно предполагать, типичную картину в ответах на пищевые раздражители в условиях нарушений иннервации ЖКТ или функциональных расстройств нервных связей с ЦНС. Так, значительное торможение (по показателям потенциалов гладких мышц) гастродуоденальной зоны, регистрируемое в норме, как показатель рецептивной релаксации, преобразуется в противоположные стимулирующие реакции после внешней денервации желудка и кишечника.

Табл. 2. Реакции увеличения амплитуды потенциалов (мкВ) гладких мышц кишки после введения в желудок воды в условиях денервации ЖКТ

Отдел кишки	Быстрые		Медленные	
	+	-	+	-
Двенадцатиперстная	29,2±5	44,3±5*	51,3±5	75,2±4**
Средняя часть тонкой	10,2±3	27±4**	92,4±12	144±19
Подвздошная кишка	10±2	38±10*	81±7	154,8±20**
Поперечная ободочная	14,6±2	48,8±5***	83,9±12	157±13**

Примечание. Результаты обработки данных 6-8 опытов. Цифры слева – фоновые значения, справа – эффекты на воздействие. Достоверность эффектов (*) от 0,05 до 0,001 соответствует количеству знаков; отсутствие знака – $p > 0,05$.

Примечательно, что такие же активирующие, хорошо выраженные ответы на молоко возникают и на фоне сформированного колита, несмотря на денервацию этой зоны ЖКТ [27].

Следует подчеркнуть, что в контрольных опытах поперечные перерезки в области средней части тонкой кишки не устраняют реакций гладких мышц подвздошной и ободочной кишки на введение применяемых раздражителей в желудок, что служит доказательством существования гуморального пути влияний с одного участка ЖКТ на другой.

В аналогичных по методической организации экспериментах (внешняя денервация ЖКТ) изучены эффекты воздействий экзогенного ЛПС на слизистую оболочку толстой кишки. Обработка полученных материалов показала, что реакции желудка и подвздошной кишки представлены чаще (в 75% опытов) стимуляцией и реже угнетением регистрируемой электрической активности. Это относится к медленноволновым и быстрым потенциалам (таблица 3). Гладкие мышцы двенадцатиперстной, средней части тонкой кишки почти в равной мере реагировали увеличением или, в других опытах, уменьшением амплитуды потенциалов. В желудке в большей степени выражены стимулирующие ответы.

Несмотря на поперечную перерезку в контроле каудальной части тощей кишки отмеченные ответы гладких мышц желудка, двенадцатиперстной и проксимальных сегментов тощей кишки сохранялись (таблица 3). Таким образом, ЛПС, как и другие активные вещества, поступающие из кишечника в общую циркуляцию, сохраняют возможность в отсутствие внешнего нервного контроля поддерживать функциональные взаимосвязи различных отделов ЖКТ.

Табл. 3. Изменение амплитуды (мкВ) потенциалов гладких мышц желудка и кишки после введения в поперечную ободочную кишку ЛПС (0,5–1 мкг в 0,5 мл изотонического раствора NaCl) в условиях внешней денервации ЖКТ

Отдел ЖКТ	Быстрые		Медленные	
	+	-	+	-
	+	-	+	-

Желудок	11,4±3 32,7±4*	15,8±3,3 11±3	124,6±11,8 267,3±39**	137,3±39,9 56±10
Двенадцатиперстная кишка	20,4±4,3 50,6±18,3	27,6±1,9 13,6±1,3*	51,8±12,5 100±37,4	51,2±5,4 24±6,1*
Тощая кишка	18,3±4 90,8±31,1*	13,2±1,8 4,6±1,6*	93,7±22,7 153,3±34	78,8±14,5 35,7±7,3*
Подвздошная кишка	9,67±1,9 84,2±33*	7,9±1,4 4,3±0,97	67,4±12 113,5±19,6	66,4±20,5 22,7±7

Примечание: Реакции увеличения (+), уменьшения (-) амплитуды потенциалов. Результаты обработки 5–7 опытов по каждому отделу ЖКТ. Цифры вверху – фоновые значения, внизу – эффекты на воздействие. Остальные примечания как в таблице 1.

В серии опытов с внешней денервацией ЖКТ установлено участие гуморальных факторов в передаче периферических сигналов в эффектах изменения активности симпатических эфферентных нейронов узлов чревного сплетения. В частности, введение в желудок 1 мкг ЛПС сопровождается значительным и продолжительным угнетением эфферентной импульсации в селезеночном нерве с латентным периодом 5–10 мин, либо в постганглионарных нервах чревного сплетения в условиях денервации желудка и кишечника [28]. Последние эффекты свидетельствуют о влиянии ЛПС (прямо или опосредовано цитокинами) на активность структур ЦНС. Подобные тормозные симпатингибирующие ответы регистрируются и в контроле, когда иннервация ЖКТ не нарушалась.

Таким образом, после прерывания нервных связей ЖКТ с нервными центрами, пара- и превертебральными ганглиями сохраняется возможность взаимодействий гуморальным путем желудка и дистальных отделов кишечника, т.е. как в кранио-каудальном, так и в обратном направлении. Такие же реакции характерны для опытов, выполненных в условиях колита при сохранении нервных связей с ЦНС интактными, но на фоне угнетения (как показано выше) эфферентной импульсации в вагусе под диафрагмой, а также в краниальных, каудальных брыжеечных нервах. На этом основании сделано заключение, что в определенных ситуациях формирования патологических состояний организма происходит нарушение нервно-рефлекторных взаимосвязей внутренних органов, в частности различных отделов ЖКТ, но система сохраняет взаимосвязи в основном за счет гуморальных путей. Возбудимость структур интрамуральной нервной системы, участвующих в реализации сократительных реакций гладких мышц, в таких ситуациях повышается.

Системные механизмы регуляции функций. Воспалительные изменения в кишечнике существенно влияют на вегетативные функции организма как у животных, так и у человека. Четкие данные получены относительно роли адренергической иннервации. Болезнь воспаленной кишки сопряжена с торможением освобождения симпатическими эфферентными волокнами НА и уменьшением тем самым ингибирующих влияний на периферии, сопровождаемым нейрогенной секреторной диареей, или поддержанием хронического воспаления [8]. В ряде исследований продемонстрировано тормозное действие на продукцию провоспалительных цитокинов не только симпатических, но и парасимпатических эфферентных волокон [29, 30]. Вместе с тем не вызывает сомнения тот факт, что в период иммунного ответа провоспалительные цитокины – ИЛ-1, ИЛ-6, TNF- α и эндотоксин могут на уровне ЦНС активировать гипоталамо-гипофиз-надпочечниковую и систему других центров регуляции функции [31–33]. Микробы кишечника продуцируют многие нейроактивные вещества, действующие на коммуникации ЖКТ с мозгом, а также прямо или опосредовано на центральные нейроны. 90% серотонина, оказывающего влияния на ЦНС, производится кишечной микробиотой [32–34].

Но как оказалось, приведенные данные отражают лишь часть более сложных взаимоотношений мозг-кишечник-иммунная система. В наших, представленных выше, исследованиях установлено, что на ранних этапах развития экспериментального колита наступает глубокое и относительно продолжительное торможение активности эфферентных парасимпатических (под диафрагмой) и симпатических волокон ЖКТ. Более того, показано значительное угнетение активности отмеченных центробежных волокон желудка и кишечника после введения в ободочную кишку и другие отделы ЖКТ ЛПС *E.coli*. Эффекты обусловлены не только нервными, но и гуморальными факторами, поскольку сохраняются после денервации ЖКТ.

В соответствии с материалами, накопленными к настоящему времени, и собственных данных, можно представить в общем виде основные характеристики и последовательность взаимозависимых нейро-гуморальных реакций, являющихся детерминантами в механизмах расстройств моторики

кишки, и формирующихся в виде самоподдерживающегося системного контура. В начальный период процессов под влиянием разного рода экстремальных ситуаций, ведущих к дисбиозу микробиоты кишечника, формируются воспалительные реакции в слизистой оболочке вследствие накопления в кишке провоспалительных цитокинов, других медиаторов, метаболитов. С последующим их поступлением в кровяное русло и ЦНС включаются на супrasegmentарном уровне симпатингибирующие нервные механизмы, понижается возбудимость парасимпатических эфферентных нейронов, продолговатого мозга и в тоже время усиливается деятельность энтеральной нервной системы, реагирующей на местные раздражители.

Вследствие этого существенно ослабевает центральный тормозный контроль двигательной активности желудка и кишечника, реализуемый центробежными симпатическими и парасимпатическими эфферентными волокнами, прерываются или ослабевают соответствующие interoцептивные рефлекторные реакции, замыкающиеся на уровне ЦНС. В силу указанных обстоятельств возникает особое функциональное состояние периферических регуляторных механизмов, сопряженное с инверсией или снижением ингибирующего в норме действия адекватных раздражителей на гладкие мышцы воспаленной ободочной кишки в стимулирующие, а также с угнетением тормозных рефлекторных влияний дистальных отделов кишечника на проксимальные и включением в основном гуморального механизма активирующих (потенцирующих) влияний на моторику толстой кишки, желудка, двенадцатиперстной, тощей кишки. Важным звеном в означенных событиях является понижение порога и значительное усиление двигательных реакций толстой кишки с проксимальных отделов ЖКТ. Именно эти события имеют место (согласно полученным данным) при введении экзогенного ЛПС в кишку и в условиях сформированного колита, когда независимо от места действия на кишку пищевого или другого адекватного раздражителя повышается моторная функция, транзит кишечного содержимого. В итоге, как можно предположить, возникает диарея и прочие нарушения моторики кишки.

Отмеченные взаимодействия создают, как мы предполагаем, условия для возникновения рефлекторных контуров с положительной обратной связью, направленных на постепенное усиление моторики и транзита толстой кишки. Проявлением их деятельности является включение механизма стимулирующих влияний воспаленной ободочной кишки на активность гладких мышц желудка, тонкой кишки (в основном гуморальным путем), что в свою очередь, в порядке последующего рефлекторного отклика, обусловленного возбуждением миентеральных нервных сетей проксимальных отделов кишечника, желудка, сопровождаемым интенсификацией за счет также гуморальных факторов (в основном) двигательной деятельности дистальных отделов толстой кишки. В итоге формируются взаимно усиливающиеся стимулирующие взаимовлияния проксимальных и дистальных отделов ЖКТ. Вполне возможно, что в характеризующую функциональную схему входят и сегментарные реакции, связанные с возбуждением при колите афферентных волокон тазового нерва.

Приведенные выше наши данные о возникновении повреждений в слизистой оболочке кишки после перерезки брыжеечных нервов позволяют предполагать, что в норме поддерживается тонический тормозный нервный контроль иммунного состояния в тканях брюшной полости. В различных ситуациях интенсивных воздействий на организм могут возникать, как можно предположить, относительно длительно самоподдерживающиеся воспалительные процессы в организме. Одним из главных механизмов, способствующих подобным состояниям, является выявленное в нашей работе торможение симпатической и парасимпатической импульсации в нервах ЖКТ в условиях колита и действия ЛПС. В результате создаются благоприятные условия для повышения образования в кишечнике (и в других, вероятно, тканях) провоспалительных цитокинов из-за устранения тормозного действия β -адренорецепторов на иммунокомпетентные клетки, как и парасимпатических эфферентных волокон, опосредующих свое ингибирующее влияние посредством $\alpha 7nAChRs$ [30, 39, 40]. В таких ситуациях самоподдержание воспалительных ответов сохраняется и обеспечивается обратной связью провоспалительных цитокинов, ингибирующих на уровне вегетативных нервных центров активность эфферентных волокон ЖКТ, за счет чего их продукция на периферии не угнетена или ослаблена тормозным действием на иммунциты и другие клетки эфферентных проводников брыжеечных нервов. Эти взаимоотношения лежат в основе хронического воспаления в связи с ослаблением или снятием ингибирующих симпатических и парасимпатических эфферентных влияний на иммунные реакции кишки и других органов, способствуя тем самым продукции провоспалительных цитокинов.

Согласно многочисленным исследованиям детерминантами интенсивного локального образования цитокинов воспаления является паракринная и аутокринная стимуляция иммунных клеток собственными провоспалительными цитокинами по механизму положительной обратной связи, а также постепенное увеличение количества иммунцитов, тучных клеток, миграция к месту повреждения слизистой оболочки большого числа лимфоцитов, продукция воспалительных белков эпителиоцитами, эндотелиальными и частично эндокринными клетками в кишке в основном за счет TLRs.

Указанные процессы в динамике развития имеют своим следствием неизбежное ослабление воспалительных ответов в силу элиминации, устранения начального, исходного, запускающего в действие систему стимуляторов, повреждающих ткани, патогенных факторов, снижающих защитные иммунные реакции. В последующем важную роль приобретают противовоспалительные цитокины, метаболиты (например ИЛ-10, TGF- β , SCFAs и др.), которые постепенно уменьшают синтез и секрецию инфламаторных протеинов. Выявлен ряд антимикробных нейропептидов, характеризующихся антимикробным действием в кишечнике на различные микроорганизмы [35, 36]. Тем не менее означенный процесс впоследствии ослабевает, поскольку продукция противовоспалительных пептидов постепенно уменьшается из-за ослабления (общего количества) стимулирующих факторов – провоспалительных медиаторов, потенцирующих на предыдущем этапе инфламаторные ответы. Таким образом, реакции повышения и понижения иммунной активности тесно связаны между собой, взаимозависимы и составляют основу механизма иммунного гомеостаза и представляют собой реципрокные контуры регуляции. Наряду с указанными процессами ослабление воспаления тканей в значительной мере зависит от поэтапного восстановления тонического тормозного действия медиаторов адренергических холинергических нервов на иммунокомпетентные структуры органов в очаге воспаления, что ведет к снижению продукции провоспалительных ЛПС и цитокинов.

Механизм реципрокных отношений про- и противовоспалительных ответов, именуемых как реакции Th1 и Th2, находится, вероятно, в активном, хотя и значительно редуцированном, состоянии и в обычных, физиологических условиях регуляции вегетативных функций. В крови, как правило, сохраняется на некотором, хотя и на весьма сниженном уровне, продукция как инфламаторных цитокинов, так и проантивоспалительных модуляторов иммунных реакций. В кишечнике постоянно имеются эндогенные и экзогенные антигены, которые выступают в роли внутренних раздражителей и вносят свой вклад в постоянное влияние на базальную иммунную активность организма по представленному механизму реципрокных отношений. Однако существенное отличие от патофизиологического состояния заключается в том, что в условиях нормы сохраняется центральный нейрогормональный контроль иммунных реакций за счет ГГНС, СНС, парасимпатических эфферентных волокон. Функция центробежного управления заключается в поддержании генерализованного тонического тормозного периферического действия антигенов на иммунную систему, препятствующего неадекватной реакции на патогены, которые не требуют интенсивного вмешательства местных защитных реакций.

Таким образом, на начальных этапах развития воспаления в кишечнике и в последующее время течения данного процесса функционирует комплексная система факторов, включающих нервные, нейропептидные, гормональные составляющие модуляции неспецифических иммунных реакций. Местные реакции обусловлены активацией в общей популяции иммунокомпетентных клеток, механизмов, обеспечивающих экспрессию воспалительных генов с одновременным угнетением противоположных по направленности противовоспалительных реакций, что обусловлено блокированием передачи внутриклеточных сигналов (на действие внешних противовоспалительных медиаторов) к соответствующим воспалительным генам клеток, участвующих в иммунном гомеостазе.

В настоящее время известно, что микробиота кишечника играет ключевую роль в нарушении гомеостаза внутренней среды организма по причине ее дисфункции, нарушения соотношения микробов. В этих процессах могут участвовать многие внутренние и внешние раздражители различной продолжительности и интенсивности.

Согласно накопленной информации во время COV-19 заболевания в кишечнике, в связи с инвазией инфекции, дисбиоза микрофлоры, продуцируются в большом количестве провоспалительные цитокины и другие активные вещества [37, 38], что сопряжено с повышением проницаемости энтерального и гематоэнцефалического барьера и поступлением в кровяное русло, а затем и в мозг, многочисленных микробных метаболитов, цитокинов, медиаторов, нарушающих

регуляторные функции нервной системы, проявлением чего являются неврологические и прочие расстройства, характерные для COV-19 вирусной инфекции [38, 39].

В числе такого рода отклонений от нормы значительных функциональных нарушений находится процесс “цитокинового шторма”. В основе интенсивной продукции и масштабности провоспалительных цитокинов лежит, как можно предположить, представленный в настоящей статье механизм самоподдержания продукции цитокинов, метаболитов, микрофлорой кишечника, согласно которому выделяемые микроорганизмами воспалительные цитокины, эндотоксины угнетают нервно-гуморальным путем (на уровне ЦНС) тормозное диффузное действие на внутренние органы, на иммунциты эфферентных симпатических и парасимпатических волокон [30, 39, 40], в связи с чем облегчается в той или иной мере продукция на периферии данных медиаторов. Продолжительные постковидные расстройства [37, 38] также могут быть обусловлены сформировавшимися в период инфекции другими взаимообуславливающимися отношениями микробиома кишки–мозг.

Литература

- [1]. *Nishida A., Nishino K., Sakai K.* Can control of gut microbiota be a future therapeutic option for inflammatory bowel-diseases // *World J. Gastroenterol.*, 2021. 27/23. P. 3317–3326.
- [2]. *Stange E. F., Schroeder B.O.* Microbiota and mucosal defense in IBD: un update // *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2019. Okt. 13(10). P.963–976.
- [3]. *Pothoulakis C., Castagliuolo I., LaMont J.T.* Nerves and intestinal mast cells modulate responses to enterotoxins// *News Physiol Sci.* 1998. Vol.13. P.58–63.
- [4]. *Schiffrin E., Thor M., Carter E.* Conbinuous infusion of lipopolysaccharide produces chronic intestinal inflammation in germ free rats // *Gastroenterol. Nutr.* 1993. Vol. 17, N3. P. 271–275.
- [5]. *Сергеев В. А.* Инверсии реакций гладких мышц толстой кишки на действие норадrenalина в условиях экспериментального колита // *Новости медико-биол. наук.* 2005, № 1. С. 31–34.
- [6]. *Сергеев В. А., Солтанов В. В.* Влияние аденозина на электрические разряды гладких мышц двенадцатиперстной и ободочной кишки крысы при внутрикишечном введении эндотоксина // *Новости медико-биологических наук (News of Biomedical Sciences).* Мн. 2004, № 1. С. 13–18.
- [7]. *Солтанов В.В., Комаровская Л.М., Шерстяк А.И.* Роль симпатических эфферентных волокон в формировании воспаления в слизистой оболочке кишки // В сб. *Материалы международной научной конференции «Фундаментальные и прикладные аспекты воспаления»*, Минск, 2011. С.198–200.
- [8]. *Elenkov I.J., Chrousos G.P.* Stress hormones, proinflammatory and Antiinflammatory Cytokines and Autoimmunity // *Ann. N.V. Acad. Sci.*, 2002. Vol. 996, N. 1. P. 290–303.
- [9]. *Straub R.H., Wiest R., Strauch U. G. et al.* The role of the sympathetic nervous system in intestinal inflammation // *Gut.* 2006. Vol. 55, N 11. P. 1640–1649.
- [10]. *Солтанов В. В., Сергеев В. А., Комаровская Л. М.* Особенности изменений моторики кишечника при действии раздражителей в условиях экспериментального колита // *Известия НАН Беларуси. Сер. мед. наук.* 2007, № 3. С. 28–33.
- [11]. *Солтанов В. В., Сергеев В. А.* Особенности влияния аденозина на моторику тонкой кишки при экспериментальном колите // *Известия НАН Беларуси. Сер. мед. наук.* 2006, № 4. С. 28–32.
- [12]. *Martim E., Krug S., Siegmund B. et al.* The Epithelial Barrier and its Relationship With Mucosal Immunity in Inflammatory Bowel Disease // *Cell. Mol. Gastroenterol. Hepatol.* 2017. Vol. 4, N 1. P. 33 – 46.
- [13]. *Богач П. Г.* Моторная деятельность тонкого кишечника. // В кн.: *Физиология пищеварения. Руководство по физиологии.* Изд-во «Наука», Ленинград. 1974. С. 474–521.
- [14]. *Солтанов В.В., Сергеев В.А., Лукашенко Т.М., Комаровская Л.М.* Нервные механизмы расстройств двигательной активности толстой кишки // В кн.: *Нейрогуморальные механизмы регуляции функций в норме и патологии.* Мн. Бизнесофсет. 2007. С.224–232.
- [15]. *Сергеев В.А., Солтанов В.В.* Изменения моторики двенадцатиперстной кишки при действии холиномиметиков на ободочную кишку в условиях модели колита // В кн.: *Сигнальные механизмы регуляции физиологических функций.* Мн., «РИВШ». 2007. С. 250–252.
- [16]. *Сергеев В. А.* Особенности действия липополисахарида *E. Coli* на гладкие мышцы подвздошной и ободочной кишки до и после субдиафрагмальной ваготомии // *Известия НАН Беларуси. Сер. мед.- биол. наук (News of biomedical sciences).* 2002, № 3. С. 29–32.
- [17]. *Сергеев В. А., Комаровская Л. М.* Механизмы нарушений моторики кишечника в условиях экспериментального колита// В сб. *Функциональные системы организма в норме и при патологии.* Сборник научн. трудов. Минск. РИВШ. 2008. С. 319–323.
- [18]. *Солтанов В.В., Сергеев В.А., Комаровская Л.М.* Изменение транзита и электрической активности толстой кишки в условиях экспериментального колита // *Вестці НАН Беларусі. Сер. мед. навук.* 2009, № 1. С. 70–76.
- [19]. *Солтанов В.В., Сергеев В.А.* Особенности адаптивных реакций гладких мышц желудка и двенадцатиперстной кишки в условиях экспериментального колит // *Новости медико-биологических наук. News of Biomedical Sciences.* 2008, № 1–2. С. 46–49.

- [20]. *Солтанов В. В., Комаровская Л. М.* Активность эфферентных волокон краниальных брыжеечных нервов в условиях колита // В кн.: *Функциональные системы организма в норме и при патологии.* Мн. 2008. С. 324–329.
- [21]. *Солтанов В. В., Комаровская Л. М.* Угнетение активности эфферентных волокон вагуса и брыжеечных нервов в условиях колита. // В кн.: *Проблемы регуляции висцеральных функций. Сборник научн. статей, посв. 90-летию НАН Беларуси.* Мн. 2008. С. 222–227.
- [22]. *Солтанов В.В., Комаровская Л.М.* Особенности изменений импульсации эфферентных волокон селезеночного нерва при введении липополисахарида *E. coli* в желудок крыс до и после ваготомии // Доклады НАН Беларуси. 2004. Т. 48, № 4. С. 67–70.
- [23]. *Солтанов В. В., Лукашенко Т. М.* Активность нейронов ретикулярной формации продолговатого мозга при введении липополисахарида *E. coli* в тонкую кишку // Весці НАН Беларусі. Сер. мед.-біял. навук. 2001, № 2. С. 30–33.
- [24]. *Soltanov V.V., Lukachenko T.M.* The bulbar neuron activity after intracolonic or intraabdominal administration of lipopolysaccharide *E.coli* in conditions of experimental colitis in rats // *Новости медико-биологических наук (News of Biomedical Sciences).* Мн., 2005, № 1. С. 14–18.
- [25]. *Емельянова А. А., Жукова Н. Д., Солтанов В. В.* Особенности ультраструктуры брыжеечных лимфатических узлов крысы в разные сроки действия липополисахарида *E. coli*.// *Новости медико-биологических наук (News of biomedical sciences).* 2004, № 4. С. 52–60.
- [26]. *Солтанов В. В., Лукашенко Т. М., Левковец В. С.* Реакции нейронов ретикулярной формации продолговатого мозга, симпатoadренальной системы при внутрибрюшинном введении липополисахарида *E. coli* до и после ваготомии // Доклады НАН Беларуси. 2004.Т. 48, № 6. С. 62–65.
- [27]. *Солтанов В.В., Сергеев В.А.* Нервно-гуморальные механизмы гастро-дуоденальных расстройств у крыс с экспериментальным колитом // *Новости медико-биологических наук (News of Biomedical Sciences).* Мн. 2009, № 4. С. 22 – 27.
- [28]. *Солтанов В.В., Комаровская Л.М.* Роль липополисахарида *E. coli* в механизмах гуморального контроля активности симпатических эфферентных нейронов // Доклады НАН Беларуси. 2005. Т. 49, № 4. С. 77 – 80.
- [29]. *Bonaz B., Sinneger V., Pellisier S.* Therapeutic potential of vagus nerve stimulation for inflammatory bowel diseases // *Front Neurosci.* 2021, Mar 22; 15:650971.
- [30]. *Populin L., Stebbing M. L., Furness J. B.* Neuronal regulation of the gut immune system and neuromodulation for treating inflammatory bowel disease // *FASEB Bioadv.* 2021, Vol. 3, N 11 P. 953–966.
- [31]. *Elenkov I.J., Chrousos G.P.* Stress hormones, proinflammatory and anti-inflammatory cytokines and autoimmunity // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2002. Vol. 996. P. 290–303.
- [32]. *Rutch A., Kantsro L., Ronchi F.* The gut-brain axis: how microbiota and host inflammasome influence brain // *Physiology and Pathology.* 2020; 11: 604179.
- [33]. *Raimondi I., Izzo L., Tunesi M. et al.* Organ-on-A-cup in vitro Model of the brain and the blood-brain barrier and their value to study the microbiota-gut-brain axis in neurodegeneration // *Front Bioeng. Biotechnol.* 2019; 7 : 435.
- [34]. *Saldana-Mirales F. B., Kim D. V., Tsai M.-T. et al.* Healthy intestinal function relies on coordinate enteric nervous system, immune system, and epithelium responses // *Gut Microbes.* 2021. Vol. 13, N 1. P. 1–14.
- [35]. *Augustyniak D., Kramarska E., Mackiewicz P.* Mammalian neuropeptides as modulators of microbial infections: the dual role in defense versus virulence and pathogenesis // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. Apr. 1; 22(7): 3658.
- [36]. *Sanz J. A., Aidy S. A.* Microbiota and gut neuropeptides: a dual action of antimicrobial activity and neuroimmune response // *Psychopharmacology (Berl.).* 2019. Vol. 236, N 5. P. 1597–1609.
- [37]. *Yusuf F., Fahriani M., Mamada S.S. et al.* Global prevalence of prolonged gastrointestinal symptoms in COVID-19 survivors and potential pathogenesis: A systematic review and meta-analysis // *F 1000 Res.* 2021. 10:301.
- [38]. *Danilenko V., Devyakin A., Marsova M. et al.* Common inflammatory mechanisms in COVID-19 and Parkinson’s Diseases: the role of microbiome, probiotics and postbiotics in their prevention // *J. Inflamm. Res.* 2021. 14: 6349–6381.
- [39]. *Murtelli D., Farmer D.G.S., McKinley M. et al.* Anti-inflammatory reflex action of splanchnic sympathetic nerves is distributed across abdominal organs // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2019; 316/3:R235–R242.
- [40]. *Occhinegro A., Wong Ch., Chua B. et al.* The endogenous inflammatory reflex inhibits the inflammatory response to different immune challenges in mice // *Brain Behav Immun.* 2021; 97:371–375.

V. V. SOLTANOV, V. A. SERGEEV, L. M. KOMAROVSKAYA

MECHANISMS OF MODULATION OF GASTROINTESTINAL MOTILITY IN CONDITIONS OF EXPERIMENTAL COLITIS FORMATION

Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

Summary

It is established, that mechanical and chemical irritations of receptors of a stomach and various departments of a gut cause considerably weakened answers afferent fibres at colitis rats in comparison with the control, is especial in vagus under a diaphragm, on 30-50 % total activity Neurones Bulbar the Reticular Formation. Besides there is an essential easing interoceptive reflex answers in sympathetic efferent nerves of a belly cavity, vagus nerve under a diaphragm. Similar resulted effects are caused by introduction in various departments Gastrointestinal tract LPS (1-10 mkg).

During formation colitis there is almost full falling efferent impulses mesenteric nerves that entails ulceration a mucous membrane already in sharp experiences on rats, but damaging effects are more expressed in 4-6 day.

Under influence entered into experiences LPS there come significant changes of impellent reactions Gastrointestinal tract. At rats constantly (as well as at colitis animals) the answers of smooth muscles inverted on an orientation (by potentials) a stomach or an intestines in reply to action of adequate preparations (adrenaline, norepinephrine, adenosine, hydrocortisone), and also on irritation mechanoreceptors are registered. In comparison with the control (brake answers) there were basically stimulating reactions. It agrees to the data of all lead researches, microorganisms of intestines, cytokines, endotoxins, mediators form in aggregate important humoral a part (alongside with nervous) communications in mechanisms of essential modulations of peripheral and central interrelations in conditions of occurrence of inflammatory reactions in Gastrointestinal tract, as well as in other situations of changes of mutual relations intestinal microbiota - a brain.

Key words: colitis, endotoxins, microbiota, lypopolisaccharide, vagus, mesenteric nerves, the colon, efferent impulses, Gastrointestinal tract.

А.А. ЛАКУТИН

ВЕКТОРНЫЙ ПОДХОД В ОПИСАНИИ ВОСПРИЯТИЯ ПРИ ЗРИТЕЛЬНОЙ ПРЕДМЕТНОЙ АГНОЗИИ

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр медицинской экспертизы и реабилитации», Минск, Беларусь

Зрительная предметная агнозия наблюдается при различных психоневрологических заболеваниях, таких как: болезнь Альцгеймера, деменцию с тельцами Леви, болезнь Гентингтона и другие заболевания, при которых возникает поражение задних отделов коры головного мозга. По результатам аналитического обзора можно сделать вывод, что зрительная предметная агнозия возникает при нарушениях восприятия узловых (ключевых) свойств предмета при поражении соответствующих нейронов затылочных отделов коры головного мозга.

Ключевые слова: зрительная предметная агнозия, затылочная кора, нарушение восприятия ключевых свойств предмета.

Введение. Впервые зрительная агнозия была описана как нарушение восприятия, основанного на зрительной информации, при сохранности зрительных элементарных ощущений [24].

При зрительной предметной агнозии страдает восприятие физических объектов, а также их изображений. Лица со зрительной предметной агнозией, как правило, способны описать общую форму объекта, цвет, но при этом утрачивается способность указывать на ключевые детали, способствующие распознаванию объекта. Лица со зрительной предметной агнозией, могут горшок путать с мячом, арбузом и другими предметами округлой формы; зубную щетку воспринимать как карандаш, ручку. Перечисленные особенности восприятия у лиц со зрительной предметной агнозией указывают на утрату способности оперировать ключевыми деталями, вследствие чего возможно правильное узнавание предмета. Таким образом, лица со зрительной предметной агнозией оказываются неспособными правильно идентифицировать объект, изобразить или нарисовать его, но способны описать его простые признаки, форму, цвет. Этот тип нарушений восприятия можно обозначить как апперцептивная зрительная предметная агнозия [16, 24].

В данной статье предполагается, что при апперцептивной зрительной предметной агнозии происходит утрата способности оперировать ключевыми свойствами, позволяющими специфицировать и дифференцировать похожие между собой объекты. Функцию такого рода операций по восприятию ключевых деталей изображения могут выполнять детекторы сложных свойств, среди которых могут быть выделены детекторы узлов. Распознавание узлов или узловых элементов предмета позволяет оперативно обеспечить его узнавание [17–19]. Узловые элементы представлены как многочисленные варианты пересекающихся линий [17–19, 22].

Так было показано, что распознавание различных геометрических фигур осуществляется на основе узловых элементов, а не линий их составляющих [8, 9, 20–23]. В зрительной коре кошки были обнаружены нейроны, чувствительные к узловым элементам, представленные крестами, углами, Y-фигурами и стрелками [9–11, 20, 21]. Предполагается, что активация детекторов узловых элементов может представлять собой промежуточный процесс обработки зрительной информации. Ранняя обработка может быть представлена активацией детекторов более простых признаков: углов, ориентаций линий, формы [2–5, 13, 20, 31, 34]. Классические работы Хьюбела и Визеля (1990) показали, что ранние этапы зрительной обработки информации о форме, углах, ориентаций линий и их пересечений у приматов происходят в области V1, соответствующей полю 17 Бродмана зрительной коры [2]. В области V1 находятся ориентационные колонки и колонки глазодоминантности. В каждой ориентационной колонке представлена определенная ориентация линии. Область V2, частично находящаяся в поле 18 Бродмана, также принимает участие на раннем этапе зрительной обработки информации о форме предмета [22]. Так в области V2 имеются клетки, с настройкой в отношении ориентации и чередовании темных, и светлых полос [2, 22, 26].

Поздний этап обработки зрительной информации о предмете связан с активацией гностических единиц [13–15]. Понятие гностическая единица было введено Ю. Конорски (1970) и получило подтверждение в открытии гностических нейронов, локализуемых в зрительной области височной коры, каждый из которых был нацелен на восприятие определенного эмоционального выражения лица [7]. Гностические единицы принимают сигналы от нейронов нижних этажей, определяющих элементарные признаки объекта. Нейроны, настроенные на детекцию элементарных признаков, конвергируют на отдельной гностической единице, что определяет восприятие отдельного образа предмета [13–15, 17–19]. Многочисленные исследования нижневисочной коры

человека и обезьян показало существование гностических нейронов, каждый из которых был избирательно настроен в отношении лица человека, обезьяны, жестов, различных предметов [25–36].

Опыты Я. Мияшиты (1991) с обучением обезьян различать 97 фигур, также показали наличие гностических нейронов в передней части вентральной височной коры, каждый из которых был настроен на восприятие одного из 97 стимулов. Применение другого набора из 97 стимулов не показало селективной настройки гностических нейронов на их восприятие, сформированных в результате обучения на первый набор стимулов [29]. Таким образом, активация гностических нейронов может быть связана с восприятием отдельного сложного стимула или многомерного свойства предмета. Предполагается, что активация гностических единиц связана с конечным этапом обработки информации о стимуле.

По итогу, этап ранней обработки зрительной информации может состоять из активации нейронов-детекторов простых свойств (ориентации линий, углов), локализуемых в первичной (стриарной) зрительной коре. Промежуточная стадия может быть представлена возбуждениями нейронов-детекторов более сложных свойств, в частности таких как детекторы узловых элементов предмета. Анатомической основой промежуточной стадии обработки зрительной информации о предмете может являться экстрастриарная кора (поля 18, 19). Конечный этап обработки зрительной информации о предмете может быть представлен возбуждениями гностических нейронов, локализуемых в зрительной области височных отделов коры.

С позиции теории векторного кодирования информации, появлению субъективного образа предмета соответствует возбуждение гностической единицы, являющейся вершиной гештальт-пирамиды, построенной на нижних уровнях из детекторов простых и сложных параметров предмета [4, 5, 13–15, 17–19]. Установление связей между детекторами параметров предмета происходит на основании иерархически организованных, а не горизонтальных отношений (рис 1.).

На нижнем уровне гештальт-пирамиды (ромбы) располагаются нейроны-детекторы простых признаков. Средней уровень представлен нейронами-детекторами сложных свойств (треугольники) [15].

Выделенные на нижних уровнях гештальт-пирамиды с помощью нейронов-детекторов признаков отдельные параметры предмета, конвергируют на гностической единице в долговременной памяти. Тем самым, каждому зрительному гешталту ставится в соответствие гештальт-пирамида, а целостному образу соответствует возбуждение гностического нейрона на вершине гештальт-пирамиды [15].

Предполагается, что выпадение детекторов-узлов или выпадение среднего уровня гештальт-пирамиды соответствует появлению апперцептивной зрительной предметной агнозии у человека. Апперцептивная зрительная предметная агнозия чаще всего наблюдается при билатеральном поражении и ограничивается затылочными долями. Возможно, что в основе развития этого типа нарушений лежит поражение областей экстрастриарной коры (полей 18 и 19) при сохранности стриарной (поле 17) коры. Это предположение делается на основе клинических проявлений апперцептивной предметной агнозии. Лица с таковыми нарушениями сохраняют способность описать простые признаки предмета с помощью нейронов-детекторов ориентации линий, углов, локализуемых в стриарной коре, которые позволяют оценить общую форму предмета [16].

Гностическая единица

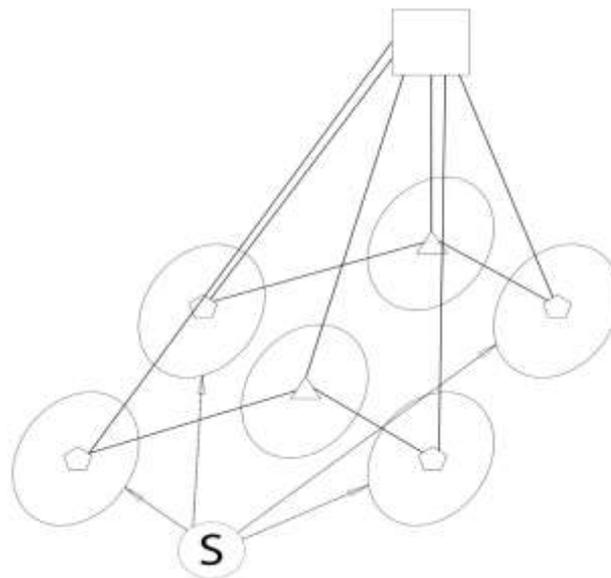


Рис. 1. Структура гештальт-пирамиды

Лица с апперцептивной зрительной предметной агнозией не обнаруживают значимых различий по сравнению со здоровыми испытуемыми в распознавании ориентации линий и различении величины углов, что может указывать на отсутствие очага поражения в стриарной коре в случае предметной агнозии [16].

Использование детекторов простых свойств предмета очень замедляет процесс оценки формы предмета, что проявляется в увеличении латентного периода узнавания формы предмета у лиц с предметной агнозией, однако может являться практически единственной альтернативой для описания предмета [16]. Возможность описания предмета с помощью простых свойств, позволяет произвести оценку его очертаний, формы [14, 17–19].

На следующем этапе, произведенная оценка очертаний предмета, сравнивается с наиболее приближительными моделями в долговременной памяти, которая представлена гностическими нейронами, минуя таким образом обработку информации в детекторах-узлов или среднего уровня гештальт-пирамиды по причине их выпадения. В этом случае, детекция предмета и максимум возбуждения происходит не на одном гностическом нейроне долговременной памяти, как если бы это было в случае отсутствия зрительной предметной агнозии, а на нескольких гностических нейронах, сигналы которых далее поступают на нейроны рабочей памяти префронтальных отделов коры, с целью выбора из числа представленных альтернатив. В пользу интактности гностических нейронов в височной коре у лиц с апперцептивной зрительной предметной агнозией, говорит тот факт, что лица с этим нарушением сохраняют способность оперировать целостными гештальтами или образами предметов. Об этом свидетельствуют попытки угадывания предмета, путем перебора различных гештальтов, а лица с невыраженной агнозией, сохраняют способность в части случаев правильно идентифицировать предмет [16].

Такая трактовка процесса зрительного восприятия предмета при апперцептивной зрительной предметной агнозии может быть рассмотрена с позиции сферической модели когнитивных процессов.

Материалы и методы. Сферической моделью когнитивных процессов принято называть модель, согласно которой, внешние стимулы отображаются на поверхности сферы в n – мерном пространстве. Внешние стимулы на сферической поверхности представлены возбуждениями нейронов-детекторов, избирательно настроенных на конкретные стимулы; следовательно, при изменении стимула, максимум возбуждения перемещается с одного нейрона-детектора на другой. Размерность пространства предполагается равной количеству входящих предетекторов [14].

Согласно теории векторного кодирования информации, для детекции наклона линии, достаточно двух предетекторов, реагирующих на противоположные концы линии. В данном случае, все множество нейронов-детекторов будет располагаться на окружности в двумерном пространстве, соответствующим двум нейронам-предетекторам [1, 3–6]. Нейроны-предетекторы образуют ансамбли и получают сигналы от рецепторов. Рецепторы в общем случае преобразуют стимул S в сигнал $s(q)$, где q – значение стимула. Далее сигнал $s(q)$ поступает на вход предетекторов, где переходит в набор сигналов $x_i(q)$, где i – тип предетектора. Так, при восприятии цвета, все множество цветов будет располагаться на поверхности гиперсферы в четырехмерном пространстве, где x_1, x_2, x_3, x_4 – декартовы координаты точек на поверхности сферы, которым соответствуют возбуждения нейронов-предетекторов [14].

Таким образом, видимый цвет, образует возбуждение 4 типов нейронов-предетекторов (красно-зеленого, сине-желтого, яркостного и темного), в результате которого, формируется вектор с сферическими (угловыми) координатами (β, α, ϕ) конец которого, указывает на конкретный формальный нейрон-детектор [14].

Формальный нейрон-детектор характеризуется синаптическим коэффициентом или согласно модели векторного кодирования – вектором синаптической связи (C). Внешнее воздействие можно рассматривать как вектор возбуждения (F). Вектор возбуждения (F) и вектор синаптической связи (C) расположены в n – мерном линейном пространстве. Тогда набор чисел $\{f_i\}$ ($i=1,2..n$), можно рассматривать как компоненты вектора возбуждения (F), а компонентами вектора связи (C) будут являться числа $\{c_{si}\}$, где s – номер детектора, i – номер синаптического входа s – детектора. Компоненты вектора (F) и вектора (C), равны проекциям на n – координатных осей; следовательно, количество входящих компонент в векторы (F) и (C) равно количеству предетекторов и ортогональных осей, образующих n -мерное пространство. Таким образом, используя векторные обозначения, выход s – детектора будет выглядеть следующим образом:

$$d_j = \sum_{i=1}^n c_{ji} f_i = (C_j, F) = |C_j| \cdot |F| \cdot \cos\alpha \quad (1),$$

где $|C_j|$ и $|F|$ – модули векторов (C_s) и (F), $\cos\alpha$ – угол образованный между векторами [1, 12, 14].

Формула (1) трактуется как скалярное произведение векторов $|C_j| \cdot |F|$, равное произведению модулей (длин) этих векторов и углу между ними ($\cos\alpha$). В том случае, когда $\cos\alpha=+1$, то возбуждение детектора (d_s) является максимальным. Это означает, что возбудится максимально тот детектор, вектор связи которого, коллинеарен (параллелен) вектору возбуждения ($C_s|F$), то есть их скалярное произведение будет равно 1. Вектор возбуждения (F) предетекторов поступает параллельно на каждый детектор, высчитывая с каждым из них скалярное произведение, образуя таким образом куполообразную поверхность, на вершине которой, будет находиться максимально возбужденный детектор. Остальные детекторы, будут возбуждаться тем меньше, чем больше угол между вектором возбуждения предетекторов и вектором синаптической связи. Из

этого следует, что реакция детектора равна косинусу угла между векторами, т.к. предполагается, что вектор возбуждения нормирован для всех стимулов, то есть постоянный ($|F|=f_1^2+f_2^2=1$). В сферической модели восприятия принято считать, что стимулы кодируются равными по длине (модулю) единичными векторами возбуждения преддетекторов. Каждый такой вектор возбуждения, образует скалярное произведение и с равными по длине векторами синаптической связи детектора. При воздействии нескольких стимулов, их различие может быть измерено углом между векторами возбуждения (F_q). Чем больше угол, тем больше длина (площадь) дуги (поверхности) между концами векторов возбуждения и тем больше субъективное различие между стимулами [12, 14].

Таким образом, каждому предмету в сферической модели, соответствует вектор возбуждения нейронов-преддетекторов, а его спецификация – возбуждению нейронов-детекторов. Такая трактовка процесса восприятия и спецификации предмета на детекторном экране соответствует психофизиологическим, электрофизиологическим и нейрофизиологическим экспериментальным данным [3–6, 13–15, 17–23].

Описанная сферическая модель позволяет сопоставить восприятие многомерного стимула, возбуждению гностической единицы или детектору со сверхсложными рецептивными полями. В качестве многомерного стимула могут выступать различные предметы, гештальты, представленные совокупностью кодируемых значений: ориентация линии, углы, цвет, контур, узлы и т.д. Для кодирования в нейронной сети предмета или многомерного стимула, требуется n – количество преддетекторов, в качестве которых выступают детекторы простых и сложных свойств гештальт-пирамиды. Так, черты лица кодируются с помощью детекторов ориентаций линий в поле 17 затылочных отделов коры. Комбинация данных детекторов образует четыре типа нейронов-преддетекторов, представляющие наклоны бровей и углов рта, а также их суммарные характеристики. Детекторы выражений эмоций или гностические единицы, входящие в модуль эмоциональной экспрессии лица, локализованы в зрительной области височной коры и получают возбуждения от преддетекторов. Таким образом, выделенные элементарные характеристики предмета, далее синтезируются на гностических нейронах долговременной памяти в височной коре.

При восприятии предмета в случае апперцептивной зрительной предметной агнозии, вектор возбуждения детекторов простых свойств, выступающих в качестве преддетекторов, будет блуждать в пределах релевантной гностической единицы. В результате образуется выход d_j нескольких максимально возбужденных детекторов. Такой процесс схож с тем, как может происходить восприятие предмета при высоком уровне шума, когда максимум возбуждения при постоянном стимуле, может блуждать по квазирецепторной поверхности вокруг некоторого детектора [12]. Учитывая константность размерности линейного пространства векторов связи гностических единиц, то, по-видимому, количество детекторов простых свойств будет таким же, как в случае, если бы детекторы сложных свойств были бы интактными. Последнее означает, что размерность пространства векторов связи гностических единиц и векторов возбуждения преддетекторов в случае апперцептивной зрительной предметной агнозии, будет равно размерности пространства в случае интактности детекторов сложных свойств при нормальном восприятии. В таком случае, преддетекторы простых свойств будут оказывать замещающую функцию в отношении детекторов сложных свойств при апперцептивной зрительной предметной агнозии. Преддетекторы простых свойств в случае одномерного (например, ориентации линии) значения предмета, будут иметь вид: $x_1(z)$, $x_2(z)$. Вид этих функций остается неизвестным. Таким образом, преддетекторы будут образовывать двухканальный модуль кодирования ориентации линии. Весь интервал одномерных значений $z \in (z_0, z_n)$ предмета, будет отображен на дуге окружности, детекторами ориентации линий [1]. Расстояние между детекторами, кодирующими значения z и $z+\Delta$ будет пропорционально углу $\Delta\alpha(z)$. При $\Delta\alpha(z) \rightarrow 0$, будем иметь плотность детекторов на дуге $d\alpha$. Учитывая порог различения одномерного значения $v(z)$ предмета, равный длине дуги между соседними детекторами, выражение для количества актуализированных одномерных значений z в пределах (z_0, z_n) , может выглядеть следующим образом:

$$Z = \int_{z_0}^{z_n} d\alpha v(z) dz,$$

где Z – количество актуализированных одномерных значений или возбужденных детекторов.

С учетом того, что гностические единицы или детекторы со сверхсложными рецептивными полями кодируют многомерное значение предмета, то функции преддетекторов предполагаются зависящими от нескольких независимых переменных ($n>1$). Учитывая психофизиологический смысл преддетекторов, кодирующих многомерное значение Z_r – предмета, функция каждого преддетектора предполагается следующей:

$x_{i,s..m}(Z_i, Z_s..Z_m)$, где $Z_{i,s..m}$ – одномерное значение предмета (яркость, ориентация линии, углы и т.д).

При разноименных индексах зависимой и независимой переменных $Z_{i,s..m} = const$. Например:

$x_i(z_i, z_s \dots z_m)$, где $z_s = z_m = const$; $x_s(z_i, z_s \dots z_m)$, где $z_i = z_m = const$ и т.д. Тогда общее число актуализированных многомерных значений или возбужденных гностических единиц будет следующим:

$$N = \int_{z_{i0}}^{z_{in}} \int_{z_{s0}}^{z_{sn}} \dots \int_{z_{m0}}^{z_{mn}} d\beta v_{i,j \dots n}(z_i, z_s \dots z_m) dz_i dz_s \dots dz_m = \\ = F(z_{in}, z_{sn} \dots z_{mn}) - F(z_{i0}, z_{s0} \dots z_{m0}) \quad (2),$$

где N – количество актуализированных многомерных значений Z_r или возбужденных гностических единиц, $d\beta$ – плотность гностических единиц при угле $\Delta\alpha(z_i, z_s \dots z_m) \rightarrow 0$, $v_{i,j \dots n}(z_i, z_s \dots z_m)$ – порог различения многомерного значения предмета на поверхности n – мерной сферы.

Результаты и обсуждение. Таким образом, в результате градуальных изменений преддетекторов простых свойств при апперцептивной зрительной предметной агнозии, максимум возбуждения перемещается по поверхности гностических единиц в пределах $Z_r \in (Z_{r0}, Z_{rn})$, что в результате создает выход нескольких Z_r – многомерных значений или гештальт-образов предмета. В случае же нормального восприятия предмета, максимум возбуждения происходит на одной гностической единицы, в результате спецификации детекторами узлов, что соответствует актуализации одного субъективного образа предмета.

По результатам анализа выявлено, что векторный подход в описании восприятия при апперцептивной зрительной предметной агнозии позволяет описать механизм появления субъективных образов предмета, а также роль детекторов простых свойств в компенсации нарушенного восприятия. Представляется вероятным, что при апперцептивной зрительной предметной агнозии возникает поражение детекторов сложных свойств, в частности представленных детекторами узловых (ключевых) свойств предмета или изображения. Описанному соответствует выпадение среднего уровня гештальт-пирамиды, при интактности нижнего, представленного детекторами простых свойств.

Таким образом, проведенный анализ позволил уточнить патофизиологические механизмы появления зрительной предметной агнозии.

Литература

- [1]. Вайткявичус Г., Соколов Е.Н., Черноризов А.М., Зинченко Ю.П. Векторная модель кодирования локальных параметров стимула в зрительной системе человека. Векторная психофизиология: от поведения к нейрону. Мн.: Россия, 2019. С. 213-226.
- [2]. Хьюбел Д. Глаз, мозг, зрение. Мн.: Мир, 1990. 239 с.
- [3]. Измайлов Ч.А. Геометрическая модель различения ориентаций линии, основанная на субъективных оценках и зрительных вызванных потенциалах / Ч.А. Измайлов, С.Г. Коршунова [и др.] // Журн.высш.нерв.деят.им. И.П. Павлова. 2004. Т.54. № 2.С. 3-9.
- [4]. Измайлов Ч.А. Зрительное различение сложных конфигураций: эмоциональная экспрессия человеческого лица / Ч.А. Измайлов, С.Г. Коршунова [и др.] // Теоретическая и экспериментальная психология. – 2009. – Т.2. № 1. С. 5-22.
- [5]. Измайлов Ч.А. Интегрирование простых признаков стимула в нейронных сетях зрительной системы / Ч.А. Измайлов, С.Г. Коршунова [и др.] // Нейрокомпьютеры: Разработка и применение. 2008. № 5-6. С. 34-36.
- [6]. Измайлов Ч.А. Конфигурационные и категориальные характеристики зрительного восприятия схематических фигур / Ч.А. Измайлов, Ю.А. Чудина // Вестник РУДН Серия: Психология и педагогика. – 2004. № 2. С. 210–228.
- [7]. Канорский Ю.М. Интегративная деятельность мозга. М.: Мир, 1970. 420 с.
- [8]. Каменкович В.М. Латентные периоды опознания человеком геометрических фигур при разной степени маскировки их сторон и углов / В.М. Каменкович, И.А. Шевелев // Физиология человека. 2006. Т. 32. С. 5-9
- [9]. Лазарева Н.А. Динамика настройки нейронов первичной зрительной коры кошки на ориентацию крестообразной фигуры / Н.А. Лазарева, Д.Ю. Цуцкеридзе [и др.] // Журн. высш. нервн. деят. им. И. П. Павлова. 2003. Т. 53. № 6. С.730-737.
- [10]. Лазарева Н.А. Избирательная чувствительность стриарных нейронов кошки к крестообразным и угловым фигурам разной ориентации / Н.А. Лазарева, И.А. Шевелев [и др.] // Нейрофизиология. – 1995. Т.27. № 5/6. С. 403-412.

- [11]. Лазарева Н.А. Чувствительность нейронов зрительной коры кошки к крестообразным фигурам при стимуляции центра и периферии рецептивного поля / Н.А. Лазарева, И.А. Шевелев [и др.] // Журн. высш. нервн. деят. им. И. П. Павлова. 1998. Т.48. № 3. С. 485-495.
- [12]. Соколов Е.Н., Вайткявичус Г.Г. Нейроинтеллект: От нейрона к нейрокомпьютеру. М.: Наука, 1989. 236 с.
- [13]. Соколов Е.Н. Нейроны сознания / Е.Н. Соколов // Психология. Журнал Высшей школы экономики. 2004. Т. 1. № 2. С. 3-15.
- [14]. Соколов Е.Н. Принцип векторного кодирования в психофизиологии / Е.Н. Соколов // Синергетика и психофизиология / Под ред. В. И. Аршинова, И. Н. Трофимовой, В. М. Шеляпина. 2004. Вып. 3. С. 320-335.
- [15]. Соколов Е.Н. Проблема гештальта в нейробиологии / Е.Н. Соколов // Журн. высш. нервн. деят. 1996. Т. 46. Вып. 2. С. 229-240.
- [16]. Тонконогий И. Клиническая нейропсихология / И. Тонконогий, А. Пуанте. СПб.: Питер, 2007. С. 21-56.
- [17]. Чудина Ю.А. Категориальная модель различения линий, углов и крестообразных фигур/ Ю.А. Чудина // Вестник РУДН. Серия: Психология и педагогика. 2012. № 4. С.122-129.
- [18]. Чудина Ю.А. Категориальная модель различения четырехлинейных фигур / Ю.А. Чудина, Н.А. Чудина // Вестник РУДН. Серия: Психология и педагогика. 2012. № 3. С. 35-42.
- [19]. Чудина Ю.А. Конфигурационный механизм различения крестообразных фигур / Ю.А. Чудина, Ч.А. Измайлов // Вестник РУДН. Серия: Психология и педагогика. 2011. № 5. С. 7-18.
- [20]. Шевелев И.А. Какие характеристики изображения выделяются нейронами первичной зрительной коры кошки? / И.А. Шевелев // Российский физиологический журнал. 1999. Т. 85. № 6. С. 767-780.
- [21]. Шевелев И.А. Нейроны 17 поля зрительной коры кошки как детекторы крестообразных фигур / И.А. Шевелев, Н.А. Лазарева [и др.] // Нейрофизиология. 1993. Т. 1. № 5. С.362-365.
- [22]. Шевелев И.А. Нейроны-детекторы зрительной коры. Ревизия свойств и механизмов. М.: Наука, 2010. 233 с.
- [23]. Шевелев И.А. Ответы стриарных нейронов на У-образные фигуры / И.А. Шевелев, Н.А. Лазарева [и др.] // Сенсорные системы. 1999. Т. 13. № 3. С. 239-245.
- [24]. Freud S. Zur Auffassung der Aphasien. Eine kritische Studie? / S. Freud. – Edité par Leipzig und Wien: Franz Deuticke, 1891. 107 p.
- [25]. Kay KN., Naselaris T., Prenger RJ., Gallant JL. Identifying natural images from human brain activity. Nature. 2008. P. 352-355.
- [26]. Kremkow J., Jin J., Wang Y., Alonso J. M. Principles underlying sensory map topography in primary visual cortex. Nature. 2016. P. 52-57.
- [27]. Kriegeskorte N., Mur M., Ruff DA., Kiani R., Bodurka J., Esteky H., Tanaka K., Bandettini PA. Matching categorical object representations in inferior temporal cortex of man and monkey. Neuron. 2008. P.1126-1141.
- [28]. Markov N. T., Ercsey-Ravasz M. M., Ribeiro Gomes A. R., Lamy C., Magrou L. A weighted and directed interareal connectivity matrix for macaque cerebral cortex. Cerebral Cortex. 2014. P. 17-36.
- [29]. Miyashita Y., Sakai S. Localization of primal long&term memory in the primate temporal cortex. Memory: organization and locus of change. Oxford. 1991. P. 239-245.
- [30]. Op de Beeck HP., Dicarlo JJ., Goense JB., Grill-Spector K., Papanastassiou A., Tanifuji M., Tsao DY. Fine-scale spatial organization of face and object selectivity in the temporal lobe: do functional magnetic resonance imaging, optical imaging, and electrophysiology agree? JNeurosci. 2008. 11796-11801.
- [31]. Stringer C., Pachitariu M., Steinmetz N., Carandini M., Harris KD. High-dimensional geometry of population responses in visual cortex. Nature. 2019. P. 361-365.
- [32]. Tanaka H. Processing of shape defined by disparity in monkey inferior temporal cortex. Journal of neurophysiology. 2001. Vol. 85. P. 735-744.
- [33]. Tanaka K. Coding visual images of objects in the inferotemporal cortex of the macaque monkey. Journal of neurophysiology. 1991. Vol. 66(1). P. 170-189.
- [34]. White LE., Fitzpatrick D. Vision and cortical map development. Neuron. 2007. P. 327-338.
- [35]. Yamane Y. Representation of the spatial relationship among object parts by neurons in macaque inferotemporal cortex. Journal of neurophysiology. 2006. Vol. 96(3). P. 3147-3156.
- [36]. Yoshida T., Ohki K. Natural images are reliably represented by sparse and variable populations of neurons in visual cortex. Nature Communications. 2020. URL: <https://www.nature.com/articles/s41467-020-14645-x> (дата обращения: 12.01.2022).

A.A. Лакутин

A.A. LAKUTIN

VECTOR APPROACH TO DESCRIPTION OF PERCEPTION IN VISUAL OBJECT AGNOSIA

*State Institution "Republican Scientific and Practical Center for Medical Expertise and Rehabilitation",
Minsk, Belarus*

Summary

The visual subject agnosia is observed in various neuropsychiatric diseases, such as Alzheimer's disease, dementia with Levi's corpuscles, Huntington's disease and other diseases in which the posterior cortex is affected. Analysis of pathophysiological mechanisms of visual subject agnosia can contribute to the development of effective methods of its diagnosis. According to the results of the analytical review, we can conclude that visual subject agnosia occurs in disorders of perception of nodal (key) object properties when the corresponding neurons of the occipital cortex are affected.

Key words: visual object agnosia, occipital cortex, violation of perception of key object properties.

УДК 616-006.04:576.53:615.28

Т.И. ТЕРПИНСКАЯ

МЕХАНИЗМЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОПУХОЛЕЙ: КРАТКИЙ ОБЗОР СОВРЕМЕННЫХ ДАННЫХ

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Лекарственная резистентность опухолей является следствием комплекса процессов, обусловленных различными механизмами, включающими снижение поглощения препаратов клеткой и интенсификацию их выведения, усиление метаболизации и инактивации химиопрепаратов, изменение молекулярной мишени противоопухолевых препаратов в результате мутаций, усиление репарации ДНК в опухолевых клетках, повышение устойчивости злокачественных клеток к апоптозу, усиление активности теломеразы, амплификация генов, кодирующих белки, влияющие на лекарственную устойчивость. Также играет роль альтерация экспрессии генов в результате изменения степени метилирования ДНК, ацетилирования или поли(АДФ)-рибозилирования белков. Лекарственная резистентность опухолей является основной причиной неэффективности химиотерапии. Это обуславливает актуальность изучения механизмов устойчивости злокачественных клеток к различным препаратам и разработки способов ее преодоления.

Ключевые слова: опухоль, лекарственная резистентность, химиотерапия

Поглощение клеткой различных веществ обеспечивает ее питание и взаимодействие с окружающей средой. В ряду методов противоопухолевой терапии ведущее место занимает химиотерапия. Этот метод лечения применяется как основной или в комплексе с хирургией, лучевой терапией, гипертермией и другими. Одной из главных проблем при применении химиотерапии является развитие лекарственной резистентности, когда опухоль становится устойчивой к применяемому препарату, а часто и к другим противоопухолевым средствам. Полагают, что неэффективность химиотерапии примерно на 90% зависит от развития лекарственной резистентности опухолей [61].

В развитии устойчивости к химиотерапии, как правило, задействовано сразу несколько биохимических механизмов. В большинстве случаев преимущественные механизмы резистентности зависят от типа повреждений, индуцируемых в опухолевых клетках определенными классами препаратов, а при ряде опухолей развитие лекарственной устойчивости зависит от генетических особенностей раковых клеток.

Развитие лекарственной резистентности характерно практически для всех типов злокачественных опухолей, что объясняет большое разнообразие клинических и экспериментальных моделей, представленных в научной литературе, посвященной этой проблеме. В данном обзоре кратко проанализированы работы последних лет, отражающие основные известные к настоящему времени механизмы и факторы, обеспечивающие устойчивость опухолей к химиопрепаратам.

Снижение поглощения противоопухолевых препаратов и повышение поглощения питательных веществ растущей опухолью. Поглощение противоопухолевых препаратов клетками происходит путем пассивного (облегченная диффузия) или активного транспорта, когда необходим гидролиз АТФ. Перемещение происходит с помощью транспортеров, или транспортных белков. Уменьшение поглощения лекарственного препарата может происходить путем снижения его связывания с транспортерами или снижения количества транспортеров. При исследовании этого аспекта лекарственной резистентности наибольшее внимание получила группа транспортеров растворенных веществ, или SLC (Solute carrier), насчитывающая более 400 членов из 65 семейств. Функции различных белков-переносчиков отличаются, как и их роль в развитии лекарственной резистентности. Субстратами этих белков являются самые различные вещества - металлы, органические катионы, анионы, фосфаты, монокарбоновая кислота, сахара, аминокислоты, олигопептиды, нуклеозиды, водорастворимые витамины и другие. Ряд SLC-транспортеров способствует поглощению химиопрепаратов и чувствительности к ним. Снижение экспрессии таких транспортеров ведет к развитию лекарственной резистентности. В то же время, некоторые SLC-транспортеры, переносящие питательные вещества, могут активироваться в лекарственно-

резистентных клетках, обеспечивая их усиленное размножение. Например, переносчик SLC22A4 опосредует поглощение митоксантрона и доксорубицина [72], SLC22A1-3 – цисплатина и доксорубицина [105], SLC22A1 (OCT1) – сорафениба [27, 3], тем самым обеспечивая клеточную чувствительность к этим агентам. Экспрессия гена OATP1B3 связана с чувствительностью к множеству цитотоксических агентов, включая противораковые препараты платины - цисплатин, карбоплатин и оксалиплатин [52], экспрессия SLC29A1 – с чувствительностью к аналогам нуклеозидов, азациитидину и инозин-гликодиальдегиду [36]. Переносчики SLC16 опосредуют транспорт различных метаболитов в опухолях, поэтому играют важную роль в развитии рака, а их повышенная экспрессия связана со злокачественной трансформацией, плохим прогнозом и химиорезистентностью [55].

Переносчик аминокислот L-типа 1 (LAT1 - L-type/large neutral amino acid transporter 1), представляющий собой Na⁺-независимый переносчик нейтральных аминокислот, играет ключевую роль в росте и выживании раковых клеток и рассматривается как маркер опухолевых клеток [62]. Его повышенная экспрессия ассоциирована с усилением злокачественности, агрессивности глиом [49], рака языка [92], холангиокарциномы [38], а также с химиорезистентностью светлоклеточной карциномы яичников [79].

LST-2, специфичный для печени транспортер органических анионов, обуславливал чувствительность к метотрексату опухолей желудочно-кишечного тракта [1].

Некоторые противоопухолевые соединения используют для входа в клетку особые переносчики, изменение которых может приводить к лекарственной устойчивости. Например, антифолаты, такие, как метотрексат, аминоптерин, пралатрексат точно имитируют структуру фолиевой кислоты и переносятся в клетку через фолат-специфические мембранные транспортеры и рецепторы. Основным транспортером антифолатных препаратов в раковые клетки является RFC (reduced folate carrier). Показано, что низкая экспрессия транспортера RFC, обусловленная гиперметилированием промотора гена, кодирующего этот белок, связана с резистентностью опухолевых клеток рака молочной железы к метотрексату [96, 102] и лимфомы - к пралатрексату [82]. В резистентных к метотрексату клетках опухолей яичника была выявлена сниженная экспрессия фолатного рецептора альфа [91].

Интенсификация выведения противоопухолевых препаратов. За выведение ксенобиотиков, в том числе противоопухолевых препаратов, из клетки ответственны главным образом АТФ-связывающие кассетные транспортеры, или ABC-транспортеры (ABC - ATP-Binding Cassette). Из 48-и известных на сегодня ABC-транспортеров около половины участвуют в формировании лекарственной резистентности. Эти белки не проявляют высокой субстратной специфичности и опосредуют множественную лекарственную устойчивость - невосприимчивость опухолевых клеток одновременно к целому ряду препаратов разного строения и механизма действия. Среди транспортеров, включенных в формирование лекарственной резистентности, наиболее изученными являются ABCB1 - Р-гликопротеин (PGP - P-glycoprotein), также известный как белок 1 множественной лекарственной резистентности (MDR1 - multidrug resistance protein 1); ABCG2 - ассоциированный с множественной лекарственной резистентностью белок 1 (также известный как MRP1 - multi-drug Resistance-associated Protein 1) и ABCG2 - белок резистентности рака молочной железы (также известный как BCRP - Breast Cancer Resistance Protein) [89, 77].

Среди противоопухолевых химиопрепаратов - субстратов АСВ-транспортеров – алколоиды барвинка (винбластин, винкристин, катарантин), антрациклины (доксорубин, даунорубин), таксаны (паклитаксел и доцетаксел), эпиподофиллотоксины (этопозид, тенирозид), камптотецины (топотекан, метотрексат), антрацены (бисантрен, митоксантрон), ингибиторы тирозинкиназ, куркуминоиды, флавоноиды, зосуквидар (LY335979), элеквидар (GF120918). Многие из субстратов относятся к нейтральным и анионным гидрофобным соединениям и продуктам метаболизма лекарственных средств фазы II (то есть их конъюгатам с эндогенными молекулами, о чем более подробно будет сказано ниже) [26, 77].

Развитие множественной лекарственной устойчивости, связанное с повышенной экспрессией ABC-транспортеров, вызывается многими причинами на генетическом (изменение структуры хроматина, перестановка генов) или эпигенетическом (деметилирование промотора соответствующих генов или ацетилирование гистонов) уровне.

Для многих солидных опухолей характерна повышенная экспрессия Р-гликопротеина и других АТФ-зависимых транспортеров. Например, со сверхэкспрессией Р-гликопротеина коррелировала устойчивость клеток рака яичника к ингибитору поли (АДФ-рибоза) полимеразы

(PARP) олапарибу. Резистентность к олапарибу в различной степени снижалась в присутствии ингибиторов Р-гликопротеина – тариквитара, элакридара, зосуквидара и валсподара. Полагают, что повышение уровня Р-гликопротеина индуцируется только после длительного воздействия препарата [54]. При развитии устойчивости к различным химиопрепаратам в клетках линии рака яичников A2780 выявлено более чем десятикратное увеличение экспрессии генов ABCA8, ABCB1, ABCB4 и ABCG2 [41], а в клетках линии W1 - ABCB1, ABCB4 и ABCG2 [40].

Тонкая динамическая настройка экспрессии генов, контролирующих транспортеры и ферменты, участвующие в метаболизме лекарственных препаратов, осуществляется с участием ядерных рецепторов (NRs - nuclear receptors). Эти белки являются частью общей системы защиты от ксенобиотиков. Данная система распознает, метаболизирует и, в конечном счете, утилизирует разнообразные соединения, защищая клетки и весь организм от токсинов и, кроме того, модулируя кинетику лекарственных препаратов [89]. Среди наиболее изученных ядерных рецепторов, которые вносят вклад в развитие множественной лекарственной резистентности - прегнан-х-рецептор (PXR - pregnane-x-receptor), конститутивный рецептор андростана (CAR – constitutive androstane receptor), рецептор арилуглеводородов (AhR - aryl hydrocarbon receptor) [89], ядерный фактор, связанный с эритроидом 2 фактор 2 (Nrf2 - nuclear factor erythroid-derived 2-related factor), Y-бокс-1 связывающий белок 1 (YB-1 - Y-box binding protein-1), ядерный фактор Y (NF-Y - nuclear factor Y), ядерный фактор каппа В (NFκB - nuclear factor κB), X-рецептор печени (LXR - liver X receptor), фарнезоидный X-рецептор (FXR - farnesoid X receptor) и активируемые пероксисомным пролифератором рецепторы α и γ (PPARα и PPARγ - peroxisome proliferator-activated receptors α and γ) [26].

Метаболизация противоопухолевых препаратов. Взаимодействие лекарственного соединения с клеточными ферментами может изменять молекулярные характеристики препарата и дезактивировать либо активировать его. В соответствии с этим, лекарственная резистентность может развиваться при активации энзимов, дезактивирующих противоопухолевый препарат, или при снижении экспрессии энзимов, активирующих препарат, который в данном случае можно назвать пролекарством.

Выделяют две фазы метаболизма лекарственных препаратов. Реакции первой фазы включают модификацию имеющихся или образование новых функциональных групп, либо расщепление молекулы путем окисления, восстановления, гидролиза. Реакции второй фазы – это конъюгация ксенобиотиков или их метаболитов с эндогенными молекулами, например, глутатионом, глицином, сульфатом, глюкуроновой кислотой, ацилирование, метилирование; образовавшиеся метаболиты затем выводятся почками или печенью с мочой или желчью. Различные лекарственные препараты могут проходить обе или только одну из фаз метаболизма.

Ферменты реакций первой фазы включают оксидазы, дегидрогеназы, деаминазы и гидролазы [45]. Детоксикация с помощью цитохромов P450, или цитохром-P450-зависимых монооксигеназ, является примером реакций первой фазы. Цитохромы P450 (CYP - cytochrome P450) – большая группа ферментов, присутствующих в мембранных структурах и защищающих организм от токсичных компонентов, принимая участие в биотрансформации ксенобиотиков, в том числе противоопухолевых препаратов, а также различных эндогенных соединений (жирных кислот, стероидов, простагландинов, лейкотриенов и ненасыщенных жиров). Цитохромы P450 разделены на семейства и подсемейства. Ферменты, метаболизирующие лекарства, принадлежат подсемействам 1, 2, 3 и 4. В печени выявлено десять цитохромов P450, метаболизирующих большинство лекарств. Это CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4 и CYP3A5. Ряд цитохромов P450 экспрессируется в других тканях – почках, легких, тонкой кишке, мозге, коже и плаценте. Установлено, что CYP2C8 участвует в метаболизме паклитаксела, CYP3A4 – таксола, тамоксифена, ифосфамида, паклитоксела, VP-16, винкристина и винбластина, CYP1B1 – флутамида, митоксантрона, паклитаксела и доцетаксела [45]. Хотя большая часть метаболизма таксанов происходит в печени, некоторые солидные опухоли также экспрессируют ферменты CYP450. В частности, это показано для клеток рака яичников. При первичном раке яичников несколько P450 (CYP1B1, CYP2A/2B, CYP2F1, CYP2R1, CYP2U1, CYP3A5, CYP3A7, CYP3A43, CYP4Z1, CYP26A1 и CYP51) присутствовали на значительно более высоких уровнях по сравнению с нормальным яичником. Экспрессия P450 также была обнаружена в метастазах рака яичников, а CYP2S1 показал повышенную экспрессию в метастазах по сравнению с первичным раком. CYP2A/2B и CYP4Z1 явились независимыми маркерами прогноза [23]. Полагают, что экспрессия гена CYP4A5 увеличивает способность раковых клеток метаболизировать доцетаксел [19]. Ферменты группы цитохрома P450 играют критическую роль в метаболизме ингибиторов тирозинкиназ. Так, основным ферментом,

включенным в метаболизм gefitiniba (ингибитора тирозинкиназы рецептора эпидермального фактора роста) является CYP3A4, способствующий развитию резистентных форм немелкоклеточного рака легкого [108].

Ферментами, включенными в детоксикацию широкого круга эндогенных и экзогенных альдегидов являются альдегиддегидрогеназы (ALDH - aldehyde dehydrogenase) – группа НАДФ (никотинамидадениндинуклеотидфосфат)-зависимых ферментов, принадлежащих к одиннадцати семействам и присутствующим в цитозоле, ядрах, митохондриях и эндоплазматической сети [39, 2]. Повышенная экспрессия ALDH является характерным признаком стволовых клеток (как нормальных, так и опухолевых), а также свидетельствует о развитии устойчивости к химиотерапии.

Альдегиды - это электрофильные, высокореактивные и относительно долгоживущие соединения. Реактивные альдегиды легко образуют аддукты с ДНК, РНК и белками. Это приводит к нарушению клеточного гомеостаза, инактивации ферментов, повреждению ДНК и гибели клеток. Суперсемейство ALDH содержит НАДФ-зависимые ферменты, которые окисляют широкий спектр эндогенных и экзогенных альдегидов до соответствующих им карбоновых кислот. Многие ALDH обладают широкой субстратной специфичностью и могут метаболизировать большой спектр различных по химическому и структурному составу альдегидов. Ряд изоферментов ALDH перекрывается в отношении специфичности субстрата, тканевого распределения и субклеточной локализации, но различаются по своей эффективности в метаболизме конкретных альдегидов [85].

Еще одна жизненно важная функция ALDH заключается в метаболизме ретиноевой кислоты, которая играет важную роль в регуляции экспрессии генов и в морфогенезе во время роста эмбриона, клеточной дифференцировки и гомеостаза позвоночных [69].

Кроме того, ALDH3A1 может действовать как детоксицирующий фермент и защищать клетки от повышенного содержания активных форм кислорода путем прямого улавливания индуцированных радиацией свободных радикалов или производства антиоксидантного восстановленного НАДФН. Это предполагает ключевую роль ALDH3A1 в устойчивости к лучевой и химиотерапии [85].

Хорошо установлена роль ALDH1A1 и ALDH3A1 в детоксикации циклофосамида и изофосфамида [106], ALDH2 – в детоксикации митоксантрона [106]. ALDH1A1 является медиатором резистентности глиобластом к темозоломиду [81]. ALDH2 включена в детоксикацию продуцирующихся при перекисном окислении липидов реактивных альдегидов, малонового диальдегида и акролеина, поэтому мутации кодирующего ALDH2 гена, которые снижали его активность, были ассоциированы с большей токсичностью цисплатина у мышей [48]. Повышенная экспрессия ALDH1A2 и ALDH1A3 была ассоциирована с резистентностью мезотелиомы к цисплатину [17], а ALDH1A1 – с резистентностью стволовых клеток опухоли легкого к ингибиторам тирозинкиназы эпидермального фактора роста [35]. ALDH1 являлась независимым прогностическим фактором плохого прогноза для пациентов с колоректальным раком, получающих радиохимиотерапию с 5-фторурацилом [20]. В клетках рака яичников фермент ALDH1A1 индуцировал активацию фактора-2, связанного с эритроидным ядерным фактором, или Nrf2 (NF-E2-related factor 2 - Nrf2), через регулирующий его белок р62. Активация Nrf2 способствовала экспрессии стволовых маркеров, включая высокие уровни Р-гликопротеина, BCRP, а также резистентности к доксорубину [47].

Основными ферментами реакций II фазы являются глутатион-S-трансферазы, уридин-5-дифосфат-глукуронозилтрансферазы, сульфотрансферазы, N-ацетилтрансферазы, дигидропиримидиндегидрогеназы и другие [45].

Глутатион-S-трансферазы - это суперсемейство полиморфных ферментов, участвующих в детоксикации многих традиционных химиопрепаратов, а также в пролиферации клеток и апоптозе. Глутатионтрансферазы катализируют присоединение глутатиона к большому ряду неполярных экзогенных (химических канцерогенов, противоопухолевых препаратов) и эндогенных субстратов, превращая их в более водорастворимые и облегчая их элиминацию. Глутатион-связанные конъюгаты выбрасываются из клетки с помощью транспортеров семейства MRP (multidrug resistance protein) и выводятся с желчью или мочой. Показано взаимодействие ряда глутатионтрансфераз с MRP, приводящее к усилению активности транспортеров. Функцией глутатионтрансфераз также является инактивация и восстановление эндогенно продуцируемых свободных радикалов и побочных продуктов окислительного стресса, например, продукта перекисного окисления липидов 4-гидроксиноненаля. Среди субстратов глутатионтрансфераз – хлорамбуцил, циклофосамид, мелфалан, бусульфан, цисплатин, этопозид, паклитаксел, тиотепа, доксорубин. Для некоторых

глутатионтрансфераз установлена роль в регуляции апоптоза и пролиферации посредством взаимодействия с членами сигнального пути митоген-активируемой протеинкиназы - JNK (с-Jun N-terminal kinase), ASK-киназой, регулирующей сигналы апоптоза, Akt (протеинкиназой B) и некоторыми рецепторами. Повышенная экспрессия глутатионтрансфераз характерна для многих типов опухолей (рака толстой кишки, молочной железы, почки, поджелудочной железы и других локализаций) [74].

Во многих типах опухолевых клеток развитие лекарственной резистентности ассоциировано с повышенной экспрессией глутатион-S-трансферазы $\pi 1$ [45]. Установлено, что глутатион-S-трансфераза- $\pi 1$ прямо влияет на чувствительность клеток рака яичника к препаратам платины. Нокдаун этого фермента снижал инвазивность и миграцию опухолевых клеток [80].

Уридин-5-дифосфат-глукуронозилтрансферазы играют роль в детоксикации применяющегося при колоректальном раке иринотекана [45], дигидропиримидин-дегидрогеназы – широко применяющегося противоопухолевого средства 5-фторурацила [21].

В ряде случаев клеточные ферменты активируют противоопухолевый препарат. Так, известный препарат циклофосамид может быть назван пролекарством, а чтобы приобрести свойства алкилирующего противоопухолевого агента, должен быть активирован цитохромами P450, которые превращают его в 4-гидроксициклофосамид [45]. Также печеночными цитохромами P450 активируются прокарбазин, тегафур и тиотепа. Соединение AQ4N (1,4-бис-([2-(диметиламино-N-оксид) этил] требует активации ферментами CYP2S1 и CYP2W1 в опухолевой ткани, превращаясь в ингибитор топоизомеразы II AQ4 [1,4-бис-5,8-дигидроксиантрацен-9,10-дион] [70]. Противоопухолевый препарат цитарабин, применяющийся при острой миелоидной лейкемии, должен быть фосфорилирован, чтобы превратиться в арабинозил цитозин трифосфат, оказывающий противоопухолевое действие. Снижение активности или мутации ферментов, включенных в реакции фосфорилирования, являются причиной развития резистентности опухолевых клеток к цитарабину [61].

Подавление апоптоза. Характерным признаком резистентности опухолевых клеток к химиотерапии является их устойчивость к апоптотическим сигналам и снижение апоптотической гибели при действии лекарственных препаратов.

Индукция апоптоза может происходить посредством внешнего и внутреннего сигнальных путей. Во внешний путь включены FAS-рецепторы (также известные как рецепторы смерти или CD95) и лиганды к ним, линкерные белки, каспазы-3, -6, -7 и -8. Их активация ведет к протеолизу актина и белков ядерной мембраны и, в конечном итоге, к апоптозу. В реализацию внутреннего (митохондриального) пути вовлечены проапоптотические белки Вах, Вак, каспазы-2, -3, -9 и другие. Снижение экспрессии проапоптотических белков и усиление экспрессии антиапоптотических белков (например, Bcl2, Akt) ассоциируется с повышенной устойчивостью к химиотерапии [61].

Лекарственную резистентность обуславливают и мутации гена p53, который в норме является антионкогеном и индуцирует апоптоз при клеточном стрессе и повреждении ДНК, а также выполняет множество других функций.

Так, мутации p53 при раке толстой кишки ассоциированы с резистентностью к оксалиплатину, вызывающему p53/p21-Вах-индуцированный апоптоз, и приобретением клетками фенотипа стволовых [89]. Сверхэкспрессия мутантных p53-R175H, p53-R273H и p53-D281G придавала лекарственную устойчивость клеткам карциномы легких человека H1299 и A549 [14].

В работе He с соавторами [33] мутантный p53 являлся клинически значимым признаком устойчивости к химиотерапии при диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфоме, раке пищевода и ротоглотки.

При изучении лекарственной устойчивости при раке яичника многими исследователями выявлено, что серозный рак яичника с высокой степенью злокачественности развивается в эпителии дистальных отделов маточных труб из секреторных клеток с мутировавшим геном TP53, кодирующим белок p53 [18]. Инактивирующие мутации TP53 связаны с устойчивостью к ингибитору PARP олапарибу в карциномах яичника с мутантным BRCA. Это может иметь клиническое значение, поскольку мутации TP53 легко обнаруживаются и могут служить суррогатными маркерами развития устойчивости к ингибиторам PARP [16].

При развитии лекарственной резистентности наблюдается усиление экспрессии антиапоптотических белков, а подавление их экспрессии повышает чувствительность опухолевых клеток к химиотерапии. Устойчивости клеток SKOV3-DDP рака яичника к цисплатину способствовал X-связанный ингибитор белка апоптоза (XIAP - X-linked inhibitor of apoptosis protein). Микро-РНК

miR-874-3p ослабляла лекарственную резистентность путем снижения экспрессии XIAP и подавления сигнального пути NF-κB/сурвивин [94]. Фенольный препарат олеуропеин способствовал индукции апоптоза, ингибированию пролиферации клеток и снижению устойчивости к цисплатину в клетках рака яичников, повышая экспрессию проапоптотических белков P21, P53 и TNFRSF10B и снижая экспрессию антиапоптотических Bcl-2 и Mcl1 [31].

Изменение мишеней химиотерапевтических препаратов. Эффект химиотерапии может зависеть от мутаций генов, кодирующих белки-мишени, или от изменения активности этих генов. Одним из примеров является развитие лекарственной устойчивости при хронической миелоидной лейкемии. Данное заболевание характеризуется наличием филадельфийской хромосомы, появляющейся благодаря реципрокной транслокации между 3'-концом гена ABL1 на 9-ой хромосоме и 5'-концом гена BCR на 22-ой хромосоме. Эти фрагменты образуют ген слияния и единую рамку считывания. ABL1 в норме содержит тирозинкиназный домен, поэтому белок мутантного гена также является тирозинкиназой. Белок BCR-ABL1 конститутивно активен, он ускоряет деление клеток и вызывает злокачественную трансформацию. Для таргетной терапии при хронической миелоидной лейкемии применяются ингибиторы тирозинкиназ, такие, как иматиниб, дазатиниб, нилотиниб и другие. Иматиниб связывается с BCR-ABL1 и предотвращает его связывание с АТФ, прекращая аутофосфорилирование и фосфорилирование целевых белков, что ведет к торможению пролиферации и клеточному апоптозу. Приблизительно 50% случаев резистентности к иматинибу и другим ингибиторам тирозинкиназ возникает из-за мутаций или сверхэкспрессии/амплификации киназы BCR-ABL1, что приводит к потере связывания противоопухолевых препаратов данной группы и повторной активации каскада фосфорилирования [44, 76].

При немелкоклеточном раке легкого определенные мутации в генах EGFR (epidermal growth factor receptor), KRAS (kirsten rat sarcoma), B1M (член Bcl-2-семейства (Bcl-2 - B-cell lymphoma-2)), MET (mesenchymal to epithelial transition factor) определяют резистентность к терапии ингибиторами тирозинкиназ. Эта устойчивость может быть первичной или развиваться в ходе прогрессии заболевания [109].

Для действия противоопухолевых препаратов из группы ингибиторов PARP необходимо присутствие функционального PARP1. На клеточных линиях рака яичников показана положительная корреляция между экспрессией PARP1 и эффективностью ряда ингибиторов PARP [60].

Репарация ДНК. Цитотоксическая активность многих противораковых химиопрепаратов обусловлена повреждениями ДНК. Нарушение структуры генетического материала вызывает активацию реакций, способствующих восстановлению повреждений и выживанию клетки. В зависимости от типа и локализации повреждений ДНК существует несколько путей репарации, таких, как прямая репарация, эксцизионная репарация, SOS-репарация, репарация, связанная с рекомбинацией (путем гомологичной рекомбинации или путем негомологичного соединения концов). Эти механизмы характеризуются различной степенью специфичности и точности и могут дополнять друг друга [50].

К наиболее активным ДНК-повреждающим агентам принадлежат соединения платины, например, цисплатин. Цисплатин индуцирует внутрипочечные поперечные сшивки ДНК, составляющие около 90% случаев, а также межнитевые сшивки, составляющие 5-8% случаев. Искажение двойной спирали ДНК блокирует репликацию и транскрипцию ДНК. Кроме того, сшивки могут привести к одноцепочечным и двухцепочечным разрывам и хромосомным перестройкам. Усиление реакций на повреждение ДНК и повышение толерантности к таким повреждениям характерно для многих типов рака, проявляющих химиорезистентность, включая, например, рак легких или рак яичника, при лечении которых назначаются препараты платины. После их применения в клетках активируются многие процессы, направленные на удаление или восстановление повреждений ДНК. С резистентностью к цисплатину ассоциирована повышенная экспрессия генов, кодирующих ферменты репарации. Так, в клетках резистентного к цисплатину немелкоклеточного рака легкого выявлено усиление экспрессии системы генов эксцизионной репарации ERCC1 (excision repair cross-complementation group 1), мисмэтч-репарации (которая является подтипом эксцизионной репарации) и SOS-репарации [65]. Повышенные уровни экспрессии белков BRCA1 и ERCC1, участвующих в процессах репарации, были определены как значимые факторы риска химиорезистентности эпителиального рака яичников, а снижение экспрессии этих факторов и PARP было связано с улучшением общей выживаемости [107].

Полагают, что в развитии резистентности к алкилирующим препаратам, например, циклофосфану может быть задействована Об-метилгуанин-ДНК метилтрансфераза (MGMT - Об-

methylguanine-DNA methyltransferase), удаляющая алкильные группы в Об-позиции гуанина и тем самым снижающая повреждения ДНК. Показано, что у больных с базально-подобным раком молочной железы, негативным по MGMT, наблюдается более значительное увеличение безрецидивного периода и общей выживаемости после терапии циклофосфаном по сравнению с больными, имеющими MGMT-позитивную опухоль [37].

Активность MGMT коррелировала с неэффективностью лечения цисплатином и циклофосфаном пациентов с раком яичников [12] и лечением препаратами платины пациентов с перитонеальным карциноматозом рака яичников [4]. Снижение активности MGMT с помощью препарата PaTrin-2 повышало противоопухолевое действие темозоломида в отношении клеток A2780 рака яичников человека [8]. Редкая стохастическая экспрессия MGMT является предсуществующим ключевым фактором, определяющим развитие устойчивости к темозоломиду в клеточных линиях меланомы [13].

В то же время показано, что в некоторых случаях интенсивные репарационные процессы с участием MGMT и других ферментов репарации могут способствовать усилению клеточной гибели при химиотерапии. Так, повышение интенсивности мисмэтч-репарации ассоциировано с повышением чувствительности глиомы к химиотерапии. Мисмэтч-репарация (система репарации ошибочно спаренных нуклеотидов) - это молекулярный механизм, распознающий ошибочные вставки, делеции и неправильное включение азотистых оснований в процессе репликации ДНК, рекомбинаций и повреждений. Алкилирующие агенты, такие, как темозоломид, приводят к метилированию нуклеозидов, образованию Об-метилгуанина (Об-meG) и его ошибочному спариванию с тиминном. Хотя мисмэтч-репарация распознает эти пары и удаляет остатки тимина, однако не удаляет Об-meG. Таким образом, Об-meG сохраняется в геномной ДНК, неоднократно ошибочно спаривается с тиминном, что приводит к повторяющимся циклам мисмэтч-репарации. Повторяющийся цикл «бесполезного ремонта» обычно приводит к коллапсу вилок репликации, разрыву двухцепочечной ДНК и гибели клеток через апоптоз или аутофагию. Поэтому опухоли с дефицитом мисмэтч-репарации могут быть относительно устойчивы к цитотоксическим эффектам темозоломида [53].

Вместе с тем, показано, что резистентность к темозоломиду может наблюдаться и без активации MGMT или при недостаточности мисмэтч-репарации. Это указывает на наличие альтернативных путей противодействия опухолей генотоксическим агентам. Одним из недавно выявленных механизмов, способствующих лекарственной устойчивости глиом, является репарация двухцепочечных разрывов. Индуцированные темозоломидом повреждения ДНК приводят к остановке репликационных вилок и, в конечном итоге, могут обуславливать двухцепочечные разрывы - наиболее тяжелые и летальные типы повреждений ДНК. Репарация таких разрывов требует сложных механизмов восстановления из-за большого объема структурных нарушений и отсутствия шаблона для создания новой нити ДНК. В этом случае в репарации участвуют два основных механизма - гомологичная рекомбинация и негомологичное соединение концов. Активация гомологичной рекомбинационной репарации в рецидивирующих глиомах ассоциируется с резистентностью к темозоломиду. Циклин-зависимая киназа (CDK - cyclin-dependent kinase) CDK1/2 облегчает процесс гомологичной рекомбинации, фосфорилируя белок BRCA2 (breast cancer 2) и экзонуклеазу 1 (EXO1) или взаимодействуя с ферментами репарации двухцепочечных разрывов MRE11 и нибрином (NBS1). Ингибиторы CDK1/2 подавляют эффективность гомологичной репарации при рецидивирующих опухолях глиомы и сенсбилизируют их к темозоломиду [53].

Гомологичная рекомбинация может обуславливать химиорезистентность рака яичников. Установлено, что почти половина случаев карциномы яичника с высокой степенью злокачественности демонстрирует недостаточность репаративного пути гомологичной рекомбинации из-за мутаций зародышевой линии, соматических мутаций или эпигенетической инактивации генов BRCA1/BRCA2. Молчание BRCA1 и BRCA2 или их мутации, приводящие к нарушению функции белка, способствуют генетической нестабильности, накоплению мутаций и возникновению опухолей молочной железы и яичников. Опухоли с нарушением гомологичной рекомбинации имеют высокую чувствительность к химиотерапии препаратами платины и ингибиторами поли (АДФ-рибоза) полимеразы 1 (PARP1 - poly (ADP-ribose) polymerase 1), так как ингибирование эксцизионной репарации, осуществляемой с участием PARP, усиливает повреждения генома и индуцирует клеточную гибель при действии генотоксических химиопрепаратов. Восстановление репаративного пути гомологичной рекомбинации в опухолях служит одним из основных механизмов устойчивости к ингибиторам PARP. Это может осуществляться через вторичные мутации генов BRCA1/2 или BRCA-независимые пути [10]. Примером последних может служить механизм с участием ALDH1A1,

усиливающей активность репарации двунитевых разрывов путем опосредованного микрогомологии соединения концов (ММЕJ - microhomology-mediated end joining, также называемого путем альтернативного негомологичного соединения концов), в клетках рака яичников с генотипом BRCA2 +/- [56].

Амплификация генов. Амплификация – это увеличение количества копий определенного региона хромосомного плеча. Амплифицированный регион называется ампликон. Полагают, что около 10% случаев лекарственной резистентности опухолей обусловлено амплификацией генов [61]. В данном случае имеет значение амплификация генов, кодирующих белки, участвующие в реализации различных механизмов лекарственной резистентности.

Амплификация гена дигидрофолатредуктазы (DHFR - dihydrofolate reductase) является одним из механизмов устойчивости к антиметаболиту, антагонисту фолиевой кислоты метотрексату. Основной мишенью метотрексата является фермент дигидрофолатредуктаза, который катализирует восстановление фолиевой кислоты из 7,8-дигидрофолата до 5,6,7,8-тетрагидрофолата. Метотрексат необратимо связывается с дигидрофолатредуктазой, что препятствует восстановлению гидрофолата и ведет к ингибированию синтеза пуриновых нуклеотидов [7], подавлению пролиферации и индукции клеточной гибели. Амплификация гена DHFR, в ряде случаев в комплексе с мутациями других генов, обнаружена в резистентных к метотрексату линиях опухолевых клеток и опухолях пациентов с острой лимфобластной лейкемией [28, 63] и раком толстой кишки [68, 46].

В линиях Т-клеточной лимфомы, резистентных к еще одному ингибитору DHFR - пралатрексату, выявлено повышение экспрессии DHFR из-за амплификации гена и снижение экспрессии транспортера фолатов RFC1 (RFC1 - reduced folate carrier 1) [82].

В линиях остеосаркомы U-2OS и Saos-2, резистентных к доксорубину и метотрексату, выявлены повышение экспрессии и амплификация, приводящая к сверхэкспрессии, генов MDR1, DHFR, MLL, MYC. Согласно этим результатам, лекарственная устойчивость является мультигенным процессом, включающим изменения числа копий гена и экспрессии [32].

В обзоре *Matsui* и соавторов представлен анализ данных об амплификации гена андрогенного рецептора AR (androgen receptor) в хромосоме Xq11-13 при резистентном к кастрации раке простаты и гена BRAF в хромосоме 7q34 при нескольких видах рака. AR – рецептор стероидного гормона, регулирующий выживание и рост клеток и способствующий пролиферации. Связывание андрогенов вызывает конформационное изменение андрогенного рецептора, которое приводит к транслокации комплекса рецептор-лиганд в ядро и последующей транскрипции гена. Так как все виды рака простаты, за редким исключением мелкоклеточных карцином, экспрессируют андрогенный рецептор, стандартным лечением является андрогенная абляция, блокирующая выработку мужских гормонов. При этом нередко наблюдается развитие резистентности к такой терапии, примерно в 80% случаев сопровождающееся амплификацией гена AR. В результате наблюдается повышение чувствительности к андрогенам. До лечения амплификации не наблюдается, что свидетельствует о селекции клеток, способных пролиферировать при низких уровнях андрогенов, в процессе терапии [64].

Установлена ведущая роль амплификации рецептора-2 эпителиального фактора роста человека (HER2 - epithelial growth factor receptor-2) в приобретённой устойчивости к терапии против этого рецептора у пациентов с колоректальным раком [87, 93].

При формировании устойчивости к терапии ингибиторами протоонкогена KRAS - ГТФазы, являющейся компонентом многих путей передачи сигнала - адагразином и соторазином у пациентов с аденокарциномой легких выявлена амплификация аллеля KRASG12C наряду с активирующими мутациями в генах NRAS, BRAF, MAP2K1 и RET, а также рядом других генетических изменений [5].

С амплификацией протоонкогена MET ассоциировалась устойчивость немелкоклеточного рака легкого человека к селективным ингибиторам тирозинкиназы рецепторов эпидермального фактора роста - gefitinibu [42], afatinibu [15, 104] и ряду различных ингибиторов, включающих gefitinib, erlotinib, osimertinib [104].

В исследовании *Wu* и соавторов у 15 из 31 пациентки с раком яичников выявлялась амплификация гена нибрина (NBN - Nibrin), продукт которого участвует в репарации двойных разрывов нитей ДНК. Сверхэкспрессия NBN в клетках рака молочной железы и яичников способствовала BRCA1-зависимой устойчивости к ингибитору PARP олапарибу [97]. С амплификацией гена ACTL6A, регулирующего репарацию повреждений ДНК, ассоциировалась резистентность к цисплатину при многих типах рака, в том числе в 37,37% случаев - при плоскоклеточной карциноме легких, в 17,58% - при раке пищевода и в 19,52% - при раке яичников [98]. Амплификация мутантного BRCA2 способствовала устойчивости к ингибиторам

PARP [73].

Эпигенетические изменения. Эпигенетические изменения – это изменения генома, не затрагивающие последовательность нуклеотидов ДНК. Эти изменения связаны с изменением экспрессии генов и могут сохраняться в ряду митотических делений.

Изменение экспрессии генов может быть вызвано метилированием или деметилированием ДНК. Метилирование ДНК заключается в присоединении метильной группы к цитозину. Метилирование промотерного участка, как правило, приводит к подавлению экспрессии соответствующего гена. У человека за метилирование генома отвечают ДНК-метилтрансферазы (DNMT - DNA-methyltransferase) 1, 3a и 3b. Хотя лекарственная резистентность опухолей может быть связана как со снижением, так и с повышением активности ДНК-метилтрансфераз, в большинстве случаев активность этих ферментов усиливается. В злокачественных клетках посредством гиперметилирования промотерных последовательностей часто ингибируется транскрипция генов - супрессоров опухолей, что может сопровождаться общим гипометилированием генома. Повышенная экспрессия или активность ДНК-метилтрансфераз наблюдается при острой и хронической миелоидной лейкемии, глиоме, раке молочной железы, желудка, толстой кишки, поджелудочной железы, простаты, легких, печени [59]. В устойчивых к пралатрексату клетках линий СЕМ и MOLT4 Т-лимфобластного лейкоза механизмы резистентности были связаны со снижением клеточного поглощения химиопрепарата и/или сверхэкспрессией DNMT3B. Ингибитор DNMT3B децитабин усиливал чувствительность клеток обеих линий к пралатрексату [71]. В клеточных линиях рака яичника обработка ингибиторами DNMT усиливала экспрессию антиген-процессинговых и презентационных молекул B2M, CALR, CD58, PSMB8 и PSMB9, демонстрируя возможный механизм сенсбилизации опухолей яичников к иммунотерапии [84]. Ингибитор DNMT гуадецитабин увеличивал чувствительность клеток рака яичника и молочной железы к ингибитору PARP талазопарибу независимо от BRCA-статуса [75]. Ингибиторы DNMT одобрены для лечения острого миелоидного лейкоза, хронического миеломоноцитарного лейкоза и миелодиспластических синдромов, а также широко используются в иммунотерапевтических клинических испытаниях многих типов рака [24].

Помимо метилтрансфераз, в эпигенетических изменениях ДНК участвуют гистондеацетилазы (HDAC - histone deacetylases). Эти ферменты изменяют структуру ядерных белков – гистонов, участвующих в упаковке нитей ДНК и в эпигенетической регуляции репликации, транскрипции и репарации. Ацетилирование гистонов – важная эпигенетическая модификация, модулирующая структуру хроматина и регулирующая экспрессию генов. Гистоновые ацетилтрансферазы добавляют ацетильные группы к остаткам лизина на гистонах, что приводит к «открытию» хроматина и активации транскрипции. Гистондеацетилтрансферазы, напротив, удаляют ацетильные группы лизина, способствуя более компактной структуре хроматина и подавлению транскрипции [83]. Учитывая то, что субстратами HDAC, помимо гистонов, являются и другие белки (включая сигнальные молекулы, медиаторы воспаления, структурные белки, ферменты репарации), гистондеацетилазы можно более широко рассматривать как лизиндеацетилазы [100]. У человека идентифицировано 18 ферментов HDAC. Активность HDAC ассоциирована с возникновением и развитием опухолей, в связи с чем разработан ряд ингибиторов этих ферментов [100]. Ингибиторы HDAC вызывают гибель опухолевых клеток из-за остановки клеточного цикла, дифференцировки и апоптоза, повышая эффективность других методов лечения. Три специфических ингибитора HDAC - вориностат, ромидепсин и вальпроевая кислота были протестированы в клинических испытаниях глиобластомы, многие изучаются в доклинических исследованиях [9, 103].

В клетках немелкоклеточного рака легкого, в которых отсутствует p53 дикого типа, убиквитин-специфическая пептидаза 10 (USP10) деубиквитинирует и стабилизирует онкогенную гистондеацетилазу 6 (HDAC6), что способствует устойчивости к цисплатину. В когорте пациентов с немелкоклеточным раком легкого обнаружена положительная корреляция экспрессии USP10 с экспрессией HDAC6 и плохой общей выживаемостью больных, получавших химиотерапию на основе платины [34]. Ингибитор HDAC энтинонат усиливал чувствительность клеток рака яичников к цисплатину [6], а панобинонат - к ингибитору PARP олапарибу [95].

К механизмам эпигенетической регуляции относят также модификацию белков поли(АДФ-рибозой). Поли-АДФ-рибозилирование - это посттрансляционная модификация белка, которая контролирует ключевые клеточные механизмы, такие как ответ на повреждение ДНК, поскольку цепи поли(АДФ-рибозы) разрыхляют хроматин и облегчают рекрутирование белков репарации. Ковалентное присоединение поли(АДФ-рибозы) к целевым белкам катализируется упоминавшейся

выше Поли(АДФ-рибоза)-полимеразой (PARP), удаление - гидролазами, такими как поли(АДФ-рибоза) гликогидролаза (PARG - poly(ADP-ribose) glycohydrolase). Это обуславливает применение для терапии рака ингибиторов PARP. В то же время успешная терапия пациентов с раком яичника и молочной железы ингибиторами PARP, по крайней мере частично, зависит от активности PARG. Истощение PARG служит одним из механизмов устойчивости к ингибиторам PARP [10].

Повышение активности теломеразы Теломераза — фермент, добавляющий особые повторяющиеся последовательности нуклеотидов ДНК к 3'-концу цепи ДНК на участках теломер, располагающихся на концах хромосом. Как известно, при каждом делении клетки теломерные участки укорачиваются. Активность теломеразы способствует увеличению или сохранению на постоянном уровне длины теломерных участков, компенсируя концевую недорепликацию. Теломераза состоит из теломеразной обратной транскриптазы (hTERT - telomerase reverse transcriptase), теломеразной РНК (hTR или TERC) и дискерина. Обычные соматические клетки организма лишены теломеразной активности, в опухолевых клетках теломераза активируется и способствует поддержанию теломер и неограниченной клеточной пролиферации. Однако функции фермента этим не ограничиваются. Показано, что теломераза участвует в развитии лекарственной резистентности опухолевых клеток. Подавление экспрессии hTERT повышало чувствительность стволовых клеток хронической миелоидной лейкемии к ингибитору тирозинкиназы иматинибу [29], клеток рака поджелудочной железы - к антиметаболиту из группы антагонистов пиримидинов гемцитабину [88], рака молочной железы - к доксорубину [22, 78], индуцируя апоптоз [88] и аутофагию [78]. Препарат эрибулин, нацеленный на теломеразу, эффективно ингибировал рост устойчивых к платине клеточных линий рака яичников с фенотипом стволовых клеток и высокой экспрессией hTERT [101]. *Losi* и соавторы выявили гипометилирование промотора TERT примерно в одной трети образцов серозной карциномы яичника, самого летального гистотипа опухолей этой локализации. Был выявлен противоопухолевый эффект полностью транс-ретиноевой кислоты (ATRA - All-trans retinoic acid). ATRA индуцирует репрессоры TERT, которые связываются с промотором, подавляя транскрипцию TERT. Полагают, что лечение ATRA может стать новой мощной персонализированной терапией у пациентов с серозной карциномой яичников, характеризующейся гипометилированным промотором TERT [57].

Регуляция экспрессии генов некодирующими РНК. В развитии опухолевой резистентности играют роль некодирующие РНК. На сегодняшний день лучше всего изучена роль микроРНК и длинных некодирующих РНК.

МикроРНК, или миРНК – это малые одноцепочечные некодирующие РНК (длиной 18 – 25 нуклеотидов, чаще всего 22 нуклеотида), которые составляют примерно 3% генома человека и участвуют в регуляции экспрессии генов. МиРНК могут подавлять экспрессию как опухолевых супрессоров, так и онкогенов, хотя, как показывают исследования, в основном ингибируют опухолевые супрессоры и участвуют в опухолеобразовании и прогрессировании рака [66, 25].

МиРНК регулируют большинство генов, кодирующих белки, в том числе гены, участвующие в формировании лекарственной устойчивости опухолей. Подавление экспрессии генов осуществляется посредством расщепления цепи мРНК, дестабилизации мРНК за счет укорочения ее поли (А) хвоста и снижения эффективности трансляции мРНК. В обзоре *Mansoori* с соавторами представлены сведения об участвующих в формировании устойчивости к различным химиопрепаратам миРНК и их целевых генах в различных типах опухолей [61].

Kryczka с соавторами подробно проанализировали миРНК, которые ассоциированы с резистентностью или чувствительностью к цисплатину немелкоклеточной карциномы легкого [50].

Интересно, что устойчивость к цисплатину может быть передана резистентными клетками чувствительным через экзосомы, содержащие повышенный уровень микроРНК-4443 (miR-4443). Сверхэкспрессия miR-4443 ингибировала ферроптоз, индуцированный лечением цисплатином *in vitro*, и усиливала рост опухоли *in vivo*. Геном-мишенью для miR-4443 являлся METTL3 [86].

Комбинация хирургической резекции и терапии препаратами на основе платины является распространенным вариантом лечения пациентов с раком яичника. Однако примерно в 70% случаев наблюдается рецидив опухоли и резистентность к цисплатину, связанная с повышенной детоксикацией, нарушением транспортировки препарата, подавлением апоптоза и повышенной способностью к репарации ДНК. Эти процессы, в свою очередь, регулируются различными миРНК, способствующими повышению (miR-216b, miR-770-5p, miR-9, miR-770-5p и другие) или, напротив, снижению (miR-98-5p, miR-106a, miR-1294, miR-7, miR-224-5p, miR-205-5p, miR-31 и другие) чувствительности к препаратам платины [67, 51, 99].

Еще одним субклассом некодирующих РНК являются днРНК, или lncRNA (long non-coding RNA), размером более 200 нуклеотидных пар. Основываясь на положении в геноме днРНК, их можно разделить на пять основных категорий: смысловые, антисмысловые, псевдогенные, межгенные, интронные и двунаправленные промоторы. ДнРНК могут рекрутировать ДНК-метилтрансферазы, приводя к метилированию или деметилированию, и изменяют рыхлость и плотность хроматина для достижения его ремоделирования, тем самым регулируя экспрессию генов. Различные днРНК могут способствовать развитию опухоли или подавлять его [99]. Показано участие днРНК в регуляции пролиферации, инвазии, метастазирования и эпителиально-мезенхимальной транзиции [30, 58, 43].

ДнРНК могут взаимодействовать с миРНК, выступая в качестве своеобразных «губок», которые связывают миРНК и ингибируют их функции. Так, miR-129, как ген-супрессор опухоли ингибирует пролиферацию и инвазию рака легких и рака груди. ДнРНК SNHG12 сверхэкспрессируется в раке яичников, и уровень ее экспрессии показывает положительную связь с размером опухоли. Как молекулярная губка для miR-129, SNHG12 может напрямую связываться с miR-129 и ингибировать функцию miR-129, что приводит к канцерогенезу. ДнРНК XIST также может действовать как губка, связывая miR-214-3p и подавляя ее экспрессию, что ведет к торможению роста рака яичника и повышению чувствительности опухолевых клеток к цисплатину. ДнРНК LINC01133, напротив, подавляется в карциноме яичника и действует как негативный регулятор для miR-205, повышая регуляцию киназы 2 с богатыми лейцином повторами (LRRK2), и ингибируя рост рака. Кроме того, днРНК могут оказывать синергичное действие с миРНК. Так, днРНК HOTAIR способствует пролиферации и миграции клеток рака яичника через регуляторную сеть miR-373, а днРНК NEAT1 - посредством регулирования оси miR-382-3p/ROCK 1 [99].

Заключение. Лекарственная резистентность опухолей является следствием комплекса процессов, обусловленных различными механизмами, включающими снижение поглощения препаратов клеткой и интенсификацию их выведения, усиление метаболизации и инактивации химиопрепаратов, изменение молекулярной мишени противоопухолевых препаратов в результате мутаций, усиление репарации ДНК в опухолевых клетках, повышение устойчивости злокачественных клеток к апоптозу, усиление активности теломеразы, амплификация генов, кодирующих белки, влияющие на лекарственную устойчивость. Также играет роль альтерация экспрессии генов в результате изменения степени метилирования ДНК, ацетилирования или поли(АДФ)-рибозилирования белков. Лекарственная резистентность опухолей является основной причиной неэффективности химиотерапии. Это обуславливает актуальность изучения механизмов устойчивости злокачественных клеток к различным препаратам и разработки способов ее преодоления.

Литература

- [1]. Abe T., Unno M., Onogawa T. et al. LST-2, a human liver-specific organic anion transporter, determines methotrexate sensitivity in gastrointestinal cancers // *Gastroenterology*. 2001. Vol. 20, N7. P.1689-99.
- [2]. Ahmed Laskar A., Younus H. Aldehyde toxicity and metabolism: the role of aldehyde dehydrogenases in detoxification, drug resistance and carcinogenesis // *Drug Metab Rev*. 2019. Vol. 51, N 1. P. 42-64.
- [3]. Al-Abdulla R., Lozano E., Macias R.I.R. et al. Epigenetic events involved in organic cation transporter 1-dependent impaired response of hepatocellular carcinoma to sorafenib // *Br. J. Pharmacol*. 2019. Vol.176. P.787–800.
- [4]. Arienti C., Tesei A., Verdecchia G.M. et al. Peritoneal carcinomatosis from ovarian cancer: chemosensitivity test and tissue markers as predictors of response to chemotherapy // *J Transl Med*. 2011. Vol. 9. P 94.
- [5]. Awad M.M., Liu S., Rybkin I.I. et al. Acquired Resistance to KRASG12C Inhibition in Cancer // *N Engl J Med*. 2021. Vol. 384, N 25. P. 2382-2393.
- [6]. Bandolik J.J., Hamacher A., Schrenk C. et al. Class I-Histone Deacetylase (HDAC) Inhibition is Superior to pan-HDAC Inhibition in Modulating Cisplatin Potency in High Grade Serous Ovarian Cancer Cell Lines // *Int J Mol Sci*. 2019. Vol. 20, N 12. P. 3052.
- [7]. Banerjee D., Ercikan-Abali E., Waltham M. et al. Molecular mechanisms of resistance to antifolates, a review // *Acta Biochim Pol*. 1995. Vol.42, N 4. P. 457-64.
- [8]. Barvaux V.A., Lorigan P., Ranson M. et al. Sensitization of a human ovarian cancer cell line to temozolomide by simultaneous attenuation of the Bcl-2 antiapoptotic protein and DNA repair by O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase // *Mol Cancer Ther*. 2004. Vol.3, N 10. P. 1215-20.
- [9]. Bezacny P. Histone deacetylase inhibitors in glioblastoma: pre-clinical and clinical experience // *Med Oncol*. 2014. Vol. 31. P. 985.
- [10]. Biegala Ł., Gajek A., Marczak A., Rogalska A. PARP inhibitor resistance in ovarian cancer: Underlying mechanisms and therapeutic approaches targeting the ATR/CHK1 pathway // *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2021. Vol. 1876, N 2. P. 188633.

- [11].Chen S.H., Huang W.T., Kao W.C. et al. O6-methylguanine-DNA methyltransferase modulates cisplatin-induced DNA double-strand breaks by targeting the homologous recombination pathway in nasopharyngeal carcinoma // J Biomed Sci. 2021. Vol. 28, N 1. P. 2.
- [12].Chen S.S., Citron M., Spiegel G., Yarosh D. O6-methylguanine-DNA methyltransferase in ovarian malignancy and its correlation with postoperative response to chemotherapy // Gynecol Oncol. 1994. Vol. 52, N 2. P. 172-4.
- [13].Chen T.C., Chan N., Minea R.O. et al. Rare Stochastic Expression of O6-Methylguanine- DNA Methyltransferase (MGMT) in MGMT-Negative Melanoma Cells Determines Immediate Emergence of Drug-Resistant Populations upon Treatment with Temozolomide In Vitro and In Vivo // Cancers (Basel). 2018. Vol. 10, N 10. P. 362.
- [14].Chiang Y.T., Chien Y.C., Lin Y.H. et al. The Function of the Mutant p53-R175H in Cancer // Cancers (Basel). 2021. Vol. 13, N 16. P. 4088.
- [15].Chung C.T., Yeh K.C., Lee C.H. et al. Molecular profiling of afatinib-resistant non-small cell lung cancer cells in vivo derived from mice // Pharmacol Res. 2020. Vol. 161. P. 105183.
- [16].Collot T., Niogret J., Carnet M. et al. PARP inhibitor resistance and TP53 mutations in patients treated with olaparib for BRCA-mutated cancer: Four case reports // Mol Med Rep. 2021. Vol. 23, N 1. P. 75.
- [17].Cortes-Dericks L., Froment L., Boesch R. et al. Cisplatin-resistant cells in malignant pleural mesothelioma cell lines show ALDH(high)CD44(+) phenotype and sphere-forming capacity // BMC Cancer. 2014. Vol. 14. P. 304.
- [18].Cunnea P., Fotopoulou C., Ploski J. et al. Changes in Stem Cell Regulation and Epithelial Organisation during Carcinogenesis and Disease Progression in Gynaecological Malignancies // Cancers (Basel). 2021. Vol. 13, N 13. P. 3349.
- [19].DeLoia J.A., Zamboni W.C., Jones J.M. et al. Expression and activity of taxane-metabolizing enzymes in ovarian tumors // Gynecol Oncol. 2008. Vol. 108, N 2. P. 355-60.
- [20].Deng Y., Zhou J., Fang L. et al. ALDH1 is an independent prognostic factor for patients with stages II-III rectal cancer after receiving radiochemotherapy // Br J Cancer. 2014. Vol. 110, N 2. P. 430-4.
- [21].Dobritzsch D., Schneider G., Schnackerz K.D., Lindqvist Y. Crystal structure of dihydropyrimidine dehydrogenase, a major determinant of the pharmacokinetics of the anti-cancer drug 5-fluorouracil // EMBO J. 2001. Vol. 20, N 4. P. 650-60.
- [22].Dong X., Liu A., Zer C. et al. siRNA inhibition of telomerase enhances the anti-cancer effect of doxorubicin in breast cancer cells // BMC Cancer. 2009. Vol. 9. P. 133.
- [23].Downie D., McFadyen M.C., Rooney P.H. et al. Profiling cytochrome P450 expression in ovarian cancer: identification of prognostic markers // Clin Cancer Res. 2005. Vol. 11, N 20. P. 7369-75.
- [24].Erdmann A., Halby L., Fahy J., Arimondo P.B. Targeting DNA methylation with small molecules: what's next? // J Med Chem. 2015. Vol. 58, N 6. P. 2569-2583.
- [25].Fu Z., Wang L., Li S. et al. MicroRNA as an Important Target for Anticancer Drug Development // Front Pharmacol. 2021. Vol. 12. P. 736323.
- [26].Gameiro M., Silva R., Rocha-Pereira C. et al. Cellular Models and In Vitro Assays for the Screening of modulators of P-gp, MRP1 and BCRP // Molecules. 2017. Vol. 22, N 4. P. 600.
- [27].Geier A., Macias R.I., Bettinger D., et al. The lack of the organic cation transporter oct1 at the plasma membrane of tumor cells precludes a positive response to sorafenib in patients with hepatocellular carcinoma // Oncotarget. 2017. Vol. 8. P. 15846-15857.
- [28].Göker E., Waltham M., Kheradpour A. et al. Amplification of the dihydrofolate reductase gene is a mechanism of acquired resistance to methotrexate in patients with acute lymphoblastic leukemia and is correlated with p53 gene mutations // Blood. 1995. Vol. 86, N 2. P. 677-84.
- [29].Grandjennette C., Schneckeburger M., Gaigneaux A. et al. Human telomerase reverse transcriptase depletion potentiates the growth-inhibitory activity of imatinib in chronic myeloid leukemia stem cells // Cancer Lett. 2020. Vol. 469. P. 468-480.
- [30].Grelet S., Link L.A., Howley B. et al. A regulated PNUTS mRNA to lncRNA splice switch mediates EMT and tumour progression // Nat Cell Biol. 2017. Vol. 19, N 9. P. 1105-1115.
- [31].Hashemi Sheikhshabani S., Amini-Farsani Z., Rahmati S., Jazaeri A., Mohammadi-Samani M., Asgharzade S. Oleuropein reduces cisplatin resistance in ovarian cancer by targeting apoptotic pathway regulators // Life Sci. 2021. Vol. 278. P. 119525.
- [32].Hattinger C.M., Stoico G., Michelacci F. et al. Mechanisms of gene amplification and evidence of coamplification in drug-resistant human osteosarcoma cell lines // Genes Chromosomes Cancer. 2009. Vol. 48, N 4. P. 289-309.
- [33].He C., Li L., Guan X. et al. Mutant p53 Gain of Function and Chemoresistance: The Role of Mutant p53 in Response to Clinical Chemotherapy // Chemotherapy. 2017. Vol. 62, N 1. P. 43-53.
- [34].Hu C., Zhang M., Moses N. et al. The USP10-HDAC6 axis confers cisplatin resistance in non-small cell lung cancer lacking wild-type p53 // Cell Death Dis. 2020. Vol. 11, N 5. P. 328.
- [35].Huang C.P., Tsai M.F., Chang T.H. et al. ALDH-positive lung cancer stem cells confer resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors // Cancer Lett. 2013. Vol. 328, N 1. P. 144-51.
- [36].Huang Y., Anderle P., Bussey K.J. et al. Membrane transporters and channels: role of the transportome in cancer chemosensitivity and chemoresistance // Cancer Res. 2004. Vol. 64, N 12. P. 4294-301.
- [37].Isono S., Fujishima M., Azumi T. et al. O6-methylguanine-DNA methyltransferase as a prognostic and predictive marker for basal-like breast cancer treated with cyclophosphamide-based chemotherapy // Oncol Lett. 2014. Vol. 7,

- N 6. P. 1778-1784.
- [38]. *Janpipatkul K., Suksen K., Borwornpinyo S. et al.* Downregulation of LAT1 expression suppresses cholangiocarcinoma cell invasion and migration // *Cell Signal*. 2014. Vol. 26, N 8. P. 1668-79.
- [39]. *Januchowski R., Wojtowicz K., Zabel M.* The role of aldehyde dehydrogenase (ALDH) in cancer drug resistance // *Biomed Pharmacother*. 2013. Vol. 67, N 7. P. 669-80.
- [40]. *Januchowski R., Zawierucha P., Andrzejewska M. et al.* Microarray-based detection and expression analysis of ABC and SLC transporters in drug-resistant ovarian cancer cell lines // *Biomed Pharmacother*. 2013. Vol. 67, N 3. P. 240-5.
- [41]. *Januchowski R., Zawierucha P., Ruciński M. et al.* Drug transporter expression profiling in chemoresistant variants of the A2780 ovarian cancer cell line // *Biomed Pharmacother*. 2014. Vol. 68, N 4. P. 447-53.
- [42]. *Jin Q., Zheng J., Chen M. et al.* HIF-1 Inhibitor YC-1 Reverses the Acquired Resistance of EGFR-Mutant HCC827 Cell Line with MET Amplification to Gefitinib // *Oxid Med Cell Longev*. 2021. Vol. 2021. P. 6633867.
- [43]. *Jin Y., Zhang M., Duan R. et al.* Long noncoding RNA FGF14-AS2 inhibits breast cancer metastasis by regulating the miR-370-3p/FGF14 axis // *Cell Death Discov*. 2020. Vol. 6, N 1. P. 103.
- [44]. *Kaehler M., Cascorbi I.* Pharmacogenomics of Impaired Tyrosine Kinase Inhibitor Response: Lessons Learned From Chronic Myelogenous Leukemia // *Front Pharmacol*. 2021. Vol. 12. P. 696960.
- [45]. *Kaur G., Gupta S.K., Singh P. et al.* Drug-metabolizing enzymes: role in drug resistance in cancer // *Clin Transl Oncol*. 2020. Vol. 22, N 10. P. 1667-1680.
- [46]. *Kim A., Shin J.Y., Seo J.S.* Genomic and transcriptomic analyses reveal a tandem amplification unit of 11 genes and mutations in mismatch repair genes in methotrexate-resistant HT-29 cells // *Exp Mol Med*. 2021. Vol. 9. P. 1344-1355.
- [47]. *Kim D., Choi B.H., Ryoo I.G., Kwak M.K.* High NRF2 level mediates cancer stem cell-like properties of aldehyde dehydrogenase (ALDH)-high ovarian cancer cells: inhibitory role of all-trans retinoic acid in ALDH/NRF2 signaling // *Cell Death Dis*. 2018. Vol. 9, N 9. P. 896.
- [48]. *Kim J., Chen C.H., Yang J., Mochly-Rosen D.* Aldehyde dehydrogenase 2*2 knock-in mice show increased reactive oxygen species production in response to cisplatin treatment // *J Biomed Sci*. 2017. Vol. 24, N 1. P. 33.
- [49]. *Kobayashi K., Ohnishi A., Promsuk J., Shimizu S. et al.* Enhanced tumor growth elicited by L-type amino acid transporter 1 in human malignant glioma cells // *Neurosurgery*. 2008. Vol. 62, N 2. P. 493-503.
- [50]. *Kryczka J., Kryczka J., Czarnecka-Chrebelska K.H., Brzezińska-Lasota E.* Molecular Mechanisms of Chemoresistance Induced by Cisplatin in NSCLC Cancer Therapy // *Int J Mol Sci*. 2021. Vol. 22, N 16. P. 8885.
- [51]. *Lan H., Yuan J., Zeng D. et al.* The Emerging Role of Non-coding RNAs in Drug Resistance of Ovarian Cancer // *Front Genet*. 2021. Vol. 12. P. 693259.
- [52]. *Lancaster C.S., Sprowl J.A., Walker A.L. et al.* Modulation of OATP1B-type transporter function alters cellular uptake and disposition of platinum chemotherapeutics // *Mol Cancer Ther*. 2013. Vol. 12, N 8. P. 1537-44.
- [53]. *Lang F., Liu Y., Chou F.J., Yang C.* Genotoxic therapy and resistance mechanism in gliomas // *Pharmacol Ther*. 2021. Vol. 228. P. 107922.
- [54]. *Lawlor D., Martin P., Busschots S. et al.* PARP Inhibitors as P-glycoprotein Substrates // *J Pharm Sci*. 2014. Vol. 103, N 6. P. 1913-20.
- [55]. *Li J., Xie J., Wu D. et al.* A pan-cancer analysis revealed the role of the SLC16 family in cancer // *Channels (Austin)*. 2021. Vol. 15, N 1. P. 528-540.
- [56]. *Liu L., Cai S., Han C., Banerjee A.* ALDH1A1 Contributes to PARP Inhibitor Resistance via Enhancing DNA Repair in BRCA2-/- Ovarian Cancer Cells // *Mol Cancer Ther*. 2020. Vol. 19, N 1. P. 199-210.
- [57]. *Losi L., Lauriola A., Tazzioli E. et al.* Involvement of epigenetic modification of TERT promoter in response to all-trans retinoic acid in ovarian cancer cell lines // *J Ovarian Res*. 2019. Vol. 12, N 1. P. 62.
- [58]. *Lu W., Zhang H., Niu Y. et al.* Long non-coding RNA linc00673 regulated non-small cell lung cancer proliferation, migration, invasion and epithelial mesenchymal transition by sponging miR-150-5p // *Mol Cancer*. 2017. Vol. 16, N 1. P. 118.
- [59]. *Majchrzak-Celińska A., Warych A., Szoszkiewicz M.* Novel Approaches to Epigenetic Therapies: From Drug Combinations to Epigenetic Editing // *Genes (Basel)*. 2021. Vol. 12, N 2. P. 208.
- [60]. *Makvandi M., Xu K., Lieberman B.P. et al.* A Radiotracer Strategy to Quantify PARP-1 Expression In Vivo Provides a Biomarker That Can Enable Patient Selection for PARP Inhibitor Therapy // *Cancer Res*. 2016. Vol. 76, N 15. P. 4516-24.
- [61]. *Mansoori B., Mohammadi A., Davudian S. et al.* The Different Mechanisms of Cancer Drug Resistance: A Brief Review // *Adv Pharm Bull*. 2017. Vol. 7, N 3. P. 339-348.
- [62]. *Marin J.J.G., Macias R.I.R., Cives-Losada C. et al.* Plasma Membrane Transporters as Biomarkers and Molecular Targets in Cholangiocarcinoma // *Cells*. 2020. Vol. 9, N 2. P. 498.
- [63]. *Matheson E.C., Hogarth L.A., Case M.C. et al.* DHFR and MSH3 co-amplification in childhood acute lymphoblastic leukaemia, in vitro and in vivo // *Carcinogenesis*. 2007. Vol. 28, N 6. P. 1341-6.
- [64]. *Matsui A., Ihara T., Suda H. et al.* Gene amplification: mechanisms and involvement in cancer // *Biomol Concepts*. 2013. Vol. 4, N 6. P. 567-82.
- [65]. *Min H.Y., Lee H.Y.* Mechanisms of resistance to chemotherapy in non-small cell lung cancer // *Arch Pharm Res*. 2021. Vol. 44, N 2. P. 146-164.

- [66].Mishra S., Yadav T., Rani V. Exploring miRNA based approaches in cancer diagnostics and therapeutics // Crit Rev Oncol Hematol. 2016. Vol. 98. P. 12-23.
- [67].Moghbeli M. MicroRNAs as the critical regulators of Cisplatin resistance in ovarian cancer cells // J Ovarian Res. 2021. Vol. 14, N 1. P. 127.
- [68].Morales C., García M.J., Ribas M. et al. Dihydrofolate reductase amplification and sensitization to methotrexate of methotrexate-resistant colon cancer cells // Mol Cancer Ther. 2009. Vol. 8, N 2. P. 424-32.
- [69].Muralikrishnan V., Hurley T.D., Nephew K.P. Targeting Aldehyde Dehydrogenases to Eliminate Cancer Stem Cells in Gynecologic Malignancies // Cancers (Basel). 2020. Vol. 12, N 4. P. 961.
- [70].Nishida C.R., Lee M., de Montellano P.R. Efficient hypoxic activation of the anticancer agent AQ4N by CYP2S1 and CYP2W1 // Mol Pharmacol. 2010. Vol. 78, N 3. P. 497-502.
- [71].Oiwa K., Hosono N., Nishi R. et al. Characterization of newly established Pralatrexate-resistant cell lines and the mechanisms of resistance // BMC Cancer. 2021. Vol. 21, N 1. P. 879.
- [72].Okabe M., Szakács G., Reimers M.A. et al. Profiling SLCO and SLC22 genes in the NCI-60 cancer cell lines to identify drug uptake transporters // Mol Cancer Ther. 2008. Vol. 7, N 9. P. 3081-91.
- [73].Park P.H., Yamamoto T.M., Li H. et al. Amplification of the Mutation-Carrying BRCA2 Allele Promotes RAD51 Loading and PARP Inhibitor Resistance in the Absence of Reversion Mutations // Mol Cancer Ther. 2020. Vol. 19, N 2. P. 602-613.
- [74].Pljesa-Ercegovac M., Savic-Radojevic A., Matic M. et al. Glutathione Transferases: Potential Targets to Overcome Chemoresistance in Solid Tumors // Int J Mol Sci. 2018. Vol. 19, N 12. P. 3785.
- [75].Pulliam N., Fang F., Ozes A.R., et al. An Effective Epigenetic-PARP Inhibitor Combination Therapy for Breast and Ovarian Cancers Independent of BRCA Mutations // Clin Cancer Res. 2018. Vol. 24, N 13. P. 3163-3175.
- [76].Rabian F., Lengline E., Rea D. Towards a Personalized Treatment of Patients with Chronic Myeloid Leukemia // Curr Hematol Malig Rep. 2019. Vol. 14, N 6. P. 492-500.
- [77].Robey R.W., Pluchino K.M., Hall M.D. et al. Revisiting the role of ABC transporters in multidrug-resistant cancer // Nat Rev Cancer. 2018. Vol. 18, N 7. P. 452-464.
- [78].Romaniuk-Drapala A., Totoń E., Konieczna N. et al. hTERT Downregulation Attenuates Resistance to DOX, Impairs FAK-Mediated Adhesion, and Leads to Autophagy Induction in Breast Cancer Cells // Cells. 2021. Vol. 10, N 4. P. 867.
- [79].Sato K., Miyamoto M., Takano M. et al. Significant relationship between the LAT1 expression pattern and chemoresistance in ovarian clear cell carcinoma // Virchows Arch. 2019. Vol. 474, N 6. P. 701-710.
- [80].Sawers L., Ferguson M.J., Ihrig B.R. et al. Glutathione S-transferase P1 (GSTP1) directly influences platinum drug chemosensitivity in ovarian tumour cell lines // Br J Cancer. 2014. Vol. 111, N 6. P. 1150-8.
- [81].Schäfer A., Teufel J., Ringel F. et al. Aldehyde dehydrogenase 1A1- a new mediator of resistance to temozolomide in glioblastoma // Neuro Oncol. 2012. Vol. 14, N 12. P. 1452-64.
- [82].Scotto L., Kinahan C., Casadei B. et al. Generation of pralatrexate resistant T-cell lymphoma lines reveals two patterns of acquired drug resistance that is overcome with epigenetic modifiers // Genes Chromosomes Cancer. 2020. Vol. 59, N 11. P. 639-651.
- [83].Seto E., Yoshida M. Erasers of histone acetylation: the histone deacetylase enzymes // Cold Spring Harb Perspect Biol. 2014. Vol. 6. P. a018713.
- [84].Siebenkäs C., Chiappinelli K.B., Guzzetta A.A. et al. Inhibiting DNA methylation activates cancer testis antigens and expression of the antigen processing and presentation machinery in colon and ovarian cancer cells // PLoS One. 2017. Vol. 12, N 6. P. e0179501.
- [85].Singh S., Brocker C., Koppaka V. et al. Aldehyde dehydrogenases in cellular responses to oxidative/electrophilic stress // Free Radic Biol Med. 2013. Vol. 56. P. 89-101.
- [86].Song Z., Jia G., Ma P., Cang S. Exosomal miR-4443 promotes cisplatin resistance in non-small cell lung carcinoma by regulating FSP1 m6A modification-mediated ferroptosis // Life Sci. 2021. Vol. 276. P. 119399.
- [87].Takegawa N., Yonesaka K., Sakai K. et al. HER2 genomic amplification in circulating tumor DNA from patients with cetuximab-resistant colorectal cancer // Oncotarget. 2016. Vol. 7, N 3. P. 3453-60.
- [88].Tan J., Zhou X., Zhu H. hTERT-siRNA could potentiate the cytotoxic effect of gemcitabine to pancreatic cancer cells Bxpc-3 // Exp Clin Transplant. 2012. Vol. 10, N 4. P. 386-93.
- [89].Theile D., Wizgall P. Acquired ABC-transporter overexpression in cancer cells: transcriptional induction or Darwinian selection? // Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2021. Vol. 394, N 8. P. 1621-1632.
- [90].Therachiyil L., Haroon J., Sahir F. et al. Dysregulated Phosphorylation of p53, Autophagy and Stemness Attributes the Mutant p53 Harboring Colon Cancer Cells Impaired Sensitivity to Oxaliplatin // Front Oncol. 2020. Vol. 10. P. 1744.
- [91].Toffoli G., Corona G., Toluoso B. et al. Resistance to methotrexate in SKOV-3 cell lines after chronic exposure to carbamazepine is associated with a decreased expression of folate receptor // Int J Cancer. 2000. Vol. 85, N 5. P. 683-90.
- [92].Toyoda M., Kaira K., Ohshima Y. et al. Prognostic significance of amino-acid transporter expression (LAT1, ASCT2, and xCT) in surgically resected tongue cancer // Br J Cancer. 2014. Vol. 110, N 10. P. 2506-13.
- [93].Wang G., He Y., Sun Y. et al. Prevalence, prognosis and predictive status of HER2 amplification in anti-EGFR-resistant metastatic colorectal cancer // Clin Transl Oncol. 2020. Vol. 22, N 6. P. 813-822.

- [94]. Wang Y., Yan C., Qi J. et al. miR-874-3p mitigates cisplatin resistance through modulating NF- κ B/inhibitor of apoptosis protein signaling pathway in epithelial ovarian cancer cells // *Mol Cell Biochem*. 2021. Vol. 477, N 1. P. 307-317.
- [95]. Wilson A.J., Sarfo-Kantanka K., Barrack T. et al. Panobinostat sensitizes cyclin E high, homologous recombination-proficient ovarian cancer to olaparib // *Gynecol Oncol*. 2016. Vol. 143, N 1. P. 143–151.
- [96]. Worm J., Kirkin A.F., Dzhandzhugazyan K.N., Guldberg P. Methylation-dependent silencing of the reduced folate carrier gene in inherently methotrexate-resistant human breast cancer cells // *J Biol Chem*. 2001. Vol. 276. P. 39990–40000.
- [97]. Wu Z., Li S., Tang X. et al. Copy Number Amplification of DNA Damage Repair Pathways Potentiates Therapeutic Resistance in Cancer // *Theranostics*. 2020. Vol. 10, N 9. P. 3939-3951.
- [98]. Xiao Y., Lin F.T., Lin W.C. ACTL6A promotes repair of cisplatin-induced DNA damage, a new mechanism of platinum resistance in cancer // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2021. Vol. 118, N 3. P. e2015808118.
- [99]. Xie W., Sun H., Li X. et al. Ovarian cancer: epigenetics, drug resistance, and progression // *Cancer Cell Int*. 2021. Vol. 21, 1. P. 434.
- [100]. Xu W.S., Parmigiani R.B., Marks P.A. Histone deacetylase inhibitors: molecular mechanisms of action // *Oncogene*. 2007. Vol. 26. P. 5541–52.
- [101]. Yamaguchi S., Maida Y., Yasukawa M. et al. Eribulin mesylate targets human telomerase reverse transcriptase in ovarian cancer cells // *PLoS One*. 2014. Vol. 9, N 11. P. e112438.
- [102]. Yang R., Li W.W., Hoang B.H. et al. Quantitative correlation between promoter methylation and messenger RNA levels of the reduced folate carrier // *BMC Cancer*. 2008. Vol. 8. P. 124.
- [103]. Yelton C.J., Ray S.K. Histone deacetylase enzymes and selective histone deacetylase inhibitors for antitumor effects and enhancement of antitumor immunity in glioblastoma // *Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2018. Vol. 5. P. 46.
- [104]. Yin W., Liu W., Guo M. et al. Acquired MET amplification in non-small cell lung cancer is highly associated with the exposure of EGFR inhibitors and may not affect patients' outcome // *Exp Mol Pathol*. 2021. Vol. 118. P. 104572.
- [105]. Yonezawa A., Masuda S., Yokoo S. et al. Cisplatin and oxaliplatin, but not carboplatin and nedaplatin, are substrates for human organic cation transporters (SLC22A1-3 and multidrug and toxin extrusion family) // *J Pharmacol Exp Ther*. 2006. Vol. 319, N 2. P. 879-86.
- [106]. Zhang H., Fu L. The role of ALDH2 in tumorigenesis and tumor progression: Targeting ALDH2 as a potential cancer treatment // *Acta Pharm Sin B*. 2021. Vol. 11, N 6. P. 1400-1411.
- [107]. Zhang Z., Dou X., Yang H. et al. Association of expression of p53, livin, ERCC1, BRCA1 and PARP1 in epithelial ovarian cancer tissue with drug resistance and prognosis // *Pathol Res Pract*. 2020. Vol. 216, N 2. P. 152794.
- [108]. Zhao C., Han S.Y., Li P.P. Pharmacokinetics of Gefitinib: Roles of Drug Metabolizing Enzymes and Transporters // *Curr Drug Deliv*. 2017. Vol. 14, N 2. P. 282-288.
- [109]. Zhu J., Yang Q., Xu W. Iterative Upgrading of Small Molecular Tyrosine Kinase Inhibitors for EGFR Mutation in NSCLC: Necessity and Perspective // *Pharmaceutics*. 2021. Vol. 13, N 9. P. 1500.

T.I.TERPINSKAYA

MECHANISMS OF DRUG RESISTANCE IN CANCER: A BRIEF REVIEW OF THE CURRENT DATA

Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Summary

Drug resistance of tumors is the result of a complex of processes caused by various mechanisms, including a decrease in the uptake of drugs by the cell and intensification of their excretion, increased metabolism and inactivation of chemotherapy drugs, changes in the molecular target of anticancer drugs as a result of mutations, increased DNA repair in tumor cells, and an increase in the resistance of malignant cells to apoptosis, increased telomerase activity, amplification of genes encoding proteins that affect drug resistance. Alteration of gene expression as a result of changes in the degree of DNA methylation and acetylation or poly(ADP)-ribosylation of proteins also plays a role. Drug resistance of tumors is the main reason for the failure of chemotherapy. This determines the relevance of studying the mechanisms of resistance to various drugs and developing ways to overcome it.

Key words: tumor, drug resistance, chemotherapy

УДК 616.92-036.22-084(452)

А.М. ДРОНИНА¹, И.С. ЗАДОРА², Т.С. ГУЗОВСКАЯ²

ЭМЕРДЖЕНТНЫЕ БОЛЕЗНИ XXI ВЕКА: ОСПА ОБЕЗЬЯН

¹ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии» г. Минск, Беларусь;

²УО «Белорусский государственный медицинский университет» г. Минск, Беларусь

Приведены актуальные сведения по проблеме оспы обезьян. Описана этиология данного заболевания, эпидемиологические особенности возбудителя. Охарактеризован механизм развития эпидемического процесса: источники инфекции, механизм и пути передачи возбудителя оспы обезьян. Представлены основные параметры восприимчивости и иммунитета при данном заболевании. Приведены ведущие клинические проявления и методы лабораторной диагностики. В статье также рассматриваются основные проявления эпидемического процесса оспы обезьян. Отражены заболеваемость, группы риска и факторы риска. Приведены основные рекомендации по профилактике.

Ключевые слова: оспа обезьян, механизм передачи, эпидемиология, профилактика, слежение.

Введение. После ликвидации натуральной оспы в мировом масштабе возбудитель оспы обезьян остается наиболее опасным патогеном для человека, летальность может достигать 11%, при этом наиболее тяжелые формы заболевания наблюдаются у населения детского возраста [6], [14], [17]. В последние годы на эндемичных территориях отмечено возросшее число больных оспой обезьян, особенно среди взрослых, рожденных после прекращения кампании по вакцинации против натуральной оспы, а также расширения географического ареала распространения. Разрушение природных экосистем для нужд сельского хозяйства и строительства дорог, внедрение людей в ареалы обитания животных, привлекательность путешествий и мистических практик, расширение туристических возможностей создают потенциальную возможность завоза и распространения оспы обезьян на территории различных государств, в т. ч. и в Республике Беларусь.

Оспа обезьян является вирусным зоонозным заболеванием, клинически схожим с натуральной оспой, проявляющееся лихорадкой, интоксикацией, экзантемой и лимфоаденопатией.

Материалы и методы. Проведен обзор научных статей, посвященных изучению оспы обезьян. Поиск осуществлялся по медицинской базе данных MEDLINE (PubMed) за период с 1958 по июнь 2022 г. Объект поиска – исследования оспы обезьян. Поиск осуществлялся в 2 направлениях. В первом случае поиск проводили по предметным заголовкам (MeSH) с использованием ключевого слова «Monkeypox». Второй вариант был сфокусирован на эпидемиологии и ограничен ключевыми словами «epidemiology», «prevention», «surveillance».

Результаты и их обсуждение. *Этиология.* Вирус оспы обезьян (ВОО) относится к роду Orthoroxvirus в семействе Poxviridae, крупных ДНК-содержащих вирусов. Впервые данный вирус был выделен от больных обезьян в 1958 г. при расследовании вспышки везикулярных заболеваний в Копенгагене, куда животных привезли для исследовательских целей из Африки, что впоследствии отразилось в названии инфекции Monkeypox [10], [20].

По своей морфологической структуре и антигенным свойствам ВОО схож с вирусом натуральной оспы (Variola virus), который также входит в состав данного семейства. Поверхностная мембрана состоит из липопротеидов, внутри вириона находится двояковогнутая или цилиндрическая сердцевина - заключенный в мембрану нуклеопротеидный комплекс, содержащий геномную вирусную ДНК и белки. Нуклеиновая кислота ортопоксвирусов представлена одной молекулой двухцепочечной линейной ДНК. Геном кодирует 150-300 белков, около 100 из них входят в состав вириона, который может быть кирпичеобразной или овоидной формы. Кроме того, вирусные частицы содержат ферменты, вовлеченные в транскрипцию РНК и модификацию белков и нуклеиновых кислот. При геномном секвенировании выявлены различия в штаммах, циркулирующих в различных географических регионах. Западноафриканский геновариант WA, является менее вирулентным, и лишен ряда генов, присутствующих в центральноафриканском геноварианте CB, выделенном в

бассейне Конго [19] Общий уровень летальности составил 8,7%, со значительной разницей между штаммами: центральноафриканские – 10,6% (95% ДИ: 8,4-13,3%) и западноафриканские – 3,6% (95% ДИ: 1,7-6,8%) [6], [16], [19].

Для представителей семейства *Rohviridae*. характерна высокая частота рекомбинации, а также типичный для вирусов только этого семейства феномен, который получил название негенетической реактивации - взаимодействия вирусов на уровне продуктов генов при одновременном попадании в клетку вирионов различных вирусов, что приводит к образованию мутантов, отличных от родительских штаммов. В отличие от вируса натуральной оспы ВОО чувствителен к повышенной температуре [17].

Источник инфекции. Оспа обезьян представляет собой зооноз со сложной экологией и эпизоотологией, включающий как потенциальных хозяев в дикой природе, так и дополнительные восприимчивые виды животных, способных передавать вирус человеку. Несмотря на то, что в полевых исследованиях антитела были обнаружены у мелких видов млекопитающих, таких как африканские гигантские крысы (*Cricetomys* sp.), полосатые мыши (*Lemniscomys* sp.), сони (*Graphiurus* sp.), луговые собачки (*Synomys* sp.), белки-летяги (*Funisciurus* и *Heliosciurus*), муравьеды (*Murgmessorpha tridactyla*), приматы (родов *Cercopithecus*, *Colobus*, *Cercocobus*), природный резервуар инфекции остается неизвестным. Животные, содержащиеся в неволе, являются более уязвимыми, вследствие скученности, смешивания видов или физиологического стресса, что подтверждают вспышки заболеваний в зоопарках и заповедниках [16], [17].

Несмотря на вспышку заболевания у приматов в 1958 г. [20], в человеческой популяции ВОО впервые был выделен в 1970 г. у 9- месячного ребенка в Заире (теперь Демократическая Республика Конго) [10], [24].

Механизм передачи. Входными воротами инфекции могут являться поврежденная кожа (например, укусы животных), дыхательные пути, слизистые оболочки глаз, рта, половых органов [23], [24]. Заражение людей может происходить в результате прямого или непрямого контакта с животными или биологическими жидкостями при охоте и приготовлении мяса в качестве пищи. Во время реализации программы активного эпиднадзора ВОЗ в ДРК в период с 1981 по 1986 г. было обнаружено, что 72% случаев оспы обезьян у людей связаны с зоонозной передачей [16]. Кроме этого, возможна передача вируса и от человека к человеку (вторичная трансмиссия). В данном случае заражение может происходить воздушно-капельным путем при вдыхании крупнокапельного аэрозоля (при пребывании с больным в радиусе менее 1,5 метра более 3 часов), а также в результате прямого (поцелуи, объятия), в том числе полового или непрямого контакта с элементами кожной сыпи через контаминированные предметы, например, одежда или постельное белье [1], [7], [8], [10], [21], [22]. В настоящее время неизвестно, может ли оспа обезьян передаваться через сперму или вагинальные выделения. Вирус также может проникать через плаценту и передаваться от матери к плоду. Нет убедительных доказательств, что передача инфекции от человека к человеку в одиночку может поддерживать циркуляцию возбудителя в человеческой популяции [10], [17]. Кроме того, эпидемиологическими исследованиями установлено, что активность передачи вируса среди членов семьи в 10 раз ниже, чем при натуральной оспе [8], [13].

Восприимчивость и иммунитет. Естественная восприимчивость не изучена в полной мере. Традиционно считается, что к наиболее восприимчивой группе относятся дети, что также определяет и большую частоту встречаемости тяжелых форм и серьезных осложнений. По литературным данным большинство летальных исходов (более 80%) наблюдается у детей до 10 лет [4], [15], [24].

Иммунизация против натуральной оспы дает перекрёстную защиту до 85%, однако, после ее ликвидации и последующего прекращения вакцинации, наблюдается увеличение заболеваемости оспой обезьян на фоне наличия восприимчивых не вакцинированных после 1980 г. лиц и постепенного снижения популяционного иммунитета в вакцинированных группах [4], [10], [16], [23], [24].

Основные клинические проявления. Клинически оспа обезьян схожа с проявлениями натуральной оспы. Клиническое течение может варьировать от легкой формы до летального исхода. Выделяют традиционные периоды течения заболевания: инкубационный, продромальный, период высыпаний и реконвалесценции. Инкубационный период варьирует от 7 до 21 дней, зависит от инфицирующей дозы возбудителя и характеристик организма хозяина. Период продрома характеризуется генерализованной головной болью, усталостью, лихорадкой с температурой между 38,5°C и 40,5°C, что происходит на фоне интоксикации организма. Данный период в среднем продолжается 1-4 дней. Отличительной чертой оспы обезьян является развитие в период высыпаний

подмышечной, цервикальной и паховой лимфоаденопатии, которая отсутствует при натуральной оспе. Экзантема при оспе обезьян сначала появляется на лице, а затем постепенно захватывает все тело человека (верхние конечности, туловище, нижние конечности) и последовательно переходит из макулы в пустулу. Продолжительность периода высыпаний от 14 до 28 дней. Число кожных поражений варьируется от небольшого числа до нескольких тысяч. Они появляются на лице и туловище (95% случаев), ладонях и подошвах стоп (75%), слизистых оболочках полости рта (70%), гениталий (30%), а также на конъюнктиве и роговице (20%) [4], [18], [19]. При обширном поражении кожи возможно присоединение вторичной бактериальной инфекции, что регистрируется у 19% лиц. Серьезные осложнения чаще регистрируются среди невакцинированных (74%). К основным осложнениям можно отнести дыхательный дистресс-синдром и бронхопневмонию в результате присоединения вторичной инфекции легких. Диспепсия может развиваться на второй недели заболевания и привести к дегидратации организма. Крайне редко могут возникать энцефалит и септицемия. Коинфекции (малярия, ветряная оспа, ВИЧ) и сопутствующие заболевания (недоедание) могут способствовать значительным тяжелым клиническим проявлениям заболевания [8], [12], [14], [16], [18], [24].

Лабораторная диагностика. Диагноз оспы обезьян ставится на основании клинических, лабораторных и эпидемиологических данных, включая информацию о предшествующей иммунизации пациента. Любому лицу, подпадающему под определение предполагаемого случая оспы обезьян, должно быть предложено тестирование. Забор материала производят в инфекционном стационаре с соблюдением правил личной и общественной биологической безопасности. Рекомендуемым типом образца является материал кожного поражения, включая мазки с поверхности пораженного участка и/или экссудата, корочки. Материал для лабораторного исследования, отобранный у инфицированных (подозрительных на инфицирование) оспой обезьян лиц немедленно отправляют с соблюдением правил транспортировки в лабораторию, имеющую разрешение на работу с патогенными биологическими агентами 4 группы риска [25].

Существует несколько диагностических методов исследования, таких как электронная микроскопия (для научных целей), иммуногистохимический анализ (обнаружение IgM, IgG) для диагностики ранней или перенесенной инфекции, метод амплификации нуклеиновых кислот с использованием ПЦР в реальном времени с использованием систем (Tetracore Orthopox Biothreat, «Вектор-МПЦРРВ-Оспа») для обнаружения ортопоксвирусных антигенов (вирусов натуральной оспы, оспы обезьян, оспы коров, осповакцины) или классической ПЦР для обнаружения уникальных последовательностей вирусной ДНК оспы обезьян («Вектор-ПЦРРВ-ВОО»). ПЦР является методом, наиболее часто используемым для подтверждения оспы обезьян, его можно использовать отдельно или в сочетании с секвенированием [25].

Проявления эпидемического процесса. Данная инфекция встречается, преимущественно, в отдаленных районах влажных тропических лесов Центральной и Западной Африки. Интерес к оспе обезьян в качестве болезни человека появился на заключительных этапах ликвидации натуральной оспы [4], [10].

На территориях, эндемичных по оспе обезьян, случаи заболевания фиксируются ежегодно. Большинство из них отмечается в странах Африки – Демократическая Республика Конго (ДРК), Республика Конго, Камерун, Центральноафриканская Республика, Либерия, Нигерия, Кот-д'Ивуар, Сьерра-Леоне, Габон и Южный Судан, Бенин, Гана (выявляется только у животных) [2], [5], [7], [8], [11], [15], [16], [17].

Изначально, случаи заболевания оспой обезьян регистрировались в Западной Африке, однако с 1981 г. абсолютное большинство заразившихся людей находились на территории вокруг бассейна реки Конго в Центральной Африке. Точно не известно, явилось ли это результатом миграции жителей, или появлением местных случаев заражения.

За период 1970-2015 гг. зарегистрировались заболевания людей в странах Африки, а также завозные случаи в США [4], [6], [7], [8], [13], [16], [17].

На фоне sporadической заболеваемости на эндемичных территориях периодически регистрируются и крупные вспышки. В 1996-1997 г. в Заире заболело 88 человек, передача возбудителя от человека к человеку имела место в нескольких поколениях. Летальность составила 3,7%, что может быть объяснимо наличием остаточного перекрестного популяционного иммунитета [17], [24].

Во время вспышки в Центральноафриканской Республике в 2016 г., зарегистрировано 26 случаев заболевания, из них 3 были лабораторно подтверждены. При расследовании вспышки (43

человек) в Конго в 2017 г. 7 случаев определены как лабораторно подтвержденные, 13 – вероятные случаи и 2 – возможные случаи оспы обезьян. Медианный возраст пациентов составил 11,5 лет, 63,6% заболевших были женщины [7].

Заметно увеличилось количество сообщений о вспышках оспы обезьян. из-за пределов ДРК в период с 2010 по 2018 год, особенно в Центральноафриканской Республике. Географическая картина вспышки в Нигерии указывает на возможный новый широко распространенный зоонозный резервуар, требующий дальнейшего изучения [4], [7], [9].

На протяжении 2017-2018 гг. в Нигерии имела место крупнейшая вспышка оспы обезьян в Западной Африке с доказанной передачей вируса от человека человеку. Диагноз подтвержден идентификацией вируса с помощью ПЦР и обнаружением анти-ортопоксвирусных IgM. Секвенирование генома было сделано в 7 случаях [3], [5]. Вспышка продолжилась и в 2019 г., когда было зафиксировано более 300 случаев [15].

По мере роста осведомленности об данной инфекции растет число подтвержденных случаев заболеваний людей. Увеличение случаев заболевания оспой обезьян и расширение географического ареала связано участвовавшими контактами между людьми и животными в результате вырубке лесов, изменений климата и демографии. Вооруженные конфликты и миграция вынуждают людей искать альтернативные источники белка, включая потребление мяса обезьян, белок и других грызунов. Увеличение частоты контактов с потенциальными источниками инфекции, приводит не только к заражению, но и повышает риск передачи вируса от человека человеку.

В 2003 г. вспышка оспы обезьян (37 подтвержденных и 72 вероятных случаев) была впервые зарегистрирована за пределами Африки – в 6 штатах США. Заражение людей произошло от местных луговых собачек, содержащихся в одних клетках с гамбийскими крысами, ввезенными на территорию Техаса из Западной Африки. Лабораторно было подтверждено наличие возбудителя у 22 животных, а ДНК вируса оспы обезьян было обнаружено у 33 животных, что повлекло за собой введение запрета на ввоз всех африканских грызунов [4], [19], [21]. Вспышки заболевания среди содержащихся в неволе животных в Европе и США наблюдались неоднократно. Вспышка в Судане в 2005 г. была второй, зарегистрированной за пределами эндемичных территорий [11].

В Соединенном Королевстве в сентябре 2018 были зарегистрированы 3 заболевания людей оспой обезьян. При этом, 2 пациента перед этим путешествовали в Нигерию, и по возвращении в Великобританию возникли симптомы заболевания. Третий случай был зарегистрирован у медицинского работника, осуществляющего уход за этими пациентами [10].

В мае 2019 г. Министерство здравоохранения Сингапура уведомило ВОЗ об одном лабораторно подтвержденном случае заболевания оспой обезьян. Заболевшим является 38-летний мужчина, который прибыл в Сингапур на семинар и до поездки работал в Нигерии.

В период пандемии Covid-19 продолжали регистрироваться случаи заболевания данной инфекцией. Так, в ноябре 2021 г. Национальный координатор по ММСП (2005 г.) в Соединенных Штатах Америки (США) уведомил ПАОЗ/ВОЗ по 1 лабораторно подтвержденному завозному случаю заболевания оспой обезьян, выявленных после поездки в Нигерию (июль и ноябрь). Пациенты не были вакцинированы против натуральной оспы в прошлом [16], [21].

Стремительное распространение вируса в настоящее время происходит на фоне снятия ограничений, обусловленных пандемией COVID 19, активизацией международного транспортного сообщения и проведением массовых мероприятий. С учетом летнего сезона существует риск дальнейшего распространения вируса в Европе и по всему миру [22].

С апреля 2022 г. регистрируются вспышки оспы обезьян, затронувшие не эндемичные страны в нескольких регионах мира, что является «необычным событием». Обнаружить вспышку удалось благодаря системе эпидемиологического надзора в европейских странах, а также механизмам оперативного обмена информацией при поддержке ВОЗ. Новые случаи выявляются каждый день. На 2 июня 2022 г. лабораторно подтверждено уже 780 случаев оспы обезьян среди людей, что указывает на относительно быстрое распространение инфекции на не эндемичных территориях, разрозненных между собой. Наибольшее количество случаев регистрировалось в таких странах как Испания (40 случаев), Португалия, Великобритания (от 21 до 30 случаев), заболевания выявлены в Австралии, Бельгии, Канаде, Франции, Германии, Италии, Нидерландах, Швеции, США, Швейцарии и Израиле. Подозрительные на заболевание случаи имели место в Аргентине и Греции. Большинство случаев отмечено у мужчин, практикующих секс с мужчинами или бисексуалов, и связано массовыми мероприятиями, проводимыми в Испании и Бельгии [22]. Инфицирование во всех лабораторно подтвержденных с помощью ПЦР случаях, произошло западноафриканским штаммом. Изучение

последовательности генома в образце, полученном от пациента из Португалии, показало близкое совпадение с вирусом оспы обезьян, завезенным из Нигерии в Великобританию, Израиль и Сингапур в 2018 и 2019 годах. Не было зарегистрировано ни одного случая смерти, связанного с текущей вспышкой оспы обезьян в неэндемичных странах, однако сообщения о случаях и летальных исходах продолжают поступать из эндемичных стран, наибольшее количество смертей (57) зафиксировано в Демократической Республике Конго [22].

Профилактика. Специфическая профилактика оспы обезьян отсутствует, однако, вакцина против натуральной оспы дает эффективный перекрестный иммунитет и от оспы обезьян. Однако после полной ликвидации натуральной оспы во всем мире эта вакцина более не доступна для основной части населения. В 2019 г. и в 2022 г., соответственно, были зарегистрированы новая вакцина (Imvanex) и препараты, эффективные при лечении заболеваний, вызванных ортопоксвирусами. Данные об иммуногенности вакцины получены в клиническом исследовании на животных. Данных об эффективности противовирусных средств при лечении людей, страдающих обезьяньей оспой, нет. Кроме того, их пока еще нет в широком доступе. Данных об эффективности использования иммуноглобулина коровьей оспы профилактики осложнений оспы обезьян нет. Возможно его применение у контактных лиц тяжелым T-клеточным иммунодефицитом [12], [16]

Важным является повышение информированности населения в эндемичных районах по снижению риска передачи инфекции от животного человеку. Следует избегать любого контакта с грызунами и приматами, проводить тщательную термическую обработку продуктов животного происхождения перед употреблением в пищу. При обращении с животными, их тканями и биологическими жидкостями, а также во время забоя необходимо использовать перчатки и защитную одежду.

В настоящее время имеется ограниченный объем информации о мерах профилактики в неэндемичных странах. Для уменьшения риска передачи инфекции от человека человеку необходимо избегать тесных физических контактов с инфицированными людьми. Медицинские работники, осуществляющие уход за пациентами или лабораторное исследование должны принимать стандартные меры предосторожности в области инфекционного контроля [23]. Необходимо повышать осведомленность людей о рисках заражения во время путешествий, в том и на не эндемичных территориях.

С целью сдерживания распространения вируса путем максимального ограничения его передачи от человека к человеку в контексте общественного здравоохранения эпидемиологический надзор за оспой обезьян предполагает быстрое выявление отдельных случаев заболевания для обеспечения оптимального лечения; изоляцию заболевших для предотвращения дальнейшей передачи вируса; выявление контактных лиц и организацию наблюдения за ними; защиту медицинских работников, непосредственно работающих с заболевшими; разработку эффективных мер борьбы и профилактики заболевания. Единичный случай оспы обезьян считается вспышкой заболевания. Необходимо проведение исследований эпидемиологии и эпизоотологии оспы обезьян, улучшение качества диагностики и системы сбора данных о вспышках. Ответные меры общественного здравоохранения в связи с оспой обезьян не предполагают столь же масштабных действий и ограничений на уровне всего населения, как те, которые были необходимы для противодействия COVID-19.

Литература

- [1]. Aaron T. Fleischauer. et al. Evaluation of Human-to-Human Transmission of Monkeypox from Infected Patients to Health Care Workers // *Clinical Infections Diseases*. 2005. Vol. 40. P. 689 - 694.
- [2]. Adam MacNeil., et al. Transmission of Atypical Varicella-Zoster Virus Infections Involving Palm and Zole Manifestations in an Area with Monkeypox Endemicity // *Clinical Infections Diseases*. Brief report. 2008. Vol. 48 (1 January). P. 6- 8.
- [3]. Adesola Yinka-Ogunleye Outbreak of human monkeypox in Nigeria in 2017–18: a clinical and epidemiological report // *Lancet*, 2019. Vol. 19. Issue 8. P. 872-879.
- [4]. Beer EM, Rao VB. Systematic review of the epidemiology of human monkeypox outbreaks and implications for outbreak strategy // *PLoS Negl Trop Dis*, 2019. Vol. 13(10). URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007791>
- [5]. Bernard C. Silenou, Daniel Tom-Aba, et al. Use of Surveillance Outbreak Response Management and Analysis System for Human Monkeypox Outbreak, Nigeria, 2017-2019 // *Emerging Infectious Diseases*. Vol. 26. Issue. 2. URL <https://doi.org/10.3201/eid2602.191139>
- [6]. Bunge EM, Hoet B, Chen L, et al. The changing epidemiology of human monkeypox-A potential threat? A systematic review // *PLoS Negl Trop Dis*. 2022. Vol.16(2). URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35148313/>

- [7]. Doshi Reena H. Epidemiological and Ecological Investigations of Monkeypox, Likouala Department, Republic of Congo, 2017 // *Emerging Infectious Diseases*. February, 2019. Vol. 5. P. 273-281.
- [8]. E. Petersen, et al. Human Monkeypox: Epidemiologic and Clinical Characteristics, Diagnosis, and Prevention // *Infectious Disease Clinics of North America*. 2019. Vol. 33. P. 1027-1043.
- [9]. Enhancing health care worker ability to detect and care for patients with monkeypox in the Democratic Republic of the Congo / J. Bass [et al.] // *Int. Health*. 2013. Vol. 5. P. 237-243.
- [10]. Eskild Petersen. et al. Monkeypox – Enhancing public health preparedness for an emerging lethal human zoonotic epidemic threat in the wake of the smallpox post-eradication era // *International Journal of Infectious Diseases*. 2019. Vol. 78. P. 78-84.
- [11]. Formenty P., Muntasir M.O., et al. Human monkeypox outbreak caused by novel virus belonging to Congo Basin clade, Sudan, 2005. // *Emerg. Infect. Dis*. 2010; Vol. 16. P.1539-1545.
- [12]. Interim Clinical Guidance for the Treatment of Monkeypox Content source: Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID), Division of High-Consequence Pathogens and Pathology (DHCPP). Page last reviewed: May 26, 2022. URL: <https://www.cdc.gov/poxvirus/monkeypox/treatment.html>
- [13]. Jezek Z, Gromyko AI, Szczeniowski MV. Human monkeypox. // *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol*. 1983; Vol.27. P.13-28.
- [14]. Jezek Z, Szczeniowski M, et al. Human monkeypox: clinical features of 282 patients. // *M. J. Infect Dis*. 1987. 1 Vol. 56(2), P. 293-298.
- [15]. Kabuga, Auwal I., Mohamed E., et al. A review of the monkeypox virus and a recent outbreak of skin rash disease in Nigeria // *Med. virol*. 2019. Vol. 91, №4. P. 533 -540.
- [16]. Katy Brown, Peter A. Leggat Human Monkeypox: Current State of Knowledge and Implications for the Future / *Trop Med Infect Dis*. 2016. Vol 1. P. 8-12.
- [17]. Mary G. Reynolds, et al. Monkeypox re-emergence in Africa: a call to expand the concept and practice of One Health // *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2019 Feb; Vol.17(2): P. 129-139.
- [18]. Reynolds MG, McCollum AM, et al. Improving the care and treatment of monkeypox patients in low-resource settings: applying evidence from contemporary biomedical and smallpox biodefense research. // *Viruses* 2017. Vol. 9. P. 380.
- [19]. Sale T.A., Melski J.W., et al. Monkeypox: an epidemiologic and clinical comparison of African and US disease. // *J. Am. Acad. Dermatol*. 2006. Vol. 55. P. 478-481.
- [20]. Von Magnus P, Andersen E, Petersen K, et al. A pox-like disease in *Cynomolgus* monkeys. *Acta Pathol Microbiol Scand*. 1959; Vol.46. P.156-176
- [21]. World Health Organization. WHO Disease Outbreak News: Monkeypox – United States of America. 27 July 2021. URL: <https://www.who.int/ru/emergencies/disease-outbreak-news/item/monkeypox---the-united-states-of-america>. По состоянию на 6 июня 2022 г
- [22]. World Health Organization. WHO Disease Outbreak News: Multi-country monkeypox outbreak: situation update. 4 June 2022. URL: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON390> . По состоянию на 6 июня 2022.
- [23]. World Health Organization. WHO: Surveillance, case investigation and contact tracing for Monkeypox: Interim guidance. Technical document. Published 22 May 2022. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-MPX-surveillance-2022.1>
- [24]. Борисевич, С. В. Оспа обезьян // *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2015. Выпуск № 1. С. 59-65.
- [25]. Лабораторное тестирование на вирус оспы обезьян. Временные рекомендации ВОЗ 23 мая 2022 г. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/354556> По состоянию на 05.06.2022

A.M. DRONINA¹, I.S. ZADORA², T.S. GUZOVSKAYA²

EMERGENT DISEASES OF THE XXI CENTURY: MONKEYPOX

¹*Republican Research and Practical Center for Epidemiology & Microbiology, Minsk, Belarus;*

²*Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus*

Summary

The presented scientific review contains relevant information on the problem of monkeypox. The main etiological factors of this disease, epidemiological features of the pathogen are described. The development mechanism of the epidemic process has been characterized: sources of infection, the mechanism and ways of transmission of the causative agent of monkeypox. The main parameters of susceptibility and immunity in this disease are presented. The leading clinical manifestations and methods of laboratory

diagnostic are given. The article also discusses the main manifestations of epidemic process of the infection. Incidence, risk groups and risk factors are reflected. The main preventive recommendations are given.

Key words: monkeypox, transmission, epidemiology, prevention, surveillance.

Полезные мысли и афоризмы великих людей

(из записных книжек профессора В.С. Улащик)

Алексей Степанович Хомяков
(3 апреля 1804 — 23 июня 1856 гг.)

Алексей Степанович Хомяков — философ, поэт, художник, богослов, публицист, участник русско-турецкой войны в чине штаб-ротмистра, кандидат математических наук, член-корреспондент Петербургской Академии наук.

**«Там только сила, где любовь, а любовь
только там, где личная свобода»**

- Наука должна расширять область человеческого знания, обогащать его данными и выводами, но она должна помнить, что ей самой приходится многому и многому учиться у жизни. Без жизни она так же скудна, как жизнь без нее, может быть, еще скуднее.
- Частное мышление может быть сильно и плодотворно только при сильном развитии мышления общего; мышление общее возможно только тогда, когда высшее знание и люди, выражающие его, связаны со всем остальным организмом общества узами свободной и разумной любви и когда умственные силы каждого отдельного лица оживляются круговращением умственных и нравственных соков в его народе.
- Ученый должен говорить с неученым не снисходительно, как высший с низшим, не с жалким фальцетом, как взрослый с младенцем, — но просто и благородно, как мыслящий с мыслящим.
- Самобытность мысли и суждений невозможна без твердых основ, без данных, осознанных или созданных самобытною деятельностью духа, без таких данных, в которые он верит твердою верою разума, теплою верою сердца.
- Язык наш, в его вещественной наружности и звуках, есть покров такой прозрачный, что сквозь него просвечивает постоянно умственное движение, созидающее его.
- Русский человек, как известно, охотно принимает науку; но он верит также и в свой природный разум.
- Важная миновала эпоха, что бы ни было, а будет уже не то.
- Истину должно признавать, как бы она ни была для нас горька.
- Жизнь есть движение вперед, а в природе все движения — вперед.
- Самый закон общественного развития есть уже закон явления несовершенного. Улучшение есть признание недостатка в прошедшем, а допущение улучшения в будущем есть признание неполноты в современном.
- Каждый народ представляет такое же живое лицо, как и каждый человек.
- Всякое общество находится в постоянном движении; иногда это движение быстро и поражает глаза даже не слишком опытного наблюдателя, иногда крайне медленно и едва уловимо самым внимательным наблюдением. Полный застой невозможен, движение необходимо; но, когда оно не есть успех, оно есть падение. Таков всеобщий закон.
- Общество восстает не против формы своей, а против всей сущности, против своих внутренних законов. Отжили не формы, но начала духовные, не условия общества, но вера, в которой жили общества и люди, составляющие общество. Внутреннее омертвление людей высказывается судорожными движениями общественных организмов; ибо человек — создание благородное: он не может и не должен жить без веры.
- Плодотворное сочувствие общества вызывает наружу лучшие побуждения нашей души; плодотворная строгость общественного суда укрепляет наши силы и сдерживает худшие наши стремления.
- Нравственное достоинство человека высказывается только в обществе, а общество есть не то собрание

людей, которые нас случайно окружает, – но то, с которым мы живем заодно.

- Религия есть одно солнце, один свет для всех; но равно благодетельные лучи его не равно разливаются по земному шару, а соответственно общему закону вселенной.
- Избави Бог от людей самодовольных и от самодовольства народного.
- Европеец, вечно толкующий о человечестве, никогда не доходил вполне до идеи человека.
- Русского, чтобы он ни делал, как бы он ни прикидывался иностранцем, узнают всегда.
- Смешно было бы, если бы кто-нибудь из нас стал утверждать, что Россия сравнялась со своею Западной братиею во всех отраслях, или даже в какой-нибудь отрасли внешнего образования – в искусствах ли, в науке ли, в удобствах или щеголеватости житейских устройств. Поэтому благоговение, с которым Русский проходит всю Европу, – очень понятно.
- Тонкие, невидимые струны, связывающие душу русского человека с его землею и народом, не подлежат рассудочному анализу.
- Принимая все без разбора, добродушно признавая просвещением всякое явление западного мира, всякую новую систему и новый оттенок системы, всякую новую моду и оттенок моды, всякий плод досуга немецких философов и французских портных, всякое изменение в мысли или в быте, мы [Россия] еще не осмелились ни разу вежливо, хоть робко, хоть с полусомнением спросить у Запада: все ли то правда, что он говорит? все ли то прекрасно, что он делает?
- Наша сила внушает зависть; собственное признание в нашем духовном и умственном бессилии лишает нас уважения: вот объяснение всех отзывов Запада о нас.
- Одна только Россия представляет редкое явление великого народа, говорящего языком своей словесности, но говорящего, может быть, лучше своей словесности.
- Не мы (образованное сословие) приносим высшее Русской земле, но высшее (жизненную силу, плод веков истории и цельности народного духа) должны от нее принять.
- Всякое народное просвещение определяется народною личностью, т.е. живую сущностью народной мысли; более же всего определяется она тою верою, которая в нем является пределом его разумения.
- Много ошибок помрачают славу преобразователя России, но ему остается честь пробуждения ее к силе и к сознанию силы. ...Но грустно подумать, что тот, кто так живо и сильно понял смысл государства... не вспомнил в то же время, что там только сила, где любовь, а любовь только там, где личная свобода.
- Странно, что Россия одна имеет как будто бы привилегию пробуждать худшие чувства Европейского сердца.
- Просвещение не есть только свод и собрание положительных знаний: оно глубже и шире такого тесного определения. Истинное просвещение есть разумное просветление всего духовного состава в человеке или народе.

ОТ РЕДАКЦИИ

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

ТЕМАТИКА

Журнал **Новости медико-биологических наук (News of Biomedical Sciences)** публикует результаты экспериментальных клинических и теоретических исследований в областях физиологии и общей патологии; морфологии, нейрохимии; биохимии и эндокринологии; фармакологии и токсикологии; вирусологии, микробиологии и иммунологии; медицинской биологии и медицинской генетики; биофизики, физической медицины и биомедицинских технологий.

Статьи издаются на белорусском, русском и английском языках.

ПРЕДСТАВЛЕНИЕ

Рекомендуемый размер статьи, включая указатель литературы, таблицы, иллюстрации и резюме, – 10–15 страниц «машинописного» текста (кегель 14 пт), распечатанных через два интервала, с полями слева не менее 2,5 см. **Статьи большего размера без предварительного согласования с Редакцией не принимаются.** Рекомендуемое число литературных ссылок для экспериментальной статьи – не более 25, для обзоров и проблемных статей – не более 75. Рекомендуемый размер обзора – 20–25 страниц «машинописного» текста.

Статьи следует представлять **в 2 экземплярах** с обязательным приложением электронной версии, сопроводительных документов от учреждения, где выполнена работа (по одному экземпляру акта экспертизы и направления от учреждения), копии квитанции об индивидуальной подписке автора на журнал «Новости медико-биологических наук» не менее чем на полгода (подписной индекс для индивидуальных подписчиков 01233, для организаций 012332). **При направлении статьи коллективом авторов необходимо подписаться еще одному из соавторов на полгода.**

по адресу:

220072, г. Минск, ул. Академическая, 28, Институт физиологии НАН Беларуси, к. 203. Редакция журнала «Новости медико-биологических наук. News of Biomedical Sciences». Телефон: (375) 17 284-16-30, E-mail: pochta_margo@mail.ru.

Наличие электронной версии (на дискетах 3.5" (компакт-дисках) или по электронной почте) не заменяет представления публикации в виде распечатки текста, рисунков в обычной форме и подписи соавторов статьи.

ОФОРМЛЕНИЕ РАБОТЫ

Материалы должны быть представлены в следующем порядке и оформлены по следующим правилам, без соблюдения которых они рассматриваться не будут. Авторы несут ответственность за точность и достоверность предоставленных выходных и персональных данных, корректность их перевода на английский язык, за достоверность используемых научных материалов, точность цитат, правильность ссылок на них.

Информационный лист

Представленные материалы предваряют информационным листом. На нем указывают название работы, инициалы и фамилии авторов, полное название учреждения, откуда выходит работа.

Информационный лист должен быть подписан всеми авторами. На нем следует указать их адреса, номера телефонов и телефаксов, а также адреса электронной почты (E-mail), фамилии, имена и отчества авторов (полностью), ученые степени и звания. Отдельно следует пометить координаты того автора, с которым редакция сможет при необходимости связаться.

На информационном листе обязательно следует указать рубрику для помещения публикации в журнале.

Основной текст статьи

Начало статьи должно быть оформлено по следующему образцу:

Индекс статьи по Универсальной десятичной классификации (УДК); Авторы; Название; Полные названия учреждений, в которых выполнялось исследование. Если статья написана авторами из разных учреждений, это должно быть отмечено верхними цифровыми индексами. Например:

УДК 612.337

И. И. ИВАНОВ¹, П. П. ПЕТРОВ^{1,2}

СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В МЕДИЦИНЕ

¹ Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь;

² Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Статья должна быть написана лаконично и четко. В рукописи (распечатке) на левом поле карандашом отмечается место, где должен быть помещен рисунок (таблица). Ссылки на литературу в тексте даются в квадратных скобках арабскими цифрами – [1–3, 5]. Формулы указываются в тексте четко, с аккуратным обозначением индексов. Особенно тщательно следует указывать знаки, сходные по начертанию. Ферменты при первом упоминании должны обозначаться полным названием с цифровым индексом согласно Международной классификации ферментов (Комиссия по ферментам IUB). При повторном упоминании может применяться общепринятое тривиальное название. Автор(ы) гарантирует(ют), что эксперименты выполнены в соответствии с Хельсинкской Декларацией о гуманном обращении с животными.

Редакция оставляет за собой право сокращать статьи.

Текст статьи должен содержать рубрики: введение, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение (три последних раздела могут быть выполнены в виде одного – результаты и обсуждение).

Резюме (Summary)

Резюме (на русском и английском языках отдельно), на 0,5 с. «машинописного» текста (не более 250 слов) должно быть выполнено в виде одного абзаца с указанием фамилии и инициалов авторов, заглавия статьи. В конце отдельной строкой следует указать не более шести ключевых слов.

Иллюстрации

К полноформатной статье может быть приложено не более 5 рисунков. Комбинирование в одном рисунке нескольких кадров, требующих изготовления разных клише (тоновые рисунки и графика), не допускается. Размер рисунков должен быть таков, чтобы в сумме они занимали не более 2 журнальных страниц формата А4. Максимальный размер рисунка не должен превышать 16 см (по ширине). Рисунки прикладываются в 2 экземплярах. Рисунки должны быть представлены в виде, исключающем их доработку. Графики должны быть распечатаны на лазерном принтере. На обороте каждого рисунка пишется карандашом фамилии авторов, номер рисунка, указывается верх рисунка, если правильное расположение его в тексте может вызвать затруднение. В подписях должен быть дан заголовок рисунка и расшифрованы буквенные и цифровые обозначения на нем, указана последовательность расположения иллюстративного материала и т.п. Для микрофотографий указывают увеличение, для электронограмм – масштаб. Прочие объяснения должны приводиться в тексте. Подписи к рисункам нужно печатать отдельно от основного текста статьи (на отдельных листах).

В электронной версии рисунки представляются в виде отдельных файлов в формате TIF (для IBM) или в форматах, созданных в пакетах Adobe PhotoShop, CorelDraw, Adobe Illustrator (IBM). Сформированный в Word рисунок необходимо объединить в группу.

Таблицы

Таблицы должны быть отпечатаны через два интервала, иметь порядковые номера (арабские, например: табл. 1). Таблица должна иметь общий заголовок. Все графы без исключения должны иметь заголовки. Сокращения слов (кроме общепринятых) в таблицах не допускаются. Каждая таблица должна быть напечатана отдельно от основного текста статьи (на отдельном листе) и «подложена» после страницы, на которой автор ссылается на эту таблицу. Если в статье всего одна таблица, то в тексте в скобках указывается – (см. таблицу), а на полях указывается место, куда ее следует поместить.

Текст статьи не должен дублировать содержание иллюстративного материала.

Список литературы должен быть оформлен на отдельном листе (листах) бумаги. Список составляется только по работам, цитированным в тексте. Все работы, упомянутые в тексте, должны быть включены в список.

Список литературы составляется в алфавитном порядке.

Библиографические данные оформляются следующим образом:

1. Книга (монография), одностороннее издание:

[1]. *Гурин В.Н.* Центральные механизмы терморегуляции. Мн.: Беларусь, 1980. 127 с.

2. Статья из книги:

[2]. *Властов Б.В., Матекин П.В.* Жизнь животных. М., 1988. Т. 2. С. 20–64.

[3]. *Moroz L.L.* Signal molecules and behaviour. Eds. W. Winlow, O.S. Vinogradova, D.A. Sakharov. Manchester: Manchester University Press, 1991. P. 101–123.

3. Статья из журнала:

[4]. *Katz B., Miledi R.* The effect of temperature on the synaptic delay at the neuromuscular junction // *J. Physiol.* 1965. Vol. 181. P. 656–670.

Номер журнала (через запятую после номера тома) необходимо указывать, только если нумерация страниц начинается в каждом номере.

4. Автореферат диссертации:

[5]. *Васим Т.В.* Транспорт нейротрансмиттеров в анизоосмотических условиях пресинаптическими нервными окончаниями мозга: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Мн.: Ин-т биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, 2009. 23 с.

5. Тезисы доклада:

[6]. *Стукач Ю.П., Досина М.О., Тимошенко А.Х. и др.* // Интенсивность продукции монооксида азота в миокарде крыс после моделирования геморрагического и ишемического инсульта // сб. VI Всероссийской с международным участием школы-конференции. Москва. 2016. С.149-150.

За правильность и полноту представления библиографических данных редакция ответственности не несет.

Если по формальным признакам список составлен небрежно, статья возвращается для доработки.

ВСЕ ПРЕДСТАВЛЯЕМЫЕ НАУЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ПОДВЕРГАЮТСЯ ОБЯЗАТЕЛЬНОМУ РЕЦЕНЗИРОВАНИЮ

Доработка

Для доработки в соответствии с замечаниями рецензента статья возвращается автору на срок не более трех месяцев. После доработки автор должен вернуть в редакцию и старый и доработанный варианты статьи. После доработки статья направляется на повторное рецензирование. Если через три месяца автор не возвратил доработанную статью, она исключается из редакционного портфеля.

Корректур

Корректурa высылается автору в случае необходимости для исправления опечаток или искажений первоначального текста. Никакие изменения и дополнения не допускаются и в текст вносятся не будут. Корректурa, тщательно выверенная и подписанная автором, должна быть возвращена в редакцию не позднее двух суток со дня ее получения.

ЗА СОДЕРЖАНИЕ МАТЕРИАЛОВ РЕКЛАМНОГО ХАРАКТЕРА РЕДАКЦИЯ ЖУРНАЛА ОТВЕТСТВЕННОСТИ НЕ НЕСЕТ

Другие информационные материалы по журналу **Новости медико-биологических наук (News of Biomedical Sciences)** могут быть получены в редакции по указанному адресу.

От редакции

НОВОСТИ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК 2022, Т. 22, № 2

Набор и верстка *Досина М.О.*
Дизайн обложки *Саркисов С. В.*

Подписано в печать с готового оригинал-макета заказчика 03.03.2013. Формат 60×84 ¹/₈. Бумага офсетная.
Печать цифровая. Усл. печ. л. 10,7. Уч. изд. л. 11,17. тираж 100 экз. заказ 56

Государственное научное учреждение «Институт физиологии НАН Беларуси».
ЛИ №02330/0494405 от 16.03.2009. Ул. Академическая, 28. 220072, г. Минск.

Республиканское унитарное предприятие «Издательский дом «Беларуская навука»».
ЛИ №02330/0494405 от 27.03.2009. Ул. Ф. Скорины, 40. 220141, г. Минск.