

ВОЕННО-МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ им. С. М. КИРОВА

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНСКОЙ ПАРАЗИТОЛОГИИ

*Сборник материалов XLVIII межвузовской студенческой конференции,
посвященной 137-летию со дня рождения академика Е. Н. Павловского*



Санкт-Петербург
2021

УДК 573.6 + 573.7
ББК 28.08
А43

Редакционная коллегия:

Д.б.н. профессор *В. Ю. Кравцов*
Д.м.н. профессор *А. И. Соловьев*
К.м.н. доцент *Ю. Ф. Захаркив*
К.б.н. доцент *Е. Я. Адоева*
К.б.н. доцент *Е. А. Казакова*
К.б.н. *Н. И. Петруняк*
А. А. Ливанова
А. И. Ракин
К. Г. Стрельцова

Ответственный редактор

А. А. Ливанова

А43 Актуальные проблемы биологии и медицинской паразитологии: сборник материалов XLVIII межвузовской студенческой конференции, посвященной 137-летию со дня рождения академика Е. Н. Павловского, Санкт-Петербург, 16 марта 2021 г. / Отв. ред. А. А. Ливанова. — СПб.: Скифия-принт, 2021. — 78 с.

ISBN 978-5-98620-505-2

В сборнике представлены материалы докладов участников студенческой конференции из ВУЗов и научно-исследовательских институтов Санкт-Петербурга, посвященные разнообразным актуальным биологическим и медицинским проблемам. Материалы предназначены для студентов, интернов, ординаторов, аспирантов, магистрантов, преподавателей и научных сотрудников вузов, специалистов смежных отраслей науки, а также для широкого круга заинтересованных читателей.

ISBN 978-5-98620-505-2

© Авторы статей, 2021

СОДЕРЖАНИЕ

К 100-летию со дня смерти профессора Н. А. Холодковского <i>Ерзиков Д. Д., Осташевский Я. В.</i> БИБЛИОГРАФИЧЕСКОЕ И ДОКУМЕНТАЛЬНОЕ НАСЛЕДИЕ Н. А. ХОЛОДКОВСКОГО, КАК ОСНОВАНИЕ НАУЧНОЙ КОНЦЕПЦИИ ЭКСПОЗИЦИИ «КАБИНЕТ ПРОФЕССОРА Н. А. ХОЛОДКОВСКОГО»	5
<i>Адоева Е. Я., Мусихина П. А., Фещенко О. А.</i> СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВОСТРЕБОВАННОСТИ КАЧЕСТВ ПРЕПОДАВАТЕЛЯ МЕДИЦИНСКОГО ВУЗА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА РЕСПОНДЕНТОВ	10
<i>Арюков А. Р., Кузнецов К. С.</i> СЕЗОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ГЕНОМА <i>PLASMODIUM FALCIPARUM</i> У БОЛЬНЫХ ЗАВОЗНОЙ ТРОПИЧЕСКОЙ МАЛЯРИИ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ	18
<i>Баранова А. Н., Ильичев И. В.</i> ДЕСКВАМИРОВАННЫЕ ЭНДОТЕЛИОЦИТЫ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С SARS-COV-2 НЕ ОБНАРУЖЕНЫ	22
<i>Богачева Т. А., Усманова Р. Р.</i> ИЗУЧЕНИЕ ОКРАСКИ ОТРОСТКОВ СПОРОЦИСТ ТРЕМАТОД ВИДА <i>LEUCOCHLORIDIUM PARADOXUM</i> (ТРЕМАТОДА: LEUCOCHLORIDIIDAE)	26
<i>Габриель П. В.</i> СОЗДАНИЕ ИНФОРМАЦИОННОЙ БАЗЫ ДЛЯ РЕТРОСПЕКТИВНОГО МЕТААНАЛИЗА ИНТЕРФЕРЕНЦИИ КОРОНАВИРУСОВ В ЗООСФЕРЕ	30
<i>Гладышев Н. С.</i> ЛЕТНЕЕ СНИЖЕНИЕ АКТИВНОСТИ БАЦИЛЛЯРНО-КОККОИДНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ <i>HELICOBACTER PYLORI</i> В АНТРАЛЬНОМ ОТДЕЛЕ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА	32
<i>Курбанова А. А.</i> ИЗУЧЕНИЕ БИОГЕОГРАФИИ РАСОВЫХ ПРИЗНАКОВ У ЛЮДЕЙ ПОВОЛЖЬЯ С УЧЕТОМ ИХ ПРОЯВЛЕНИЯ У УЧАЩИХСЯ ЛИЦЕЯ № 19 Г. ТОЛЬЯТТИ	37
<i>Луценко А. Б.</i> ВЛИЯНИЕ ПИЩЕВЫХ ДОБАВОК НА ОСНОВЕ АНТОЦИАНОВ НА РЕГЕНЕРАТИВНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ СПОСОБНОСТИ МОДЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ	40
<i>Поспелова А. А.</i> ДИНАМИКА СООТНОШЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ АЭРОБНОЙ ПРОИЗВОДИТЕЛЬНОСТИ И АНАЭРОБНОЙ МОЩНОСТИ У КУРСАНТОВ ВОЕННО-МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИИ ЗА ДВА ГОДА	45

<i>Привалов М. П.</i> РАДИОПРОТЕКТОРЫ И РАДИОСЕНСИБИЛИЗАТОРЫ — ХИМИЧЕСКИЕ АГЕНТЫ, МОДУЛИРУЮЩИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КЛЕТОК К ИОНИЗИРУЮЩЕМУ ОБЛУЧЕНИЮ	48
<i>Соломатин Л. О.</i> БЕТАЛАИНОВЫЕ ПИГМЕНТЫ КОРНЕПЛОДОВ СВЕКЛЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (<i>BETA VULGARIS L.</i>) КАК БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА	52
<i>Усманова Р. Р., Лопатина О. Д., Кашинцева С. С.</i> ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ТРЕМАТОД <i>LEUCOCHLORIDIUM</i> <i>PARADOXUM</i> (ТРЕМАТОДА: <i>LEUCOCHLORIDIIDAE</i>) ПО ДАННЫМ АНАЛИЗА УЧАСТКА МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНА <i>COI</i>	57
<i>Фатыйхов И. Р., Бекусова В. В., Зудова Т. И., Марков А. Г.</i> СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СЕГМЕНТОВ ПРОКСИМАЛЬНОГО И ДИСТАЛЬНОГО ОТДЕЛОВ ТОЛСТОЙ КИШКИ КРЫСЫ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛЕЙ АЛЬФА, ИНТЕРЛЕЙКИНА 6 И ИНТЕРЛЕЙКИНА 10	60
<i>Филиппов Я. С., Капацына В. А., Кузнецов К. С., Соловьева П. А.</i> СЕЗОННЫЕ ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ ЗАВОЗНОЙ ТРОПИЧЕСКОЙ МАЛЯРИИ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ	63
<i>Щербина Ю. А.</i> КРИПТОСПОРИДИОЗ ТЕЛЯТ В ФЕРМЕРСКИХ ХОЗЯЙСТВАХ ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ	68
<i>Янишевская К. И., Ракин А. И., Гудков Р. В.,</i> ИДЕНТИФИКАЦИЯ КОМАРОВ <i>ANOPHELES GAMBIAE COMPLEX</i> МЕТОДОМ ПЦР	71

К 100-ЛЕТИЮ СО ДНЯ СМЕРТИ ПРОФЕССОРА Н. А. ХОЛОДКОВСКОГО

БИБЛИОГРАФИЧЕСКОЕ И ДОКУМЕНТАЛЬНОЕ НАСЛЕДИЕ Н. А. ХОЛОДКОВСКОГО КАК ОСНОВАНИЕ НАУЧНОЙ КОНЦЕПЦИИ ЭКСПОЗИЦИИ «КАБИНЕТ ПРОФЕССОРА Н. А. ХОЛОДКОВСКОГО»

Ерзиков Д. Д.¹, Осташевский Я. В.²

¹ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» МО РФ,
Санкт-Петербург, Россия.

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный институт культуры»,
Санкт-Петербург, Россия.

Научный руководитель — д.б.н., профессор, заведующий кафедрой биологии ВМедА
В. Ю. Кравцов

Аннотация: В настоящей работе авторами была предпринята попытка научного обоснования создания мемориальной экспозиции «Кабинет профессора Н. А. Холодковского», а также систематизации и научного исследования библиографического и документального наследия Николая Александровича Холодковского. Проводимая авторами работа на базе музея и архива кафедры решают проблемы не только установления авторства и владения предметами, но и отсутствия системности в их хранении, экспонировании и научного изучения. Основными методами работы с материалами являются: изучение трудов Н. А. Холодковского, их описание и анализ, а также изучение и анализ материалов по его биографии и истории кафедры биологии имени академика Е. Н. Павловского Военно-медицинской академии имени С. М. Кирова. В результате проводимой работы выявляются исторические прецеденты существования, а также научно-педагогическая значимость музея кафедры. Неоспоримая значимость научной и педагогической деятельности Н. А. Холодковского в мировой и отечественной науке даёт обоснование созданию экспозиции в память о выдающемся учёном на его родной кафедре. В результате данных исследований появится оформленная научная концепция экспозиции «Кабинет профессора Н. А. Холодковского». Другим важным достижением исследования станет создание мемориальной экспозиции, которая окажет влияние на научную и педагогическую деятельность кафедры биологии имени академика Е. Н. Павловского в системе образования курсантов и студентов Военно-медицинской академии имени С. М. Кирова.

Ключевые слова: библиография, Николай Александрович Холодковский, мемориал, биология, зоология, сравнительная анатомия, гельминтология, зоологический кабинет, экспозиция, музеология.

BIBLIOGRAPHICAL AND DOCUMENTAL HERITAGE OF N. A. KHOLODKOVSKY AS THE BASIS OF THE SCIENTIFIC CONCEPT OF THE EXPOSITION «OFFICE OF PROFESSOR N. A. KHOLODKOVSKY»

Erzikov D.D.¹, Ostashevsky Ya.V.²

¹S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia.

² Saint Petersburg State Institute of Culture, Saint Petersburg, Russia.

Abstract. In this paper, the authors attempted to scientifically substantiate the creation of the memorial exhibition "The Office of Professor N. A. Kholodkovsky", as well as systematization and scientific research of the bibliographic and documentary heritage of Nikolai Alexandrovich Kholodkovsky. The work was carried out by the authors on the basis of the museum and the archive of the department. It solves the problems of not only establishing authorship and ownership of objects, but also the lack of consistency in their storage, display and scientific study. The main methods of working with materials are: the study of the works of N. A. Kholodkovsky, their description and analysis, as well as the study and analysis of materials on his biography and history of the Department of Biology named after Academician E. N. Pavlovsky of S. M. Kirov Military Medical Academy. As a result of the work carried out, the historical precedents of the existence, as well as the scientific and pedagogical

significance of the museum of the department are revealed. The indisputable significance of N. A. Kholodkovsky's scientific and pedagogical activity in the world and Russian science justifies the creation of an exhibition in memory of the outstanding scientist at his native department. As a result of these studies, the scientific concept of the exhibition "The Office of Professor N. A. Kholodkovsky" will be formed, which in turn will influence the process of solving the problems considered in this work. Another important achievement of the research will be the creation of a memorial exhibition that will influence the scientific and pedagogical activities of the Department of Biology named after Academician E. N. Pavlovsky in the education system of cadets and students of the Military Medical Academy named after S. M. Kirov.

Key words: bibliography, Nikolai Aleksandrovich Kholodkovsky, memorial, biology, zoology, comparative anatomy, helminthology, zoological cabinet, exposition, museology.

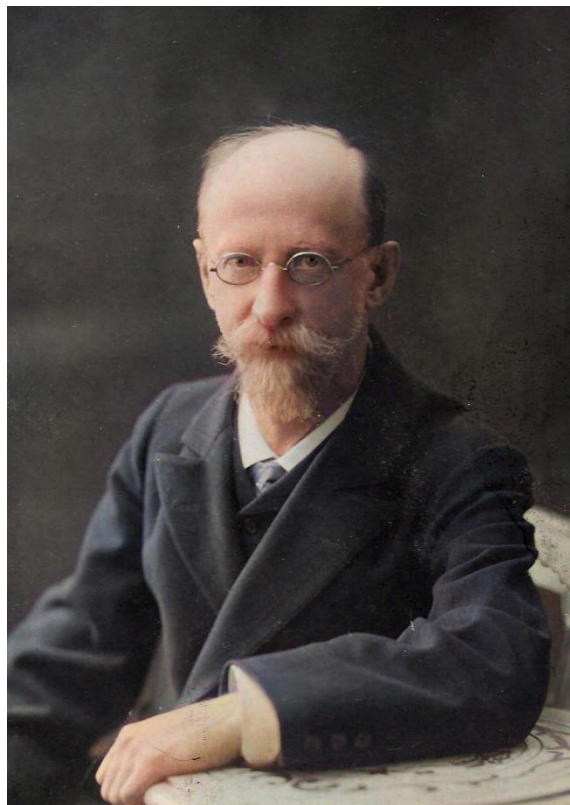
Николай Александрович Холодковский — выдающийся русский учёный-энтомолог, профессор кафедры зоологии и сравнительной анатомии Императорской Военно-медицинской академии, член-корреспондент Императорской Санкт-Петербургской академии наук, заслуженный профессор и академик Императорской Военно-медицинской академии, основоположник отечественной лесной энтомологии. Его научные работы, учебники по зоологии и статьи, в особенности *«Животные паразиты человека»* являлись первыми работами по медицинской паразитологии в России.

Н. А. Холодковский родился 19 февраля (3 марта по новому стилю) 1858 года в Иркутске, в семье военного врача. В 1860 году семья Холодковских переезжает в Санкт-Петербург и обосновывается на улице Ломоносова (ранее Чернышёв переулок). В связи с отсутствием зелёных насаждений в черте города, посещение сада Коммерческого училища и наблюдение за насекомыми во дворе своего дома, развила большой интерес к животному миру природы, а подаренная книга *«Собиратель насекомых»* окончательно предопределила дальнейшую научную судьбу ещё юного Николая [1].

С 1867 г. по 1875 г. Николай Александрович обучался в Петербургской 1-ой гимназии. По окончании гимназии поступил в Медико-хирургическую академию (ныне Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова). С момента поступления в академию, впервые по-настоящему живой интерес проявился у него на 2 курсе на лекциях по зоологии и сравнительной анатомии, которые читал профессор Эдуард Карлович Брандт.

В 1880 году окончил Медико-хирургическую академию в качестве лекаря. Через несколько месяцев после окончания академии сдал экзамены на степень кандидата естественных наук в Санкт-Петербургском университете. В 1881 году был принят на должность ассистента кафедры зоологии и сравнительной анатомии Медико-хирургической академии по рекомендации профессора Э. К. Брандта. С 80-годов XIX столетия началась публикация научных трудов в иностранных и отечественных журналах.

В 1885 году из-за внутренних разногласий на кафедре, Николай Александрович был вынужден покинуть стены *Alma mater*, однако осенью того же года его избрали доцентом курса зоологии лесного института. В 1886 году успешно защитил диссертацию на тему *«Мужской половой аппарат чешуекрылых»* на степень магистра зоологии и сравнительной анатомии.



Н. А. Холодковский

Преподавательская деятельность не была ограничена только лишь Военно-медицинской академией и лесным институтом. Так в 1886–1887 учебном году им был прочтён цикл лекций по зоологии позвоночных на Высших женских курсах, а в 1888–1889 учебном году — он читал курсы «О воздуходышащих суставчатых животных», «Введение в зоологию», «Сравнительная эмбриология» на должности приват-доцента в Санкт-Петербургском университете.

Докторская диссертация на тему «Эмбриональное развитие прусака (*Phyllodromia germanica*)» была блестяще защищена Николаем Александровичем Холодковским на базе физико-математического факультета Санкт-Петербургского университета 1 декабря 1891 года.

После кончины профессора, заведующего кафедрой зоологии и сравнительной анатомии Военно-медицинской академии Э. К. Брандта в 1891 году Н. А. Холодковский занимает место почившего учителя. В августе следующего года назначен на должность профессора Военно-медицинской академии.

Холодковский Н. А. ввёл понятие биологического вида в зоологии в статье 1910 года, опубликованной в Известиях Императорской Санкт-Петербургской Академии Наук.

После продолжительной и тяжёлой болезни, Николай Александрович Холодковский умер 2 апреля 1921 года в возрасте 64 лет.

Целью данного исследования является изучение библиографического и документального наследия Н. А. Холодковского, фондов научных коллекций, личных вещей Н. А. Холодковского, которые являются основой мемориальной экспозиции «Кабинет профессора Н. А. Холодковского», создаваемой на кафедре биологии имени академика Е. Н. Павловского Военно-медицинской академии имени С. М. Кирова к 100-летию со дня смерти Н. А. Холодковского.

Создание музейной экспозиции ведётся на основании изученных библиографических и документальных материалов Н. А. Холодковского, материалах посвящённых и написанных Н. А. Холодковским и о нём, а также на основании материалах об истории кафедры разных авторов.

Основным методом исследования является изучение библиографических, документальных и предметных источников, а также описание, анализ и систематизация предметов коллекций и фондов кафедры связанных с именем профессора Н. А. Холодковского.

Первый выпуск книги «Объяснительный каталог коллекции паразитных червей зоологического кабинета Императорской военно-медицинской академии в 2-х выпусках» написан Н. А. Холодковским в 1912 году и издан в Санкт-Петербурге издательством «Книгопечатня Шмидт». Книга представляет собой описание находящихся в коллекции зоологического кабинета (музея) кафедры зоологии и сравнительной анатомии спиртовых и микроскопических препаратов гельминтов и посвящена Цепням (*Cyclophyllidea*), напечатана на 96 страницах с приложением иллюстраций.

Основная часть книги представлена разделами с таблицами определения семейств, подсемейств и родов, их характеристикой, данной Н. А. Холодковским из коллекций музея, а также каталогом данной коллекции. Далее представлено приложение с иллюстрациями некоторых представителей гельминтов, а затем дано подробное описание данных иллюстраций. Во введении Н. А. Холодковский указывает на «значительную ценность» [3] коллекции, в частности не только научную, но и педагогическую. Начало данной коллекции было положено Э. И. Эйхвальдом в середине XIX столетия, затем основная масса коллекции, а именно 1050 спиртовых и 1008 микроскопических препаратов, на 1911 год [3] была собрана Н. А. Холодковским, который не только внёс огромный вклад в формирование коллекции как учёный и руководитель, но и тщательно инвентаризировал её.

Второй выпуск написан Н. А. Холодковским совместно с Н. Н. Костылевым в 1916 году в Санкт-Петербурге и издан типографией М. Меркушева. В данном выпуске,

состоящем из 2-х частей и посвященном ленточным червям, имеются рисунки с детальным описанием и приложением иллюстраций. В первой части рассматриваются Лентецы (*Pseudophyllidea*) и одиночные ленточные глисты (*Cestodaria*), во второй части рассматриваются Скребни (*Acanthocephali*). Основной объем выпуска занимают таблицы для определения семейств, подсемейств и родов, характеристики семейств, подсемейств и родов, с перечислением видов, имеющих в коллекции кафедры. Представлено описание жизненных циклов червей, а также уделено огромное внимание их морфологии.

В результате научной деятельности профессора Холодковского в гельминтологическую коллекцию музея поступали всё новые и новые препараты, в частности препараты отряда лентецов, группы одиноких ленточных глистов, а также, благодаря работе Н. Н. Костылева, коллекция обогатилась препаратами класса скребней. Именно коллекция музея, взявшая своё начало из трудов Э. И. Эйхвальда, собиравшаяся многими учёными кафедры и заметно расширенная Н. А. Холодковским, и позволила ему выполнить работу по научной систематизации гельминтов, с последующей публикаций результатов своей многолетней научной деятельности.

Книга «Очерк истории кафедры зоологии и сравнительной анатомии Императорской Военно-медицинской академии (1808–1897)» написана профессором Н. А. Холодковским в 1897 году и издана в Санкт-Петербурге в военной типографии главного штаба. В ней содержатся хронологические описания этапов развития кафедры зоологии и сравнительной анатомии Императорской Военно-медицинской академии. Освещаются такие темы как: хронологический обзор личного состава кафедры, история музея кафедры, биографии учёных и преподавателей, а также деятельность профессоров и их помощников. Книга состоит из 33 страниц и 4 разделов, снабжена иллюстрациями, содержащими портреты некоторых профессоров, работавших на кафедре. Язык книги русский, дореформенный.

Особый интерес представляет раздел 2, в котором детально освещается история музея кафедры — зоологического кабинета. Доподлинно неизвестно, кем и когда было положено начало формирования коллекции, однако Н. А. Холодковский утверждает, что не ранее 1808 года [2], в связи с тем, что до этого года в академии не преподавалась зоология. В период между 1809 и 1843 гг. в собрание музея поступали многочисленные экземпляры из частных и специально приобретаемых коллекций. Так, например, в 1843 году академией была выкуплена коллекция профессора Э. И. Эйхвальда, состоявшая из более чем двух тысяч предметов.

В 1851 году была предпринята попытка инвентаризации коллекции музея, однако, в связи с несоответствием этикеток экспонатов с данными в учётных книгах, отсутствием необходимых инвентаризационных документов и физическим отсутствием экспонатов, по-видимому, инвентаризация не была завершена. Тем не менее, в 1859 году, после реконструкции, проведённой Ф. Ф. Брандтом, музей был открыт для студентов и получил название «Образцовый кабинет зоологии, минералогии и ботаники». Примерно в 1880 году Н. А. Холодковскому представилась возможность сопровождать профессора и своего учителя Э. К. Брандта в Сен-Ва-Ла-Уг в Нормандии, где собирали и анатомировали морских животных и готовили препараты для музея кафедры [1].

В 1892 году кафедру возглавил профессор Н. А. Холодковский, чья сфера научных интересов определила его работу, в первую очередь, над преумножением гельминтологических, зоологических и сравнительно-анатомических коллекций музея, которые он, в том числе, создавал лично, ещё в годы студенчества. Необходимо отметить, что Николай Александрович придавал большое значение роли музея, рассматривая две его основные функции: педагогическую и научно-исследовательскую.

Вследствие проделанной работы профессору Холодковскому удалось значительно расширить собрание музея, как путём покупки или обмена, так и создания новых оригинальных экспонатов. Немало важен и переосмысленный в тот период способ экспонирования и перемещения экспонатов музея. Так, часть из немногочисленной коллекции зоологических препаратов в спирте пришла в негодность, вследствие постоянного

перемещения из музея в учебные кабинеты для демонстрации на занятиях перед студентами. В связи с этим было принято решение об особом хранении наиболее ценных предметов в фондах музея без возможности их перемещения, что в большей степени усилило роль музея в образовательном процессе кафедры. Необходимо отметить, что на 1892 год гельминтологическая коллекция кафедры включала 62 спиртовых препарата, однако, при активном участии профессора Н. А. Холодковского, уже к 1911 году общая численность спиртовых препаратов превысила тысячу экземпляров [2]. Немаловажен и тот факт, что профессором Н. А. Холодковским в 1897 году, впервые с момента возникновения коллекции музея, была проведена масштабная работа по систематизации и инвентаризации фонда музея. Н. А. Холодковский не только заметно расширил научную и педагогическую деятельность возглавляемой им кафедры, но и сделал ее доступной для всех заинтересованных наукой. Среди его студентов, которые работали в лаборатории под руководством Николая Александровича был и Евгений Никанорович Павловский. Е. Н. Павловский приобщился к работе с первых дней своей студенческой жизни — с осени 1903 года. Его первые научные работы были связаны с анатомией вши человека, что в дальнейшем определило не только всю его дальнейшую научную деятельность, но и определило судьбу. Именно Евгений Никанорович, после смерти своего учителя — Н. А. Холодковского, в 1921 году возглавил кафедру.

В период руководства Евгения Никаноровича Павловского кафедра получает новое, большое помещение, что даёт возможность реорганизации музея. В этот период на кафедре работали столяры и художники, была изготовлена мебель для оформления музея — витрины и стенды, нарисованы иллюстративные материалы и портреты. Большой объём экспонатов музея был создан самим Е. Н. Павловским, а также за счет постоянного поступления из различных экспедиций и в результате научной деятельности кафедры. Как и его учитель, Е. Н. Павловский разделял мнение о важности музея, представляющего большую педагогическую и научную значимость — «Музей это не только учебная, но и научная база для сотрудников кафедры...» [5].

В фондах кафедры биологии Военно-медицинской академии имени С. М. Кирова находится внушительный объём библиографии Н. А. Холодковского, личной научной библиотеки, собираемой на протяжении всей жизни, а также некоторые личные предметы. Так, наибольший интерес представляет библиографическое и документальное наследие профессора. В фондах коллекции хранятся прижизненные издания научных трудов профессора Н. А. Холодковского разных лет, изданных на различных языках, во многих городах мира; многочисленные личные документы и заметки, в том числе документы его приемника и ученика Е. Н. Павловского, который с большим почтением работал над библиографическими материалами, посвященными своему учителю. Большое значение имеет фонд личной коллекции научной литературы, собираемой Н. А. Холодковским на протяжении жизни, насчитывающей более двух сотен экземпляров; часть из них снабжена особым суперэксlibрисом — «Н.Х.». В коллекцию включены научные заметки, обращения по хозяйственным вопросам внутри академии, учётные документы и письма, передаваемые в дар книги и статьи, рукописи переводов мировой литературы, а также иконография, представленная фотографиями и фотокарточками, некоторые из которых колоризированы в результате настоящего исследования.

В собрании имеются и личные предметы: набор шахмат, в которые играл Николай Александрович (по свидетельствам биографов, он был их большим любителем), книжный шкаф, шкаф для микроскопических препаратов. Одним из важнейших документальных памятников является завещание Н. А. Холодковского, составленное 23 января 1921 года, незадолго до его смерти. Кроме того, в музее кафедры находится коллекция зоологических препаратов, созданных самим Николаем Александровичем, и фрагменты коллекции насекомых, над созданием которой он работал на протяжении всей профессиональной жизни.

В результате исследования библиографического, документального и вещественного наследия Николая Александровича Холодковского были выявлены проблемы

принадлежности, хранения и экспонирования предметов фондов музея. Были начаты работы по исследованию наследия Н. А. Холодковского, находящихся в фондах музея кафедры. Изучаются и описываются предметы научной деятельности профессора. По результатам исследования авторами оформляется научная концепция экспозиции «Кабинет профессора Н. А. Холодковского». Другим важным достижением исследования станет создание мемориальной экспозиции, которая окажет влияние на научную и педагогическую деятельность кафедры биологии имени академика Е. Н. Павловского в системе образования курсантов и студентов Военно-медицинской академии имени С. М. Кирова.

Список литературы

1. Смирнов О. В. Николай Александрович Холодковский (1858–1921) / О. В. Смирнов. — М.: Изд-во Наука, 1981. — 127 с.
2. Холодковский Н. А. Очерк истории кафедры зоологии и сравнительной анатомии Императорской военно-медицинской академии (1808–1897) / Н. А. Холодковский. — СПб.: Военная типография главного штаба, 1897. — 33 с.
3. Холодковский Н. А. Объяснительный каталог Коллекции паразитарных червей Зоологического кабинета Императорской военно-медицинской академии. Выпуск I / Н. А. Холодковский. — СПб.: Книгопечатня Шмидт, 1912. — 96 с.
4. Холодковский Н. А. Объяснительный каталог Коллекции паразитарных червей Зоологического кабинета Императорской военно-медицинской академии. Выпуск II / Н. А. Холодковский, Н. Н. Костылев — СПб.: Типография М. Меркушева, 1916. — 79 с.
5. Шустов А. К. Исторический очерк кафедры биологии и паразитологии им. академика Е. Н. Павловского (1808–1979) / А. К. Шустов. — СПб.: Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, 1979. — 20 с.
6. Скрипко О. К. Александр Александрович Холодковский — Инженер Алтайского горного округа / О. К. Скрипко // Страницы истории — 2 с.
7. Шустов А. К. Из истории паразитологии Николай Александрович Холодковский (к 125-летию со дня рождения) / А. К. Шустов, В. П. Щербина // Паразитология, XVII — 1983. — № 4. — 322–324 с.
8. Ганелин Р. Ш. Холодковский Николай Александрович [Электронный ресурс]. URL: <https://bioslovhist.spbu.ru/person/132-kholodkovskiy-nikolay-aleksandrovich.html> (дата последнего обращения: 20.02.2021 г.).

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВОСТРЕБОВАННОСТИ КАЧЕСТВ ПРЕПОДАВАТЕЛЯ МЕДИЦИНСКОГО ВУЗА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА РЕСПОНДЕНТОВ

Адоева Е. Я., Мусихина П. А., Феценко О. А.

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» МО РФ,

Санкт-Петербург, Россия

Научный руководитель — к.б.н., доцент Е. Я. Адоева

Резюме. В процессе формирования личности ученика огромную роль играет личность воспитателя, педагога. Особая важность роли личности преподавателя возникает, когда речь идёт о воспитании будущего врача. В статье рассматриваются результаты анкетирования, посвящённого основным требованиям к личности преподавателя медицинского вуза. Опрос проходил в среде студентов 1 и 2 курсов медицинских вузов, а также среди преподавателей медицинских вузов и практикующих врачей. Испытуемым было предложено количественно оценить значимость для преподавателя медицинского вуза 20 качеств личности морально-нравственного и профессионального характера. На основании полученных анкетных данных сделаны выводы о степени значимости различных качеств личности преподавателя медицинского вуза для обучающихся и самих педагогов. По некоторым из полученных оценок проведён их сравнительный анализ в зависимости от возраста респондентов. Наибольшее количество баллов во всех группах набрали качества профессионального плана. Морально-нравственные качества личности преподавателя, в частности — патриотизм, высокий

культурный уровень — были оценены во всех группах респондентов значительно ниже. Такие свойства личности преподавателя медицинского вуза, как приверженность здоровому образу жизни, толерантное отношение к людям, восприняты респондентами всех групп крайне неоднозначно и также не получили достаточно высоких оценок. Результаты исследования указывают на значительную неценность среди представителей медицинского сообщества качеств личности педагога морально-нравственного характера. Это в очередной раз подтверждает важность предпринимаемых в обществе мер по улучшению духовно-нравственного воспитания молодёжи и указывает на необходимость уделять значительно большее, чем в настоящее время, внимание этому вопросу в процессе подготовки врачей.

Ключевые слова: морально-нравственные качества, профессиональные качества, личность, воспитание, преподаватель медицинского вуза, студент медицинского вуза, патриотизм.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE QUALITY REQUIREMENTS OF A MEDICAL UNIVERSITY TEACHER DEPENDING ON THE AGE OF RESPONDENTS

Adoeva E.Ya., Musikhina P.A., Feshchenko O. A.

S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint-Petersburg, Russia

Abstract. In the process of personality forming of the educated person, the educator and teacher plays a crucial role. The special importance of the role of the teacher's personality arises when it comes to the upbringing of the future doctor. The article examines the results of a questionnaire on the basic requirements for the personality of a medical school teacher. The survey was conducted among 1 and 2 year students of medical school, as well as among teachers of medical schools and medical practitioners. The subjects were asked to quantitatively assess the significance of 20 personality traits of a moral, ethical and professional nature for a medical university teacher. On the basis of the obtained personal data, conclusions were drawn about the degree of significance of various personality qualities of a medical school teacher for students and the teachers themselves. For some of the estimates obtained, a comparative analysis was carried out depending on the age of the respondents. The highest number of points in all groups was gained by the professional features. The moral and ethical qualities of the teacher's personality, in particular — patriotism, high cultural level — were significantly lower in all groups of respondents. Such personality traits of a teacher of a medical university, such as adherence to a healthy lifestyle, a tolerant attitude towards people, were perceived by the respondents of all groups extremely ambiguously and also did not receive sufficiently high marks. The results of the study indicate a significant underestimation among the medical community of the personal teacher's qualities of a moral and ethical nature. This once again confirms the importance of measures taken in society to improve the spiritual and moral education of youth and indicates the need to pay much more attention than at present to this issue in the process of training doctors.

Key words: moral quality, professional skills, personality, education, teacher of medical school, medical students, patriotism.

Известные политические и экономические изменения, происходившие в нашей стране, привели к явлениям кризиса процесса духовно-нравственного воспитания. Изменившаяся социальная ситуация требует от общества и государства уделения особого внимания процессу духовно-нравственного воспитания молодёжи [2, 8].

21 мая 2020 года Президент РФ Владимир Путин внёс в Государственную Думу поправки в Закон «Об образовании в Российской Федерации» по вопросам воспитания обучающихся. Законопроект предлагает механизм организации воспитательной работы, входящей в состав образовательных программ. Смысл предлагаемых поправок в том, чтобы укрепить воспитательную составляющую отечественной образовательной системы. В Стратегии развития молодёжи Российской Федерации на период до 2025 года указывается, что ее главным приоритетом является «развитие интеллектуального, духовного потенциала общества и его морального состояния, сохранение и развитие духовно-нравственных и традиционных семейных ценностей» [7].

Реализация гуманитарного и профессионального подходов в профессиональном образовании в последние годы осуществляется на нормативно-правовом уровне, что

отражено в содержании ФГОС ВО третьего поколения. Так, в новой редакции ФГОС ВО по специальности лечебное дело, утверждённой 20.08.2020 г., первой общепрофессиональной компетенцией (ОПК) устанавливается способность реализовывать моральные и правовые, социальные нормы, этические и деонтологические принципы в профессиональной деятельности [9].

В процессе усвоения будущим врачом этих норм и принципов огромную роль играет личность воспитателя, педагога [5]. Учитывая то, что нравственное воспитание в настоящее время трактуется неразрывно с воспитанием профессиональным и должно проводиться не только в узкопрофессиональной, медицинской сфере, ответственность за формирования адекватной личности молодого врача ложится на преподавателей всех специальностей и дисциплин, осваиваемых в медицинских вузах [4, 6].

Цель исследования. В работе мы предприняли попытку составить определённый рейтинг ожиданий и требований, предъявляемых к современному преподавателю медицинского вуза студентами, преподавателями и уже состоявшимися врачами разного возраста, оценить эти ожидания, а также сравнить степень востребованности в исследуемых возрастных стратах качеств морально-нравственного и профессионального плана.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 5 групп респондентов, стратифицированных по возрастному признаку. Молодёжная группа была представлена студентами 1 и 2 курсов медицинских вузов. Группы лиц 25–35 лет, 36–50 лет, 51–60 лет и группа лиц старше 60 лет состояли из преподавателей медицинских вузов и врачей. Анкетирование студентов только начальных курсов вуза преследовало цель выявить и предъявить к сравнению именно ожидания, а не устоявшиеся мнения респондентов [1].

Исследование проводилось в виде анонимного дистанционного анкетирования средствами сервиса Google Forms. Испытуемым было предложено дать субъективную оценку востребованности ряда профессиональных и морально-нравственных качеств педагога медицинского вуза, выстроив своего рода рейтинговую шкалу. По каждому из предлагаемых качеств респондентам было предложено выставить независимую балльную оценку от 1 (минимально) до 10 (максимально) баллов. Всего к оценке было предложено 20 позиций (табл. 1). В данной таблице вопросы 2, 4, 9, 13 и 19 можно отнести к понятиям духовно-нравственного плана, вопросы 6, 8, 11, 12 и 15 в большей или меньшей степени содержали в себе оба вида качеств, остальные 10 позиций можно отнести к качествам чисто профессиональным.

После проведения анкетирования вычислялся средневзвешенный рейтинг каждого качества, рассматривался характер распределения оценок внутри позиций. Статистическая обработка результатов анкетирования проведена программными средствами MS Office Excel 2016.

Результаты исследования. Результаты анкетирования в молодёжной группе (студентов 1 и 2 курсов) представлены на рисунке 1А. Наибольшее количество баллов набрали требование «уверенно ориентироваться в своей сфере деятельности, владеть современной информацией по преподаваемому предмету» (9,62) и требования «уметь объективно оценивать знания студентов, используя современные формы и методы контроля знаний» (9,52 балла); «доступно, ясно, выразительно, убедительно и последовательно излагать учебный материал» (9,50 баллов) и «использовать знания в своей предметной области для воспитания врача как профессионала» (9,44 балла). Такие ответы в исследуемой группе были ожидаемы, так как неоднократно подтверждались исследованиями других авторов [3].

Необходимо заметить, что все эти качества, действительно важные и необходимые, относятся к критериям сугубо профессиональным. Тенденция отдавать предпочтение в первую очередь профессиональным, специальным качествам педагога, и уже в последнюю очередь — качествам морально-нравственным видна и в том, что наименьшее количество баллов получило такие морально-нравственные качества, как необходимость быть патриотом своей страны, знать ее историю (5,66 баллов из 10), свойство придерживаться и

пропагандировать здоровый образ жизни (6,46 баллов), и быть культурным человеком, расширять свой кругозор, любить литературу и искусство (7,42 балла). Требование «быть гуманистом, считать жизнь человека высшей ценностью», набрало всего 8,06 баллов. Подобное пренебрежение значимостью утверждения жизни как аксиологической вершины, а гуманизма — как важнейшего компонента личности врача, не может не тревожить.

Таблица 1. Позиции, отражающие основные требования к современному преподавателю вуза, использованные в анкетировании.

1.	Заниматься практической научной или медицинской деятельностью, быть практикующим исследователем или врачом.
2.	Быть патриотом своей страны, знать ее историю.
3.	Уверенно ориентироваться в своей сфере деятельности, владеть современной информацией по преподаваемому предмету.
4.	Быть гуманистом. Считать жизнь человека высшей ценностью.
5.	Уметь объективно оценивать знания студентов, используя современные формы и методы контроля знаний.
6.	Быть компетентным в вопросах биомедицинской этики, деонтологии, знать основные этические проблемы современной медицины.
7.	Владеть профессиональным врачебным языком, медицинской терминологией.
8.	Придерживаться сам и пропагандировать здоровый образ жизни.
9.	Иметь высокие моральные и нравственные качества.
10.	Доступно, ясно, выразительно, убедительно и последовательно излагать учебный материал.
11.	Демонстрировать творческое отношение к занятию.
12.	Знать возрастную психологию и, взаимодействуя со студентами, ее учитывать.
13.	Быть культурным человеком, расширять свой кругозор, любить литературу и искусство
14.	Систематически и планомерно повышать свой профессиональный педагогический уровень.
15.	Быть требовательным. Это важное условие его успешной работы.
16.	Ориентироваться в современном состоянии медицинской науки, практической медицины.
17.	Использовать знания в своей предметной области для воспитания врача как профессионала.
18.	Уметь доказать студентам необходимость своей дисциплины для полноценного формирования врачебных компетенций.
19.	Демонстрировать толерантное отношение к окружающим.
20.	Знать основные тенденции развития медицинской науки, использовать данные современных научных исследований в процессе преподавания своей дисциплины.

Интересные результаты просматриваются при исследовании однородности, консолидированности ответов группы респондентов при оценивании важности того или иного качества. Так, при присвоении рейтинга такому качеству, как приверженность

здоровому образу жизни, оценки колебались в рамках всего возможного диапазона — от 1 балла до 10. Дисперсия признака составила 8,04. Похожие колебания в оценке наблюдались также при ответе на вопрос о необходимости быть патриотом своей страны (также от 1 до 10 баллов, дисперсия 7,30). Чуть меньше разногласий наблюдалось при решении респондентами вопросов о необходимости преподавателю медицинского вуза быть гуманистом, считать жизнь человека высшей ценностью, быть культурным человеком, расширять свой кругозор, любить литературу и искусство и демонстрировать толерантное отношение к окружающим. При оценке этих требований присваиваемые баллы колебались от 2 до 10, дисперсия составляла 4,89, 4,88 и 3,58 соответственно. Такая неуверенность в ответах может согласовываться с неустойчивостью общественного мнения по этим вопросам. Наименьшие сомнения в группе респондентов-студентов вызвали ответы на вопросы о чисто профессиональных качествах. Оценка этих качеств колебалась в небольших пределах — от 7 до 10 баллов, и дисперсия была очень мала — менее единицы.

При оценке асимметричности ответов выявлено, что наибольший коэффициент асимметрии (3,20) выявлен при определении респондентами значимости требования «уверенно ориентироваться в своей сфере деятельности, владеть современной информацией по преподаваемому предмету», получившего наивысший рейтинг. Большинство респондентов склонялось в сторону наивысшей оценки. Наименьший коэффициент асимметрии, почти близкий к нулю (0,11) наблюдался при оценке необходимости быть патриотом своей страны, знать ее историю. Это означает, что мнения респондентов в этом вопросе распределились практически равномерно, одинаковое их количество считало данный признак как достаточно важным, так и неактуальным. Этот факт, наряду с высоким коэффициентом дисперсии (7,30) также может говорить о неустоявшемся в коллективном сознании данной страны общества мнении о важности этого личностного качества вообще и для педагога в частности.

В группе респондентов 25–35 лет результаты анкетирования оказались ожидаемо похожими (рис. 1Б). Так же, как и в студенческой группе, в данной группе респондентов наибольшие сомнения вызвали оценки качеств морально-нравственного характера. Оценки таких свойств личности преподавателя, как чувство патриотизма и поддержание здорового образа жизни вновь колебались от 1 до 10 баллов (с коэффициентами дисперсии 6,63 и 5,73, соответственно). Наибольшая консолидированность мнения этой группы респондентов, и в этом они оказались солидарны с молодёжной группой, проявилась в оценке профессиональных качеств.

В группе респондентов 36–50 лет результаты анкетирования оказались уже другими (рис. 1В). Вновь, как и в первых двух возрастных группах, наибольшее признание получили способность уверенно ориентироваться в своей сфере деятельности, владеть современной информацией по преподаваемому предмету (9,82 баллов) и способность доступно, ясно, выразительно, убедительно и последовательно излагать учебный материал (9,36 баллов). То есть, лидирующее положение вновь заняли качества профессиональные. Отмечен, однако, незначительный, рост значимости чувства патриотизма (7,09 баллов) и резко, с 8,52 до 6,27 баллов уменьшилась оценка необходимости толерантного отношения к окружающим. Наибольшей уверенности в ответах данная группа придерживается при оценке того же качества, что и предыдущие две — способности уверенно ориентироваться в своей сфере деятельности, владеть современной информацией по преподаваемому предмету (дисперсия 0,15). Наибольший разброс мнений (и это снова может подтвердить неопределившуюся пока в целом общественную позицию) наблюдался при оценке необходимости быть гуманистом, считать жизнь человека высшей ценностью (дисперсия 7,87) и «быть культурным человеком» (дисперсия 7,45).

Результаты анкетирования в группе респондентов 51–60 лет представлены на рисунке 1Г. В этой группе продолжилась тенденция к непризнанию важности такого качества, как толерантное отношение к окружающим (всего 5,36 баллов). Однако, повысился рейтинг таких важных качеств, как «необходимость быть патриотом» (до 7,55 баллов), «иметь

высокие моральные и нравственные качества» (8,73 балла) и приверженность здоровому образу жизни (8,18 баллов). Тем не менее, на первых местах остались, как и прежде, качества сугубо профессиональные — способности уверенно ориентироваться в своей сфере деятельности, владеть современной информацией по преподаваемому предмету (9,00 баллов) и владеть профессиональным врачебным языком, медицинской терминологией (8,64 балла). При исследовании однородности ответов не выявлено значимой разницы в оценке представленных качеств. Коэффициент дисперсии во всех случаях был достаточно высок (выше 2,5), а асимметрия не превышала 2 пунктов.

Результаты анкетирования В группе респондентов старше 60 лет представлены на рисунке 1Д. При сравнительном анализе диаграмм, приведённых на рисунках 1Г и 1Д видно, что оценочные суждения респондентов последних возрастных групп различаются по четырем качествам. В старшей возрастной группе ожидаемо снизилось требование быть практикующим специалистом (незначительно, с 8 до 7,6 баллов). Это же качество вызвало наибольшие расхождения при оценке — дисперсия составила 11,31. Повысились требования к творческому отношению к занятиям, знанию возрастной психологии. Снизилась (с 7,82 до 6,46 баллов) популярность такого качества, как быть требовательным к студентам.

При анализе результатов опроса была выявлена определённая тенденция в оценивании респондентами некоторых из предложенных качеств в зависимости от возраста (рис. 2). Такая тенденция наблюдалась в оценке следующих качеств преподавателя: приверженности здоровому образу жизни, патриотизма и знания истории страны, обладания высокими морально-нравственными качествами и наличия толерантного отношения к окружающим. При оценке качества приверженности здоровому образу жизни с возрастом закономерно отмечена стойкая тенденция к повышению его значимости. В старших возрастных группах отмечено гораздо более серьёзное отношение к морально-нравственному облику преподавателя, и, что наиболее важно — к наличию у него чувства патриотизма. А вот требование быть толерантным в обществе, наоборот, с возрастом несколько потеряло свою значимость. Следует ещё раз отметить, что, несмотря на определённый рост ценности в умах более старших респондентов таких качеств преподавателя, как патриотизм и достойный морально-нравственный уровень, даже в старшей возрастной группе они находились на 12 и 9 местах в общем рейтинге, после всех профессиональных качеств.

Выводы. Наиболее значимыми во всех группах респондентов ожидаемо оказались признаны качества профессионального, специального плана. При этом качества, относящиеся к духовно-нравственной сфере, не получили подобной поддержки анкетированных. Такие свойства личности преподавателя медицинского вуза, как приверженность здоровому образу жизни, толерантное отношение к людям, восприняты респондентами всех групп крайне неоднозначно и также не получили достаточно высоких оценок. Недостаточно высокая оценка респондентами ценности гуманизма и утверждения жизни как высшей ценности не могут не тревожить. По результатам проведённого исследования можно сделать вывод о недооценивании как взрослыми участниками педагогического процесса, так и студентами качеств преподавателя морально-нравственного, этического характера. Подобная мировоззренческая позиция небезопасна для профессии врача, в которой понятия гуманизма и врачебного долга должны быть приоритетными. Это, в свою очередь, может свидетельствовать о безусловной важности тех организационно-педагогических мер, которые в последнее время предпринимают государственные и общественные образовательные структуры. Необходимо обращать большее внимание на духовно-нравственное воспитание молодёжи, в особенности — будущих врачей. Приоритетное значение при этом принимают меры по патриотическому воспитанию студентов.

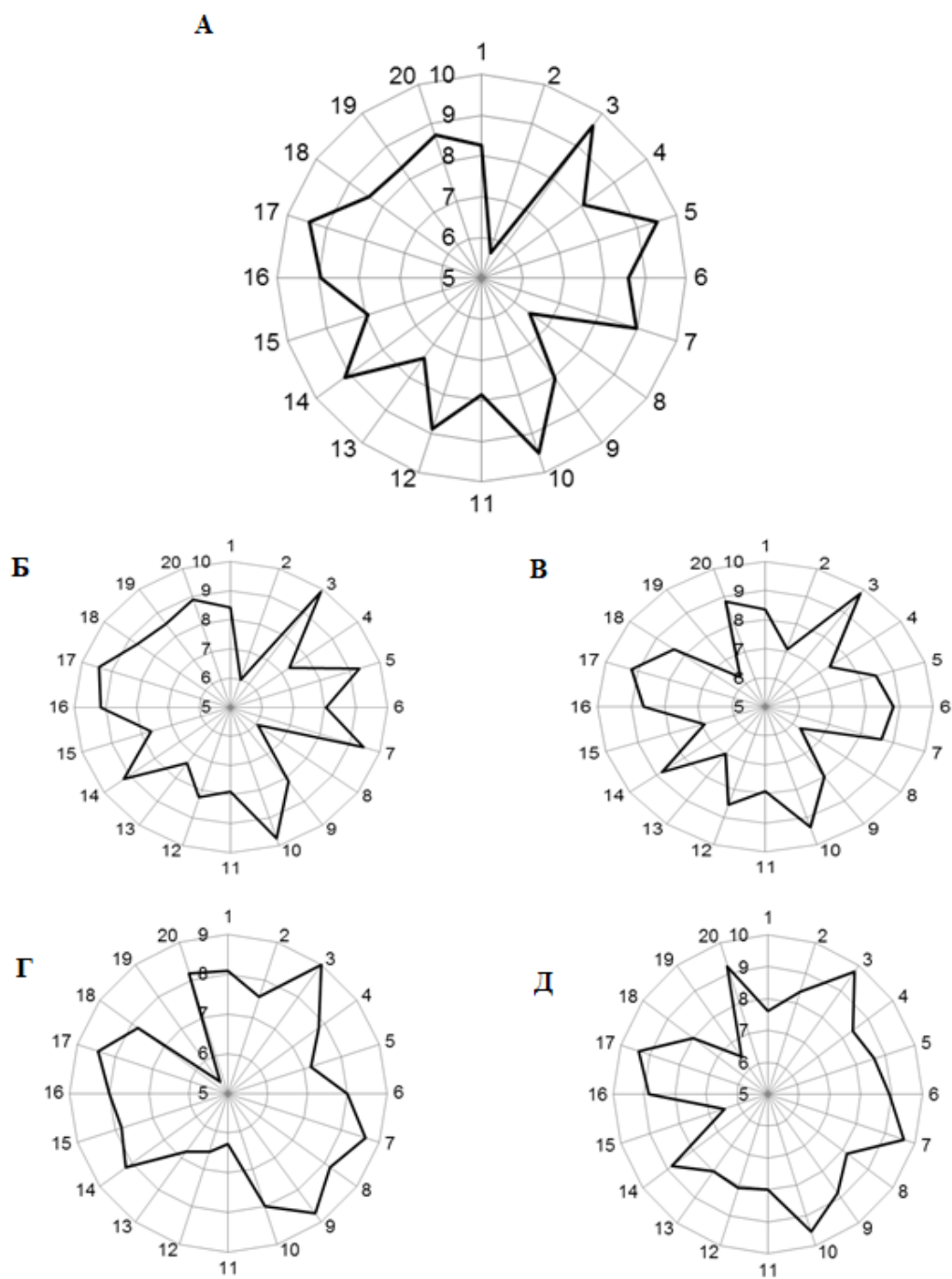


Рисунок 1. Лепестковая диаграмма оценки востребованности качеств современного преподавателя медицинского вуза А) в группе студентов Б) в группе 25–35 лет В) в группе 36–50 лет Г) в группе 51 — 60 лет Д) в группе респондентов старше 60 лет. Номера от 1 до 20 соответствуют позициям анкетирования, представленным в таблице 1.

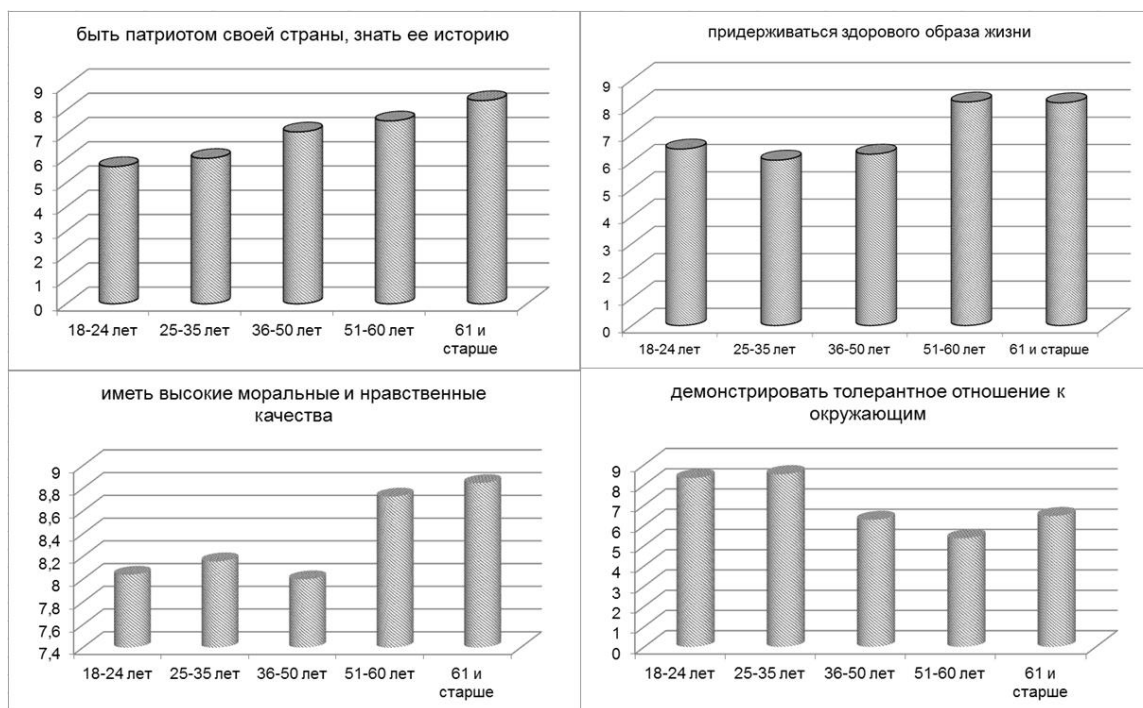


Рисунок 2. Динамика оценивания респондентами некоторых из предложенных качеств в зависимости от возраста.

Список литературы

1. Введенский В. Н. Социальный контроль деятельности преподавателя высшей школы / В. Н. Введенский // Высшее образование в России. — 2014. — №4. — С. 120–127.
2. Громкова М. Т. Педагогика высшей школы: учебное пособие / М. Т. Громкова — М.: Юнити-дана, 2012. — 446 с.
3. Козлов А. В. Компетентностный подход в образовании: коммуникативная компетентность педагога. / А. В. Козлов, И. В. Лобачёв, М. И. Кавдангалиева // Учёные записки Санкт-Петербургского университета управления и экономики. — 2013. — № 2 (42). — С. 120–125.
4. Корнаухова Т. А. Нравственное воспитание будущего медицинского работника как психолого-педагогическая проблема / Т. А. Корнаухова, В. Н. Мезинов // Вестник РУДН, серия Педагогика и психология. — 2015. — № 2. — С. 89–97.
5. Кульбах О. С. К проблеме воспитания студентов медицинских вузов как неотъемлемой части профессионального образования / О. С. Кульбах, Е. Р. Зинкевич // Мир науки, культуры, образования. — 2012. — № 4 (35). — С. 178 — 181.
6. Меркулова О. П. Проблемы оценивания учебного процесса студентами / О. П. Меркулова // Высшее образование в России. — 2012. — №2. — С. 18–24.
7. Стратегия развития молодёжи Российской Федерации на период до 2025 года. [Электронный ресурс]. — URL: <http://fadm.gov.ru/mediafiles/documents/document/98/ae/98aeadb5-7771-4e5b-a8ee-6e732c5d5e84.pdf>. (дата обращения 12.12.2021)
8. Указ Президента Российской Федерации от 31 декабря 2015 года N 683 "О Стратегии национальной безопасности Российской Федерации". [Электронный ресурс]. — URL: <https://rg.ru/2015/12/31/nac-bezopasnost-site-dok.html> (дата обращения: 02.03.2019)
9. Федеральный государственный образовательный стандарт высшего образования. Уровень высшего образования. Специалитет. Специальность. 31.05.01 Лечебное дело [Электронный ресурс]. — URL: <https://base.garant.ru/71345004/53f89421bbdaf741eb2d1ecc4ddb4c33> (дата обращения 12.12.2021)

СЕЗОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ГЕНОМА *PLASMODIUM FALCIPARUM* У БОЛЬНЫХ ЗАВОЗНОЙ ТРОПИЧЕСКОЙ МАЛЯРИЕЙ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

Арюков А. Р., Кузнецов К. С.

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» МО РФ,
Санкт-Петербург, Россия

Научный руководитель — д.м.н., профессор А. И. Соловьев

Резюме. Были проведены исследования особенностей var-комплекса *Plasmodium falciparum* на наличие главных факторов вирулентности DBL1 α , DBL β и CIDER. С помощью полимеразной цепной реакции на маркеры вирулентности *Plasmodium falciparum* обследованы пробы крови пациентов, проходивших лечение на базе СПб ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница им. С. П. Боткина» в 2017 и 2018 годах. Всего обследовано 26 пациентов (24 мужчин и 2 женщин) в возрасте от 21 до 67 лет с паразитологически подтвержденным диагнозом «тропическая малярия». Все обследованные до заболевания посещали регионы, эндемичные по этой инфекции (Африка, Юго-восточная Азия, Океания), где сезонный подъем заболеваемости этой инфекцией приходится на осенне-зимние месяцы. Анализ сезонного распределения случаев тропической малярии выявил отличия этого показателя в период с сентября по февраль. Анализ данных ПЦР исследований тропической малярии выявил, что, генетические маркеры вирулентности *Plasmodium falciparum* DBL1 α и DBL β выявлялись чаще в период эпидемического подъема заболеваемости (сентябрь-февраль) по сравнению с другими месяцами малярийного сезона. Это согласуется с предположением о сезонных изменениях генетического профиля главного фактора вирулентности *Plasmodium falciparum*, как одного из механизмов генетической гетерогенности популяции и фазовых преобразований вирулентности малярийных плазмодиев.

Ключевые слова: тропическая малярия, *Plasmodium falciparum*, геном, ПЦР, PFEMP1, DBL1 α , DBL β , CIDER

SEASONAL VARIABILITY OF *PLASMODIUM FALCIPARUM* GENOME IN PATIENTS WITH IMPORTED CASES OF TROPICAL MALARIA IN ST. PETERSBURG

Aryukov A. R., Kuznecov K.S.

S.M. Kirov Military medical academy, Saint Petersburg, Russia

Abstract. The features of the var-complex of *Plasmodium falciparum* were investigated for the presence of the main factors of virulence DBL1 α , DBL β and CIDER. With the help of polymerase chain reaction amplification of markers of *Plasmodium falciparum* virulence, blood samples of patients undergone treatment at Saint Petersburg State Budgetary Healthcare Institution " S.P. Botkin Clinical Infectious Diseases Hospital" in 2017 and 2018, were analyzed. 26 patients (24 men and 2 women) aged from 21 to 67 years with a parasitologically confirmed diagnosis of tropical malaria, were examined. All those examined before the disease visited the regions endemic for this infection (Africa, Southeast Asia, Oceania), where the seasonal rise in the incidence of this infection occurs in the autumn-winter months. Analysis of the seasonal distribution of tropical malaria cases revealed differences in this indicator between September and February. Analysis of PCR data from tropical malaria studies revealed that DBL1 α and DBL β genetic markers of *Plasmodium falciparum* virulence were detected more often during the epidemic rise in incidence (September-February) compared to other months of the malaria season. This is consistent with the assumption of seasonal changes in the genetic profile of the main virulence factor of *Plasmodium falciparum*, as one of the mechanisms of genetic heterogeneity of the population and phase transformations of the virulence of malaria plasmodia.

Key words: tropical malaria, *Plasmodium falciparum*, genome, PCR, PfEMP1, DBL1 α , DBL β , CIDER.

Цель исследования. Сравнительное молекулярно-генетическое исследование сезонных особенностей var-комплекса возбудителей тропической малярии, выявленных на территории г. Санкт-Петербург, по признаку присутствия генетических маркеров доменов DBL1 α , DBL β и CIDER в составе главного фактора вирулентности *Plasmodium falciparum*.

Материалы и методы. В работе использован материал пациентов, проходивших лечение в 2017 и 2018 годах на базе СПб ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница

им. С. П. Боткина». Всего обследовано 26 пациентов (24 мужчин и 2 женщин) в возрасте от 21 до 67 лет с паразитологически подтвержденным диагнозом тропическая малярия. Все обследованные до заболевания посещали регионы эндемичные по этой инфекции (Африка, Юго-Восточная Азия, Океания), где сезонный подъем заболеваемости этой инфекцией приходится на осенне-зимние месяцы.

В ходе исследований использовали технологию полимеразной цепной реакции (ПЦР). Материалом служила высушенная кровь со стеклов, приготовленных для препарата «толстая капля». В работе использовали пробы крови, взятой у пациентов в момент их поступления на стационарное лечение. ДНК из проб крови выделяли, соскабливая материал со стеклов с последующей его гомогенизацией в 300 мкл TES буфера в эппендорфах. Смесь нагревали на водяной бане при 99°C в течение 5 минут. Материал ресуспендировали, остужали до комнатной температуры и центрифугировали при 12000 об/мин в течение 2 минут. Надосадочную жидкость отбирали для дальнейших исследований. В пробирке на 2 мкл отбирали необходимое количество образца, далее добавляли 1 мл буфера TES, перемешивали и центрифугировали в режиме 5000 оборотов/мин в течение 10–15 мин, после чего сливали надосадочную жидкость. Затем добавляли протеиназу-К (20 мг/мл) в количестве 5 мкл и суспендировали (разбивали осадок). Добавляли 10% SDS до концентрации в растворе 0,5 %. (25 мкл) в последующей инкубацией в течение 2 часов при температуре 56–56°C. Затем в смесь добавляли фенол (рН 8) в равном количестве (0,5 мл). Смесь перемешивали на ротаторе в течение 10 мин, а затем центрифугировали в течение 10 мин на 10000 оборотов/мин. После этого верхнюю фазу очищенной ДНК отбирали в пробирку на 1,5 мл, добавляли 30 мкл NaCl и 1 мл этанола 96%. После интенсивного перемешивания смесь центрифугировали 5 мин на 10000 оборотов/мин. Надосадочную жидкость сливали, после чего добавляли 70% спирт (0,5–1 мл). После интенсивного перемешивания центрифугировали при тех же условиях. Надосадочную жидкость сливали и добавляли TE-буфер в соответствии с количеством выпавшей ДНК (50–200 мкл до 1 мл). Открытые пробирки инкубировали для полного испарения спирта в течение 20 мин в зависимости от объема TE. Затем пробирки закрывали и растворяли ДНК на ротаторе.

При проведении ПЦР использовали амплификатор Biorad C1000. Реакционная смесь включала следующие реактивы: деионизированная вода — 5,2 мкл.; 5x Taq Red буфер (ЗАО «Евроген», Россия) — 2 мкл.; dNTPs (ЗАО «Евроген», Россия) — 1,2 мкл 2,5 мМ; прямой и обратный праймеры — по 0,2 мкл 20 мкМ; Taq-ДНК-полимераза (НПО «СибЭнзим», Россия) — 0,2 мкл, 1 U, матрица выделенной ДНК — 1 мкл.

Для молекулярно-генетического подтверждения видовой принадлежности возбудителей использовали видоспецифичные праймеры *Plasmodium vivax* и *Plasmodium falciparum* к гену 18S РНК паразитов (табл. 1). Для выявления участков генома *Plasmodium falciparum*, синтезирующих белки, специфичные к рецептору комплемента, использовали праймеры к маркерным нуклеотидным последовательностям, кодирующим структуру доменов DBL1 α и DBL β [18].

Таблица 1. Характеристика праймеров, использованных для выявления видоспецифичных нуклеотидных последовательностей *Plasmodium vivax* и *Plasmodium falciparum*

Праймеры		Последовательность олигонуклеотидов	Размер амплификата
<i>Plasmodium falciparum</i>	FAL1 (прямой)	5'-ТТАААСТGGТТТGGGAAAACCAAATATATT-3'	205 bp
	FAL2 (обратный)	5'-АСАСААТГААСТСААТСАТГАСТАСССГТС-3'	
<i>Plasmodium vivax</i>	VIV1 (прямой)	5'-CGC TTCTAGCTTAATCCACATAACTGATAC-3'	120 bp
	VIV2 (обратный)	5'-АСТТССААГССГААГСАААГАААГТССТТА-3'	

Дополнительно использовали праймеры к генам, кодирующим домен CIDR1 α [18], в отношении которого отсутствуют сведения о его способности взаимодействовать с CR1 и другими факторами активации системы комплемента [8, 11, 16]. Характеристика праймеров, использованных для амплификации маркерных участков генома паразитов, представлена в таблице 2.

Таблица 2. Характеристика праймеров, использованных для выявления маркеров var-комплекса и доменов PFEMP1

Праймер		Т отжи-га	Последовательность олигонуклеотидов	Размер амплифика-ката
DBL1 α	DBL α -5' (прямой)	52°C	5'-GCACGAAGTTTTGCAG ATAT(A/T)GG-3'	400 bp
	DBL α -3' (обратный)		5'-AA(A/G)TCTTC(T/G)GCCCAT TCCTCGAACCA-3'	
DBL β	DBL β -5' (прямой)	50°C	5'-CGACGT(C/G)AACA(C/T) ATGTGTACATC-3'	500 bp
	DBL β -3' (обратный)		5'-CA(C/T)TC(T/G)GCCCA(C/T) TC(A/T)GTCATCC-3'	
CIDR1 α	CIDR1-5' (прямой)	45°C	5'-GGT(A/T/G)(A/C/T/G)(A/C)TGATAT GTTA(A/C)A(A/C)GATTC-3'	400 bp
	CIDR1-3' (обратный)		5'-T(C/T/G)TAATAAGAA TTCGATTGC-3'	

Продукты амплификации разделяли посредством электрофореза на 2% агарозном геле с использованием электрофоретической камеры Sub-Cell GT. В работе использовали агарозу LE (Termofisher, США), разведенную на TBS буфере с добавлением этидия бромида (biotechnology Grade, США). Размер амплифицированных участков ДНК оценивали с помощью стандартных маркеров длин ДНК (100 bp и 50+ bp DNA Ladder). Учет результатов электрофореза осуществляли с помощью трансиллюминатора Vilber Lourmat ECX-20M. Результаты фиксировали с помощью системы гель-документации.

Результаты. Молекулярно-генетические исследования проб крови с использованием видоспецифичных праймеров во всех случаях подтвердили моноинфекцию, вызванную возбудителями тропической малярии.

Анализ сезонного распределения случаев тропической малярии выявил отличия этого показателя в период с сентября по февраль. В этот же период регистрировалось превышение доли случаев, при которых в пробах крови выявлялись генетические маркеры вирулентности *Plasmodium falciparum*. (табл. 3).

Таблица 3. Анализ сезонного распределения случаев тропической малярии и выявления генетических маркеров вирулентности методом полимеразной цепной реакции

Сезон	Случаи заболевания		Выявление генетических маркеров вирулентности	
	Абс.	%	Абс.	%
Весь малярийный сезон	26	100,0	16	61,53
Период с сентября по февраль	21	80,7	14	53,84
Период с марта по август	5	9,3	2	7,69

n=26

Анализ сезонного распределения положительных результатов выявления генетических маркеров вирулентности установил, что показатели для маркеров DBL1 α и DBL β были выше в течение сезонного подъема заболеваемости, по сравнению с другими месяцами года (табл. 4). При этом генетические маркеры домена CIDER регистрировались лишь в единичных случаях. Полученные результаты согласуются с данными других авторов и могут быть использованы для дальнейших исследований информативности маркеров DBL1 α и DBL β в качестве ранних предикторов тяжести клинического течения малярийной инфекции, вызванной *Plasmodium falciparum* [8, 11].

Таблица 4. Сезонное распределение результатов выявления генетических маркеров доменов DBL1 α , DBL β и CIDER методом полимеразной цепной реакции

Маркеры	Сентябрь — февраль		Март — август	
	Абс.	%	Абс.	%
DBL1 α	11	42,30	0	0,0
DBL β	10	38,46	1	3,84
CIDER	2	7,67	0	0,0
DBL1 α + DBL β	9	34,61	1	3,84
DBL1 α + DBL β + CIDER	2	7,67	0	0,0

n=26

Выводы. Таким образом, анализ полученных результатов свидетельствует о том, что в крови обследованных больных тропической малярией, генетические маркеры вирулентности *Plasmodium falciparum* выявлялись чаще в период эпидемического подъема заболеваемости (сентябрь-февраль) по сравнению с другими месяцами малярийного сезона. Это согласуется с предположением о сезонных изменениях генетического профиля главного фактора вирулентности *Plasmodium falciparum*, как одного из механизмов генетической гетерогенности популяции и фазовых преобразований вирулентности малярийных плазмодиев [3, 8]. По мнению ряда авторов, такой механизм обеспечивает устойчивое функционирование паразитарных систем тропической малярии на территории, эндемичной по этой инфекции в условиях изменяющегося иммунного профиля и фазовых колебаний восприимчивости популяции теплокровных хозяев. Для подтверждения данного предположения необходимо проведение дальнейших исследований.

Список литературы

1. Коваленко А. Н. Тропическая малярия с летальным исходом / А. Н. Коваленко. [и др.] // Архив патологии. — 2020. — Т. 82. — № 6. — С. 50–54.
2. Коваленко А. Н. Сложности терапии *Plasmodium falciparum*-малярии в Российской Федерации / А. Н. Коваленко [и др.] // Терапевтический архив. — 2019. — Т. 91. — № 11. — С. 75–80.
3. Лысенко А. Я. Маляриология. 2-е изд. / А. Я. Лысенко, А. В. Кондрашин, М. Н. Ежов — Копенгаген: Всемирная организация здравоохранения. Европейское региональное бюро, 2003. — 510 с.
4. Соловьев А. И. Связь клинического течения тропической малярии с особенностями строения генома *Plasmodium falciparum*. / А. И. Соловьев [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. — 2020. — № 1. — С. 67–74.
5. Соловьев А. И. Химиопрофилактика малярии при длительном пребывании на эндемичной территории: опыт применения мефлохина и хлорохина / А. И. Соловьев [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. — 2020. — № 2. — С. 84–89.

6. Соловьев А. И. Противоэпидемическая защита военнослужащих от малярии в условиях Юго-Восточной Азии (к 15-летию гуманитарной операции по ликвидации последствий цунами на территории Индонезии). / А. И. Соловьев [и др.] // Вестн. Росс. воен.-мед. акад. — 2020. — № 2. — С. 157–163.
7. Соловьев А. И. Молекулярно-генетические механизмы лекарственной резистентности *Plasmodium falciparum*. / А. И. Соловьев [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. — 2020. — № 4. — С. 80.
8. Усков А. Н. Молекулярно-генетические механизмы вирулентности *Plasmodium falciparum* и патогенеза тропической малярии / Усков А. Н. [и др.] // Инфектологии. — 2018. — № 3. — С. 23–30.
9. Angeletti D. et al. Binding of subdomains 1/2 of PfEMP1-DBL1 α to heparan sulfate or heparin mediates *Plasmodium falciparum* rosetting // PLoS One. — 2015. — Т. 10. — № 3. — С. e0118898.
10. Chen, D. S. et al. A molecular epidemiological study of var gene diversity to characterize the reservoir of *Plasmodium falciparum* in humans in Africa // PloS one. — 2011. — № 2. — С. e16629.
11. Lalchandama, K. et al. *Plasmodium falciparum* erythrocyte membrane protein 1 // WikiJournal of Medicine. — 2017. — № 1. — С. 1.

ДЕСКВАМИРОВАННЫЕ ЭНДОТЕЛИОЦИТЫ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С SARS-COV-2 НЕ ОБНАРУЖЕНЫ

Баранова А. Н.¹, Ильичев И. В.²

¹ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» МО РФ,
Санкт-Петербург, Россия

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и неврологии
им. В. М. Бехтерева» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия
Научный руководитель — д.б.н., профессор, заведующий кафедрой биологии ВМедА
В. Ю. Кравцов

Резюме. Недавно возникшая вспышка нового коронавирусного заболевания 2019 г. (COVID-19), вызванная вирусом SARS-CoV-2, создала серьезную угрозу для глобального общественного здравоохранения и вызвала всемирный социальный и экономический кризис. Ангиотензин-превращающий фермент 2 (ACE2) экспрессируется в эндотелии сосудов человека, респираторном эпителии и других типах клеток и считается основной мишенью SARS-CoV-2. В общемировой медицинской практике доминирует теория системного воспаления как основного повреждающего фактора SARS-CoV-2. Особая роль при этом отводится изучению состояния эндотелия. Неоднократно показано, что наибольшее негативное влияние новая коронавирусная инфекция оказывает именно на сосудистый эндотелий, вызывая его дисфункцию, провоцируя тем самым воспалительные и микрососудистые тромботические процессы, или развитие COVID-19 –ассоциированной коагулопатии. Ограничивая движение молекул и клеток через стенку сосуда, эндотелиальные клетки играют центральную роль в регуляции сердечно-сосудистых функций и системного гомеостаза, а также в модуляции патофизиологических процессов, таких как воспаление и иммунитет. Соответственно, потеря целостности эндотелиальных клеток связана с патологическими нарушениями. Авторами была выдвинута теория о возможном маркере тяжести течения заболевания в виде свободно плавающих чешуек эндотелиоцитов в крови пациентов. Эндотелиоциты также можно рассматривать в качестве мишеней действия различных (например, вирусных или бактериальных) патологических факторов *in situ*. Нами были проанализированы 28 пациентов, инфицированных SARS-CoV-2. В результате проведенного исследования периферической крови не было обнаружено эндотелиоцитов.

Ключевые слова: COVID-19, пандемия, SARS-CoV-2, коронавирус, сосудистый эндотелий, ангиотензин-превращающий фермент 2 (ACE2), периферическая кровь.

DESQUAMATED PERIPHERAL BLOOD ENDOTHELIAL CELLS WERE NOT FOUND IN PATIENTS WITH SARS-COV-2.

Baranova A. N.¹, Ilyichev I. V.²

¹ S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint-Petersburg, Russia

² V.M. Bekhterev National Medical Research Center for Psychiatry and Neurology, Saint Petersburg, Russia

Abstract. Newly appeared coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak, which is caused by SARS-CoV-2 virus, has posed a serious threat to global public health and caused worldwide social and economic breakdown. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) is expressed in human vascular endothelium, respiratory epithelium, and other cell types, and is thought to be a primary mechanism of SARS-CoV-2 entry and infection. The theory of systemic inflammation as the main damaging factor of SARS-CoV-2 dominates in global medical practice. A special role in this is assigned to the study of the state of the endothelium. It has been frequently shown that the greatest negative effect of the new coronavirus infection is precisely on the vascular endothelium, causing its dysfunction, thereby provoking inflammatory and microvascular thrombotic processes, or the development of COVID-19-associated coagulopathy. By gating the traffic of molecules and cells across the vessel wall, endothelial cells play a central role in regulating cardiovascular functions and systemic homeostasis and in modulating pathophysiological processes such as inflammation and immunity. Accordingly, the loss of endothelial cell integrity is associated with pathological disorders. Authors put forward a theory about disease severity course marker in the form of free floating scales of endothelial cells in the blood of patients. Endotheliocytes can also be considered as targets for the action of various (for example, viral or bacterial) pathological *in situ* factors. Authors analyzed 28 patients infected with SARS-CoV-2. As a result of the study of peripheral blood, no endothelial cells were found.

Key words: COVID-19, pandemic, SARS-CoV-2, coronavirus, vascular endothelium, angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), peripheral blood.

Введение. Повышенное содержание эндотелиоцитов в крови, которое является следствием десквамации и попаданием эндотелиоцитов в системный кровоток, свидетельствует об активации атеросклеротических процессов в коронарных артериях. О функциональном состоянии эндотелия судят по результатам определения концентрации молекул межклеточной адгезии в крови, цитокинов, и других биохимических факторов [1]. Вирусные и бактериальные токсины, воспалительные и противовоспалительные цитокины, попадая в системный кровоток, в первую очередь воздействуют на эндотелий в силу особенностей его расположения на границе крови и тканей [2]. Сосудистый эндотелий — активный паракринный, эндокринный и аутокринный орган, играющий ключевую роль в регуляции сосудистого тонуса и гомеостаза; это уникальное «эндокринное дерево», выстилающее абсолютно все органы сосудистой системы организма. Гистологические особенности эндотелия представлены в трудах академика А. А. Заварзина и его коллег еще в первой половине XX в. По их данным, нормальный эндотелий схож с однослойным плоским эпителием и является пластом, состоящим из отдельных клеток. Эндотелиоциты — это гетерогенная популяция клеток, отличающихся метаболической активностью. На морфологию данных клеток влияет совокупность факторов, важнейшими из которых принято выделять величину внутрисосудистого давления, скорость крови в сосуде. Роль эндотелиальных клеток сосудов состоит в обеспечении вазодилатации и вазоконстрикции, а также регулировании факторов плазмы крови, соответственно, они принимают участие в реакциях гемостаза [3].

Иммунная система и нарушение регуляции ренин-ангиотензин-альдостероновой системы с ассоциированным синдромом высвобождения цитокинов могут быть ключевой особенностью ранней стадии органотропизма и инфекции SARS-CoV-2 [4]. Основной мишенью SARS-CoV-2 считается ангиотензин-превращающий фермент 2 (ACE2), он экспрессируется в эндотелии сосудов человека, респираторном эпителии и других типах

клеток. В физиологическом состоянии ACE2 посредством своей карбоксипептидазной активности генерирует фрагменты ангиотензина (Ang 1–9 и Ang 1–7) и играет важную роль в ренин-ангиотензиновой системе (RAS), которая является критическим регулятором гомеостаза сердечно-сосудистой системы. SARS-CoV-2 через свой поверхностный гликопротеин-шип взаимодействует с ACE2 и проникает в клетки-хозяева. Попав внутрь клеток-хозяев, SARS-CoV-2 вызывает острый респираторный дистресс-синдром (ARDS), повреждение сосудов и, в некоторых случаях, гиперцитокинемию. Это в свою очередь запускает выделение воспалительных цитокинов (Цитокиновый шторм), и способствует экзоцитозу необычно крупных мультимеров фактора фон Виллебранда (ULVWF) и активации тромбоцитов. Эндотелиит, вызванный COVID-19, может объяснить системное нарушение микроциркуляторной функции в различных органах у пациентов с COVID-19 [5]. Дисфункция эндотелия во время COVID-19 может усугубить течение желудочно-кишечных, сердечно-сосудистых, почечных и неврологических заболеваний [6]. Неоднократно показано, что наибольшее негативное влияние новая корорнавирусная инфекция оказывает именно на сосудистый эндотелий, вызывая его дисфункцию, провоцируя тем самым воспалительные и микрососудистые тромботические процессы, или развитие COVID-19 — ассоциированной коагулопатии.

Учитывая предполагаемую связь течения COVID-19 с функциональным состоянием эндотелия, целью данной работы было выявление эндотелиоцитов в периферической крови пациентов, инфицированных SARS-CoV-2. Для выполнения этой задачи нами был выбран метод световой микроскопии.

Материалы и методы. Из крови 28 пациентов клиники инфекционных болезней Военно-Медицинской академии им. С. М. Кирова, инфицированных SARS-CoV-2, была выделена эритроцитарная взвесь. Для цитологического исследования 84 цитологических препарата лейкоцитарной взвеси (по 3 мазка от каждого из 28 пациентов) окрашивали Азур-2-Эозином по методу Май-Грюнвальда. Стерильной пипеткой набирали по 1 мл Азура 2 и разбавляли дистиллированной водой до 20 мл. Раствор красителя наносили на предметные стекла и выдерживали в течение 10 минут, после чего также сливали. Предметные стекла промывали под проточной водой. Препаратам давали высохнуть в течение 30 минут. Подготовленные таким образом препараты изучали методом световой микроскопии.

Результаты и обсуждение. В ходе исследования нами были замечены многочисленные чешуйки в 18 препаратах (Рис 1.). Было выяснено, что при десквамации эндотелия в периферической крови признаков настоящего эндотелия и его придатков не обнаруживается. Обнаруженные чешуйки были идентифицированы как многослойный плоский ороговевающий эпителий, что свидетельствует об отсутствии пораженного эндотелия. Активация эндотелия также связана с патологической выработкой большого количества специфических маркеров эндотелиальной дисфункции, включающих молекулы адгезии (ICAM-1, VCAM-1). При воздействии воспалительных медиаторов адгезивные молекулы способствуют прилипанию циркулирующих макрофагов и Т-лимфоцитов к эндотелию и их проникновению в интиму сосудов, что ведет к дальнейшему его повреждению, персистенции неспецифического воспаления и активации процессов атерогенеза [7]. Предполагается, что патофизиология тромбоэмболии при COVID-19 в большей степени зависит от активности тромбоцитов и связана с воспалением в эндотелии. Помимо этого, тромбоэмболия при COVID-19 является следствием гиперкоагуляции, связанной с повышенными концентрациями факторов свертывания, воздействием антифосфолипидных антител и сниженной концентрацией эндогенных белков-антикоагулянтов.

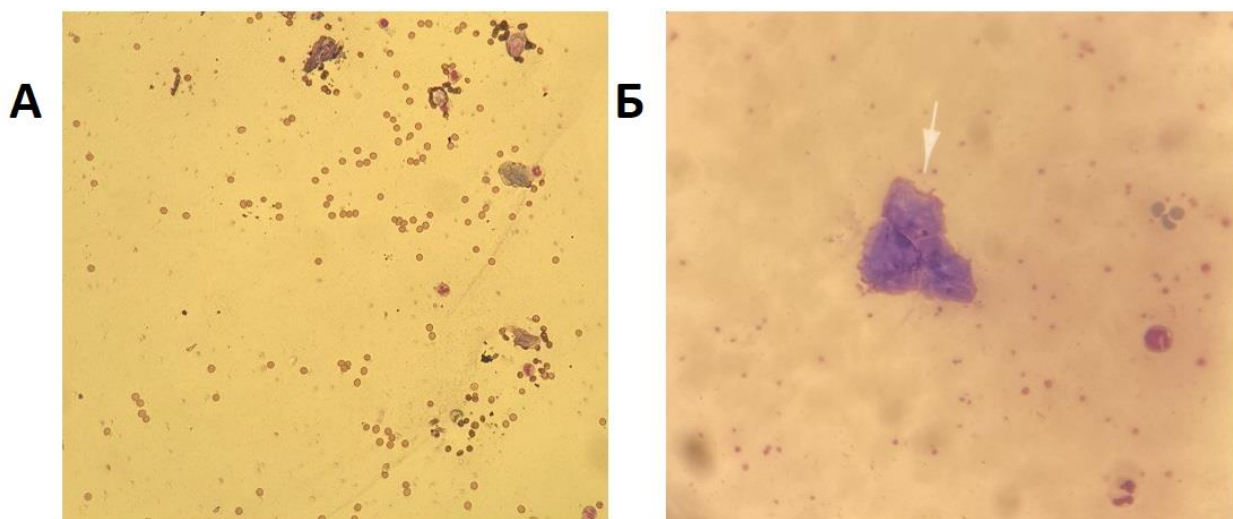


Рисунок 1. Клетки мазка периферической крови пациента, окрашенных Азур-2-Эозином по методу Май-Грюнвальда: А —увеличение x20; Б —увеличение x40.

Выводы. Таким образом, в периферической крови признаков настоящего эндотелия и его придатков при инфекции SARS-CoV-2 не обнаружено. Данная работа свидетельствует о возможной гипердиагностике компиляции сосудистого эндотелия, что ведет к переоценке генерализации процесса десквамации эндотелия при COVID-19.

Список литературы

1. Tarasov A.V., Khirmanov V.V., Ellinidi V.N., Kravtsov V.Y., Wassilew K. Endothelial cells of atherosclerotic coronary arteries in vivo obtained during angioplasty (intravascular biopsy) // *Cell and tissue biology*. — 2018. — № 4. — P. 289–295.
2. Берулава К. Р., Левина Е. М. Роль вазооклюзивной пробы в оценке состояния критически больных терапевтического профиля /Берулава К. Р. Левина Е. М. // *Известия Российской Военно-медицинской академии-СПб.* — 2020. — № 1. — С. 16–20 с.
3. Никогосян В. В., Горбулич А. В. Клеточно-дифференциальный состав грануляционной ткани в репаративном / Никогосян В. В., Горбулич А. В.// *Известия Российской Военно-медицинской академии-СПб.* — 2020. — № 1. — С. 116–120.
4. Amraei R., Rahimi N. Renin-Angiotensin System and Endothelial Dysfunction COVID-19./ Amraei R., Rahimi N. // *Cells*. — 2020. — V. 9(7). — P. 1652.
5. Теплова Н. В., Гришин Д. В. Коррекция эндотелиальной дисфункции при COVID-19/ Теплова Н. В., Гришин Д. В.// *Медицинский алфавит-Москва.* — 2020. — № 22. — С. 56–59.
6. Bernard I., Limonta D., Mahal L.K., Hobman T.C. Endothelium Infection and Dysregulation by SARS-CoV-2: Evidence and Caveats in COVID-19. / Bernard I., Limonta D., Mahal L.K., Hobman T.C. // *Viruses*. — 2020. — № 13(1). — P. 29.
7. Alharthy A., Faqih F., Memish Z.A., Karakitsos D. Fragile Endothelium and Brain Dysregulated Neurochemical Activity in COVID-19// *ACS Chem. Neurosci.* — 2020. — №.11(15). — P. 21–62.

ИЗУЧЕНИЕ ОКРАСКИ ОТРОСТКОВ СПОРОЦИСТ ТРЕМАТОД ВИДА *LEUCOCHLORIDIUM PARADOXUM* (TREMATODA: LEUCOCHLORIDIIDAE)

Богачева Т. А., Усманова Р. Р.

РГПУ им. А. И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия

Научный руководитель: д.б.н., профессор, заведующий кафедрой зоологии

РГПУ им. А. И. Герцена Атаев Г. Л.

Резюме. Для исследования спороцист трематод *Leucochloridium paradoxum* собирали зараженных ими моллюсков *Succinea putris*. Сборы проводили в 2013–2020 гг. на территории Петродворцового, Пушкинского, Гатчинского, Тосненского и Бокситогорского районов Ленинградской области. В результате анализа окрашенных отростков *Leucochloridium paradoxum* (n=591) было выделено четыре варианта окраски. Первый вариант: дистальный конец бурый с темно-коричневыми бугорками и полосами; продольные белые линии на нижней зеленой полосе отсутствуют. Второй вариант похож на первый, однако на дистальном конце расположен светлый участок с темными бугорками. Третий вариант: в верхней трети — две зеленых полосы. Терминально, как и во всех предыдущих типах располагаются темные пятна и полосы. Четвертый вариант, как и первый, имеет бурый дистальный конец, на котором видны коричневые бугорки и полосы. Нижняя зеленая полоса разделена вертикальными белыми перемычками, из-за чего имеет прерывистый рисунок. Существует не менее четырех вариантов окраски зрелых отростков спороцист р. *Leucochloridium*.

Ключевые слова: окраска, *Leucochloridium paradoxum*, спороцисты, пигмент, трематоды, Санкт-Петербург, Ленинградская область.

THE STUDY OF OUTGROWTHS COLORING OF *LEUCOCHLORIDIUM PARADOXUM* (TREMATODA: LEUCOCHLORIDIIDAE) SPORO CYSTS

Bogacheva T. A., Usmanova R. R.

A.I.Herzen Russian State Pedagogical University, Saint Petersburg, Russia.

Abstract. To study the sporocysts of *Leucochloridium paradoxum* trematodes, the mollusks *Succinea putris* infected by ones were collected. The collection was carried out in 2013–2020 in Peterhof, Pushkin, Gatchinsky, Tosnensky and Boksitogorsky Districts of Leningrad Region. As follows from the analysis of colored outgrowths of *Leucochloridium paradoxum* (n = 591), four color variants were identified. First variant: the distal end is fulvous with dark brown protuberant spots and stripes. There are no longitudinal white lines on the lower green stripe. The second variant is similar to the first, however, at the distal end there is a pale area with dark protuberant spots. The third variant has two green stripes in the upper third. Terminally, as in all previous types, dark spots and stripes are located. The fourth variant, like the first, has a fulvous distal end, on which brown protuberant spots and stripes are visible. The lower green stripe is divided by vertical white bars, which results in a dash-lined pattern. There are at least four variants of color of mature outgrowths of sporocysts of *Leucochloridium*.

Key words: coloring, *Leucochloridium paradoxum*, sporocysts, pigment, trematodes, Saint Petersburg, Leningrad region.

Трематоды *Leucochloridium paradoxum* являются наиболее распространенными представителями рода *Leucochloridium* на территории европейской части России. Спороцисты трематод этого вида паразитируют в моллюсках *Succinea putris* (Pulmonata: Succineidae). Тело спороцист состоит из трёх частей, которые различаются по своей морфологии и функциональному значению [10]. Центральная часть располагается в гепатопанкреасе моллюска и выполняет репродуктивную (образование эмбрионов) и трофическую функции. Сформированные здесь эмбрионы через трубчатые участки проникают в отростки, где завершают своё развитие в метацеркарий. Для отростков характерна окраска, также они могут проникать в омматофоры улитки. Окраска, а также пульсация отростков делают их похожими на личинок насекомых, что и привлекает птиц, заражающихся при питании.

Именно окраска отростков вызывает особый интерес, так как среди паразитических червей это явление встречается крайне редко. До сих пор остается открытым вопрос о

природе пигментов, обуславливающих окраску. Ранее высказывалось предположение, что клетки ацинусов гепатопанкреаса моллюска являются местом синтеза пигментных гранул, которые транспортируются в стенку тела отростка спороцисты [3]. Однако, это предположение в дальнейшем не получило подтверждения.

Позднее было проведено гистохимическое исследование отростков, в результате которого выяснилось, что пигмент желтых гранул по своей природе является желчным. Более точная химическая природа этого пигмента, а также остальных, остается невыясненной. Но исследования показали, что в пигментных гранулах отсутствуют белки, жиры, углеводы, нуклеиновые кислоты [6].

Ранее было показано, что окраска отростков спороцист трематод р. *Leucochloridium* является видоспецифической [1]. Позднее это было подтверждено с использованием молекулярно-биологических методов [2].

Окраска *L. paradoxum* представляет собой чередование полос зеленого, белого и черного цветов. Однако оттенок, расположение или количество полос может варьировать у спороцист данного вида. Кроме того, эти показатели изменяются в ходе онтогенеза. Например, с возрастом увеличивается число полос и колец [1, 5]. Молодые отростки бледные, у зрелых окраска становится более темной и насыщенной, что связано с накоплением гранул пигмента [9]. На изменение окраски влияет не только возраст спороцисты, но и условия среды: состояние моллюска-хозяина, наличие у него других инфекций [7].

При анализе данных разных авторов, мы обнаружили следующие описания окраски отростков спороцист вида *L. paradoxum*. Согласно Вудхэду, зеленая спороциста имеет темно-коричневые бугорки на терминальной части отростка. Далее располагаются широкие полосы, цвет которых может варьировать от зеленого до темно-оливкового, они занимают верхнюю треть отростка. Оставшаяся часть покрыта зелеными или желтыми кольцами. Окрашенные участки спороцисты чередуются с белыми полосами и пятнами [11].

Согласно описанию Соболевой, терминальная часть отростка спороцисты *L. paradoxum* коричневого цвета, далее следует широкая коричневая полоса и ряд коричневых пятен, иногда в виде цепочки. Затем следуют три зеленые полосы, ширина которых может быть разной. Третья полоса — самая широкая и окаймлена бурыми пятнами. Оставшаяся часть отростка расчленена прерывистыми зелеными полосками, оттенок которых может быть разным [4].

Согласно описанию Бэйка, верхняя часть отростка содержит темные пятна, цвет которых может варьировать от коричневого до черного. В той же части располагаются несколько (от трех до шести) непрерывных полос коричневого цвета. Далее следует полоса зеленого цвета, которая может сопровождаться выпуклыми зелеными пятнами. Во второй части отростка спороцисты располагаются две-три зеленые полосы, также они могут сливаться и разъединяться белыми полосами. Оставшаяся третья часть светло-зеленая и заполнена полосами, цвет которых может варьировать от оранжевого и желто-коричневого до зеленого. В основании отростка могут присутствовать полосы или выпуклые пятна от оранжевого до зеленого цветов [7].

Цель исследования. Целью работы было проведения детального анализа окраски зрелых отростков спороцист *L. paradoxum*.

Материалы и методы. Сбор зараженных моллюсков *Succinea putris* проводился с 2013 по 2020 год в Петергофе, Пушкине, Гатчинском, Тосненском и Бокситогорском районах Ленинградской области. Вскрытие моллюсков проводилось с использованием стереомикроскопа Leica M165C. Извлеченные отростки фотографировали при помощи камеры Leica DFC490. При изучении окраски использовали снимки 591-го отростка, принадлежащих 335-ти спороцистам *L. paradoxum*.

Результаты и обсуждение. В результате исследований выяснилось, что наиболее окрашена дистальная треть отростков. Здесь можно выделить следующие участки (рис. 1):

- *коричневые бугорки или полосы*, занимающие терминальное положение (5, 6). Их число, размеры, степень обособленности каждого бугорка могут варьировать. Также в этой области могут наблюдаться и белые участки.
- *верхняя полоса* (4) варьирует по цвету от светло-зеленого до темно-оливкового или даже бурого.
- *светлая зона* (3), как правило, разделяющая две ярко окрашенные полосы. Ширина данной области может варьировать. Также здесь чаще всего можно обнаружить 1–4 прерывистые или неразрывные узкие белые полосы. В редких случаях такие полосы отсутствуют, тогда светлая зона представляет из себя сплошную полосу.
- *нижняя полоса* (2) характеризуется зеленым цветом, не бывает оливковой или бурой. Эту полосу в продольном направлении могут пересекать тонкие белые линии.

Проксимальная часть отростка окрашена в кольца светло-зеленого или/и желтого цвета, которые расположены на светлом фоне (1).

Окраску использованных в анализе отростков можно отнести к одному из четырех вариантов (рис. 1):

I вариант. Дистальный конец отростка имеет бурый цвет и сопровождается темно-коричневыми бугорками (5) и полосами (6). Нижняя зеленая полоса не пересечена продольными белыми линиями (2).

II вариант. Похож на 1-ый вариант, однако бурая полоса не доходит до дистального конца отростка (4), к вершине она сменяется светлым участком, на фоне которого расположены темные бугорки (5).

III вариант. В верхней трети имеет две зеленых полосы. Терминально, как и во всех предыдущих типах, располагаются темные пятна и полосы (5, 6).

IV вариант. Терминальный конец отростка имеет бурый оттенок и несет коричневый бугорки и полосы (5), (6). Нижняя зеленая полоса разделена вертикальными белыми перемычками, из-за чего имеет прерывистый рисунок.

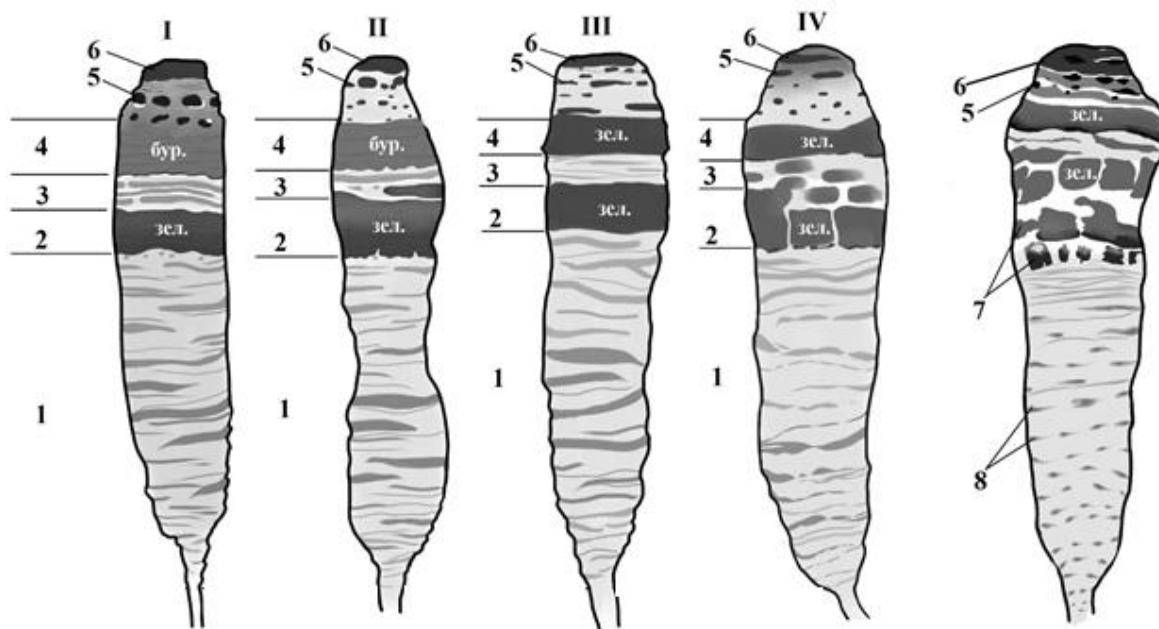


Рисунок 1. Варианты окраски отростков спороцист трематод *L. paradoxum*.

- 1 — проксимальная часть с полосами светло-желтого и зелёного цвета; 2 — нижняя полоса; 3 — светлая зона; 4 — верхняя полоса; 5 — темно-коричневые бугорки; 6 — темно-коричневые полосы; 7 — зеленая и коричневая прерывистые полосы; 8 — пунктирные полосы. По: Nakao et al., 2019.

Подобный IV типу, морфологический тип отростка *Leucochloridium paradoxum* был обнаружен в Японии [8]. Авторы приводят описание: на переднем дистальном конце располагаются пятна красно-коричневого или черного цвета, за которыми следуют зеленые полосы. Отмечено наличие зеленой и коричневой прерывистых полос (7), за которыми вплоть до заднего конца отростка идут пунктирные полосы (8). Отличия от четвертого типа выражаются в темной прерывистой полосе, следующей за нижней зеленой, а также в пунктирных полосах, занимающих нижнюю треть отростка.

Выводы. В окраске зрелых отростков спороцист р. *Leucochloridium* выделяются следующие участки: терминальный участок, верхняя полоса, светлая зона, нижняя полоса, проксимальная часть. Существует не менее четырех вариантов окраски зрелых отростков спороцист р. *Leucochloridium*.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20–34–90012.

Список литературы.

1. Гинецинская, Т. А. Значение окраски спороцист трематод рода *Leucochloridium* для диагностики вида / Т. А. Гинецинская // Доклады АН СССР. — 1953. — 88 (1). — С. 177–179.
2. Жукова, А. А. Генотипирование трематод рода *Leucochloridium*, обитающих на территории Ленинградской области / А. А. Жукова, Е. Е. Прохорова, Н. В. Цымбаленко и др. // Паразитология. — 2012. — Т. 46, № 5. — С. 414–419.
3. Начева, Л. В. Гистологические исследования взаимоотношений в системе паразит-хозяин на примере спороцист трематод рода *Leucochloridium* (Carus, 1835) / Л. В. Начева, Т. Н. Соболева, Л. Л. Осиповская // Тезисы докладов II Всесоюзного съезда паразитоценологов: сб. ст. — Киев, 1983. — С. 203.
4. Соболева Т. Н. Морфология партенит и личинок брахилаймоидей / Т. Н. Соболева // Функциональная морфология личинок трематод и цестод. — Алма-Ата, 1986. — С. 76–82.
5. Соболева, Т. Н. Личинки трематод рода *Leucochloridium* Carus, 1835 в Казахстане / Т. Н. Соболева, Л. Л. Осиповская // Известия АН КазССР. — Алмата, 1979. — Т. 1. — С. 26–34.
6. Ataev, G. L. The study of the sporocyst broodsacs coloring in *Leucochloridium paradoxum* (Trematoda: Brachylaemidae) / G. L. Ataev, P. S. Babich, A. S. Tokmakova // Parazitologiya. — 2013. — V. 47, N. 5. — P. 372–379.
7. Bakke, T. A. A revision of the family Leucochloridiidae Poche (Digenea) and studies on the morphology of *Leucochloridium paradoxum* Carus, 1835 / T. A. Bakke // Systematic Parasitology. — 1980. — V. 1. — P. 189–202.
8. Nakao, M. Distribution records of three species of *Leucochloridium* (Trematoda: Leucochloridiidae) in Japan, with comments on their microtaxonomy and ecology / M. Nakao, Sasaki, T. Waki, T. Iwaki, Y. Mori, K. Yanagida, M. Watanabe, Y. Tsuchitani, T. Saito, M. Asakawa // Parasitology International. — 2019. — V. 72. — 101936.
9. Pojmanska, T. Variability of *Leucochloridium paradoxum* Carus (= *L. heckerti* Kagan, 1952) (Trematoda: Brachylaemidae) in natural and experimental conditions / T. Pojmanska // Acta Parasitologica Polonica. — 1967. — V. 14. — P. 381–398.
10. Pojmanska, T. Differentiation of the ultrastructure of the body wall of the sporocyst of *Leucochloridium paradoxum* / T. Pojmanska, K. Machaj // International Journal for Parasitology. — 1991. — V. 21, N. 6. — P. 651–659.
11. Woodhead, E. The mother sporocysts of *Leucochloridium* / E. Woodhead // The Journal of Parasitology. — 1935. — V. 21, N. 5. — P. 337–346.

СОЗДАНИЕ ИНФОРМАЦИОННОЙ БАЗЫ ДЛЯ РЕТРОСПЕКТИВНОГО МЕТААНАЛИЗА ИНТЕРФЕРЕНЦИИ КОРОНАВИРУСОВ В ЗООСФЕРЕ

Габриель П. В.

ФГБВОУ ВО «Военно-Медицинская академия имени С. М. Кирова» МО РФ,
Санкт-Петербург, Россия

Научный руководитель: д.б.н., профессор, заведующий кафедрой биологии ВмедА
В. Ю. Кравцов

Резюме. Пандемия COVID-19 унесла множество жизней и принесла огромному количеству людей проблемы со здоровьем даже после выздоровления, что делает поиск средств профилактики или лечения данного заболевания крайне актуальной проблемой на сегодняшний день. На данный момент создано несколько вакцин от коронавируса, однако вакцинация является не единственным эффективным способом борьбы с пандемией. Альтернативным методом воздействия на вирус может являться суперинфицирующая терапия (использование в качестве лекарства непатогенного для человека вируса, вступающего в интерференцию с коронавирусом). Непатогенные для человека вирусы, с которыми коронавирус вступает в интерференцию, не выявлены в достаточном количестве и не изучены в достаточной степени, и потому требуется собрать о них необходимое для дальнейших исследований количество информации. Был проведён сбор данных на платформе PubMed с дальнейшим формированием информационной базы в количестве 11 636 статей за период с 1949 года по 6 октября 2020 года, содержащих сведения о распространённости и протекании различных коронавирусов среди животных и их взаимодействия с другими вирусами. Ретроспективный метаанализ поведения разных коронавирусов в организме животных и их взаимоотношений с другими вирусами может помочь выявить те из них, которые вступают в интерференцию с коронавирусами. Среди них далее будет проводиться поиск подходящих для суперинфицирующей терапии коронавируса в человеческом организме.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, вирусная интерференция, животные, информационная база, коронавирусы, ретроспективный метаанализ, суперинфицирующая терапия.

‘INTERFERENCE OF CORONAVIRUSES IN ZOOSPHERE’ RETROSPECTIVE META-ANALYSIS DATABASE CREATING

Gabriel P. V.

S. M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

Abstract. COVID-19 pandemic has claimed many lives and caused health problems among a huge number of people even after recovery, which makes the search for means of preventing or treating this disease an extremely urgent problem today. At this moment, several vaccines for coronavirus have been created, but vaccination is not the only effective way to protect people of the pandemic. Superinfection therapy (the use of a virus that is not pathogenic for humans and interferes with coronavirus as a drug) can be an alternative method of influencing the virus. Viruses, which are non-pathogenic for humans, with which coronavirus interferes, have not been identified in sufficient quantities and have not been sufficiently studied, and therefore it is necessary to collect the amount of information necessary for further research. Data was collected on the PubMed platform with the further formation of an information base in the amount of 11 636 articles for the period from 1949 to October 6, 2020, containing information on the prevalence and course of various coronaviruses among animals and their interactions with other viruses. A retrospective meta-analysis of the behavior of different coronaviruses in animals and their relationships with other viruses can help identify those of them that interfere with coronaviruses. A search will be further conducted among these viruses for coronavirus suitable for superinfection therapy in the human organism.

Key words: SARS-CoV-2, viral interference, animals, database, coronaviruses, retrospective meta-analysis, superinfection therapy.

Введение. Пандемия COVID-19, продолжающаяся с конца 2019 года по сей день, является причиной огромного количества смертей и тяжёлых последствий от инфекции. Борьба с её распространением как никогда актуальна, так как общая тяжесть протекания заболевания в ряде случаев усугубляется наличием нескольких волн пандемии. Каждая новая волна, как правило, обусловлена мутацией коронавируса, что осложняет разработку эффективных вакцин. Несмотря на множественные исследования в этой области [1–5], вакцинирование является единственным эффективным способом борьбы с пандемией. Возможным методом борьбы с коронавирусом может являться суперинфицирующая терапия, основанная на явлении интерференции вирусов [6]. На настоящий момент известно, что, вероятно, в интерференцию с коронавирусом может вступать вирус сендай [7], являющийся непатогенным для человека, однако этот вопрос требует дополнительных исследований. Для более качественного исследования феномена вирусной интерференции в отношении коронавирусов было принято решение о проведении ретроспективного метаанализа, и, как следствие, сборе информационной базы для его проведения.

Цель. Целью проведённой работы являлось создание информационной базы для ретроспективного метаанализа интерференции коронавирусов в биосфере. Информационная база должна представлять собой архив данных в электронном и печатном виде.

Материалы и методы. С помощью поискового агрегатора PubMed было собрано 11 636 рецензированных статей, первая из которых относится к 1949 году, последние — к октябрю 2020 года. Для обработки и структурирования собранных данных будет привлечена группа научных операторов в составе 30 человек.

Результаты. Результатом проведённой работы является информационная база для исследования интерференции коронавирусов в биосфере, представляющая собой 11 636 статей за период с 1949 года по 6 октября 2020 года в электронном и печатном форматах. Печатный формат представляет собой 59 папок, содержащих аннотации к некоторым статьям, и две папки, содержащие информацию о статьях без аннотаций.

Нам также удалось показать, что основные пулы публикаций рубрицируются по следующим тематикам: ветеринарные исследования, зоологические исследования, экспериментальные исследования. Отдельно стоит выделить иммунологические исследования и исследования на летучих мышах. Следует подчеркнуть, что обнаруженный нами громадный массив по коронавирусам у животных указывает на очень серьёзный масштаб распространения коронавирусов у животных — представителей дикой фауны, domesticированных животных и сельскохозяйственных животных. Это обстоятельство позволяет нам надеяться на обнаружение в результате метаанализа тех биологических основ, которые обеспечивают животным выживание без вакцинирования. Возможно, такая резистентность к коронавирусу в мире животных обусловлена феноменом интерференции.

После обработки всего объёма найденной информации планируется провести формализацию всех тех данных, которые пригодны для метаанализа. Вирусную интерференцию решено представить в виде условной равнодействующей аналитическим и (или) графическим способом. Аналитический способ записи будет представлять собой алгебраическую сумму двух слагаемых, одно из которых отрицательное (патогенный вирус, то есть коронавирус), а второе — положительное (непатогенный вирус). По причине недостаточности информации на данный момент невозможно определить единицу измерения интерференции, и по этой причине наличие интерференции непатогенного вируса с коронавирусом («организм выздоровел благодаря вирусу») будет соответствовать значению суммы «больше нуля» (>0), а отсутствие интерференции непатогенного вируса с коронавирусом («наличие непатогенного вируса не сказалось на ходе болезни организма») будет соответствовать значению суммы «меньше нуля» (<0). Отсутствие интерференции может сопровождаться как выздоровлением организма с последующей иммунизацией или без неё, так и его смертью. Результат одной и той же алгебраической суммы должен быть одинаков для одного вида, но может быть разным для разных. Графический способ записи будет иметь вид двух противоположно направленных векторов, имеющих одно начало.

Для осуществления данной формализации также очевидно необходимо, чтобы коронавирус для рассматриваемого организма был патогенен. Стоит также отметить, что именно по причине обязательной патогенности коронавируса (который обозначается как отрицательный) для рассматриваемого организма алгебраическая сумма, иллюстрирующая интерференцию, никогда не будет равна нулю.

Выводы. Проведённое поисковое исследование привело к выводу о том, что обнаруженные 11 363 статей, издававшиеся с 1949 года в рецензируемых научных журналах, возможно проанализировать в рамках метаанализа только силами группы операторов научной роты.

Список литературы.

1. Amanat F., Krammer F. SARS-CoV-2 vaccines: status report. / Amanat F., Krammer F. // *Immunity*. — 2020. — № 52. — P. 583–589.
2. Zhang J., Zeng H., Gu J., Li H., Zheng L., Zou Q. Progress and prospects on vaccine development against SARS-CoV-2 / Zhang J., Zeng H., Gu J., Li H., Zheng L., Zou Q. // *Vaccines (Basel)*. — 2020. — № 8. — e153.
3. Chen W.H., Strych U., Hotez P.J., Bottazzi M.E. The SARS-CoV-2 vaccine pipeline: an overview. / Chen W.H., Strych U., Hotez P.J., Bottazzi M.E. // *Curr. Trop. Med. Rep.* — 2020. — № 7. — P. 61–64.
4. Callaway E. The race for coronavirus vaccines: a graphical guide. / Callaway E. // *Nature*. — 2020. — № 580. — P. 576–577.
5. COVID-19 vaccine development pipeline. https://vac-lshtm.shinyapps.io/ncov_vaccine_landscape/.
6. Kovesdi I., Bakacs T. Therapeutic Exploitation of Viral Interference. / Kovesdi I., Bakacs T. // *Infectious Disorders — Drug Targets*. — 2020. — № 4. — P. 423–432.
7. Зайчук Т. А., Нечипуренко Ю. Д., Аджубей А. А., Оникиенко С. Б., Черешнев В. А., Зайнутдинов С. С., Кочнева Г. В., Нетесов С. В., Матвеева О. В. Проблемы создания вакцин против бетакоронавирусов: антителозависимое усиление инфекции и вирус сендай как возможный вакцинный вектор. / Зайчук Т. А и др. // *Молекулярная биология*. — 2020. — № 6. — с. 922–938.

ЛЕТНЕЕ СНИЖЕНИЕ АКТИВНОСТИ БАЦИЛЛЯРНО-КОККОИДНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ *HELICOBACTER PYLORI* В АНТРАЛЬНОМ ОТДЕЛЕ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА

Гладышев Н. С.^{1,2}

¹ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера Роспотребнадзора, Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия
Научный руководитель — д.б.н., профессор В. Ю. Кравцов

Резюме. Известно, что при неблагоприятных условиях *Helicobacter pylori* переходит из менее устойчивой (спиральной) в более устойчивую (коккоидную) морфологическую форму. Этот процесс был назван бациллярно-коккоидной трансформацией. Несмотря на изученность процесса, влияние сезонных биоритмов на активность трансформации остается неизвестным. В данной работе изучен сезонный биоритм бациллярно-коккоидной трансформации *Helicobacter pylori* у больных с диагнозом «хронический гастрит» и разработана шкала для оценки активности бациллярно-коккоидной трансформации. Для этого на протяжении 6 лет (с 2003 по 2008 годы) ежемесячно были исследованы иммуноцитохимическим методом мазки-биоптаты полученные от 1937 пациентов с диагнозом «хронический гастрит», проходивших лечение во всероссийском центре экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова МЧС России. У 220 пациентов одновременно было определено точное количество коккоидов и U-форм в слизистой оболочке антрума с целью разработки полуколичественной шкалы. Для интерпретации результатов была использована градация активности бациллярно-коккоидной трансформации «+++», предложенная в исследовании, опубликованном ранее. Достоверность

различий определялась с помощью критерия Фишера. Было отмечено июльское падение активности бациллярно-коккоидной трансформации. Проведенный статистический анализ по критерию Фишера выявил высокодостоверные различия по показателю «частота встречаемости значительного количества коккоидных форм в слизистой оболочке желудка у пациентов, отнесенных к классам активности бациллярно-коккоидной трансформации «В» и «С». Таким образом, по разработанной шкале нами было выявлено июльское снижение активности бациллярно-коккоидной трансформации *Helicobacter pylori*.

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, коккоидные формы, VBNC, биоритм, эрадикационная терапия, хронический гастрит, гастроэнтерология

SUMMER DECREASE IN THE ACTIVITY OF BACILLARY-COCCOID TRANSFORMATION OF *HELICOBACTER PYLORI* IN THE ANTRUM OF THE GASTRIC MUCOSA

Gladyshev N.S.^{1,2}

¹ Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint Petersburg, Russia

² Saint-Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

Abstract. It is known that under unfavorable conditions, *Helicobacter pylori* changes from a less stable (spiral) to a more stable (coccoïd) morphological form. This process has been termed bacillary-coccoïd transformation. Despite the knowledge of this process, the influence of seasonal biorhythms on the transformation activity remains unknown. In this work, we studied the seasonal biorhythm of bacillary-coccoïd transformation of *Helicobacter pylori* in patients diagnosed with chronic gastritis. In this work, we studied the seasonal biorhythm of bacillary-coccoïd transformation of *Helicobacter pylori* in patients diagnosed with chronic gastritis and developed a scale of bacillary-coccoïd transformation activity. For this, for 6 years (from 2003 to 2008), monthly biopsy smears obtained from 1937 patients with a diagnosis of chronic gastritis who were treated at the A.M. Nikiforov All-Russian Center for Emergency and Radiation Medicine of the Ministry of Emergencies of Russia were examined by the immunocytochemical method. To develop a semi-quantitative scale in 220 patients, the exact number of coccoïd cells in the mucous membrane of the antrum of the stomach was calculated. To interpret the results, the gradation of the bacillary-coccoïd transformation activity "+++" was used, proposed in a study published earlier. The significance of the data differences was determined by Fisher's test. A decrease in the activity of bacillary-coccoïd transformation was noted in July. The conducted statistical analysis according to Fisher's criterion revealed highly significant differences in terms of the "frequency of occurrence of a significant number of coccoïd forms in the gastric mucosa in patients classified by the activity of bacillary-coccoïd transformation to groups "B" and "C"". Thus, according to the developed scale, we revealed a July decrease in the activity of bacillary-coccoïd transformation of *Helicobacter pylori*.

Key words: *Helicobacter pylori*, coccoïd forms, VBNC, biorhythm, eradication therapy, chronic gastritis, gastroenterology

Helicobacter pylori — это граммотрицательная, спиралевидная, микроаэрофильная бактерия, инфицирование которой может привести к развитию острого и хронического гастрита, язвенной болезни желудка, лимфомы желудка и аденокарциномы [8]. Одним из самых распространенных *HP*-ассоциированных заболеваний является хронический гастрит (К 29.3 – 29.5) [11]. Лечение, направленное на эрадикацию бактерий, не всегда дает положительный результат, а со временем бактерия и вовсе приобретает устойчивость к препаратам [9, 3]. Одна из возможных причин устойчивости *HP*-коккоидная форма [2]. Бактерия способна принимать коккоидную форму при действии различных факторов: повышение температуры, изменение *pH*, смене диеты и др. [8]. Процесс изменения морфологической формы *H. pylori* называется бациллярно-коккоидной трансформацией (БКТ) [5]. В процессе превращения *HP* в коккоид бактерия проходит через промежуточную стадию — U-форму [8]. По последним данным, эти морфологические формы *HP* наиболее устойчивы к антибиотикам и иным лечебным воздействиям [6]. Следовательно, обильная

обсемененность такими устойчивыми к антибиотикам морфологическими формами может служить одной из важнейших причин отсутствия результата эрадикационной терапии [3].

Цель. Изучение сезонного биоритма бациллярно-коккоидной трансформации *H. pylori* в антральном отделе желудка.

Материалы и методы. На протяжении 8 лет, с 2003 по 2008 год, во всероссийском центре экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова МЧС России проводилось изучение мазков-отпечатков, полученных при эндоскопическом исследовании из биоптатов антрального отдела СОЖ. В исследование вошли пациенты (n = 1937), которые имели эндоскопический диагноз хронический гастрит с подтвержденным хеликобактериозом.

Активность БКТ *HP* у пациентов с хроническим гастритом оценивали с помощью иммуноцитохимического метода. Для этого мазки-отпечатки от пациентов фиксировали смесью спирт-ацетон в соотношении 1:1 в течение 10 минут, сушили на воздухе, после чего ингибировали эндогенную пероксидазу 1% азидом натрия (Merck) в течение 15 минут. Затем два раза промывали дистиллированной водой и помещали на 5 минут в Трис-NaCl буфер (pH = 7.6). После чего поле для иммуноцитохимического анализа окружали гидрофобной ручкой (DakoCytomation) и инкубировали с преиммунной сывороткой в течение 30 минут при комнатной температуре. Далее наносили кроличьи поликлональные антитела (NCL-HPp, Novocastra), направленные против поверхностных антигенов *HP*, и инкубировали в течение часа при +37 °С. Затем промывали два раза буфером и наносили свиные биотинилированные антитела, направленные против кроличьих антител, инкубировали в течение 15 минут при комнатной температуре и промывали в буфере. Наносили систему визуализации, состоящую из растворимого комплекса: авидина и биотинилированной пероксидазы хрена (DakoCytomation). В качестве субстрата для проявления иммуноцитохимической реакции реакции был использован 3,3' — диаминобензидин (Novocastra). С целью добавления контраста мазки окрашивали дополнительно гематоксилином. Активность БКТ определялась путем количественного подсчета коккоидов на 200 клеток окрашенной в коричневый цвет бактерии с использованием иммерсионного объектива (x100) на микроскопе Leica DM 4000B. Стоит заметить, что U-формы являются лишь промежуточным этапом в процессе превращения спирали в коккоид, а не отдельными морфологическими формами, поэтому в данном исследовании они были посчитаны, как коккоидные формы [8].

Для классификации пациентов по активности БКТ была использована полуколичественная шкала, опубликованная ранее [1], в которой пациенты делились на следующие классы активности: 0 [0%–2%]; «+» [3%–7%]; «++» [8%–11%]; «+++» [12%–100%]. Также с целью переработки ранее предложенной полуколичественной шкалы [1] были исследованы иммуноцитохимическим методом мазки-биоптаты полученные от 220 пациентов с диагнозом «хронический гастрит» с подсчетом точного числа коккоидов и U-форм.

Для оценки достоверности результатов был рассчитан точный критерий Фишера. Результаты считались статистически значимыми при $p < 0.05$. Статистический анализ проводился с помощью языка программирования R при использовании программного обеспечения RStudio.

Результаты. Несмотря на то, что ранее нами была опубликована полуколичественная шкала для оценки активности БКТ, благодаря ретроспективному анализу имеющихся данных, нами была разработана более точная полуколичественная шкала (рис. 1), исходя из которой пациенты делятся на следующие классы активности: «А» [0% — 11%], «В» [12% — 19%] и «С» [20% — 100%]. Стоит отметить, что в данной шкале уровни активности «В» и «С» совпадают с ранее предложенной градацией «+++».

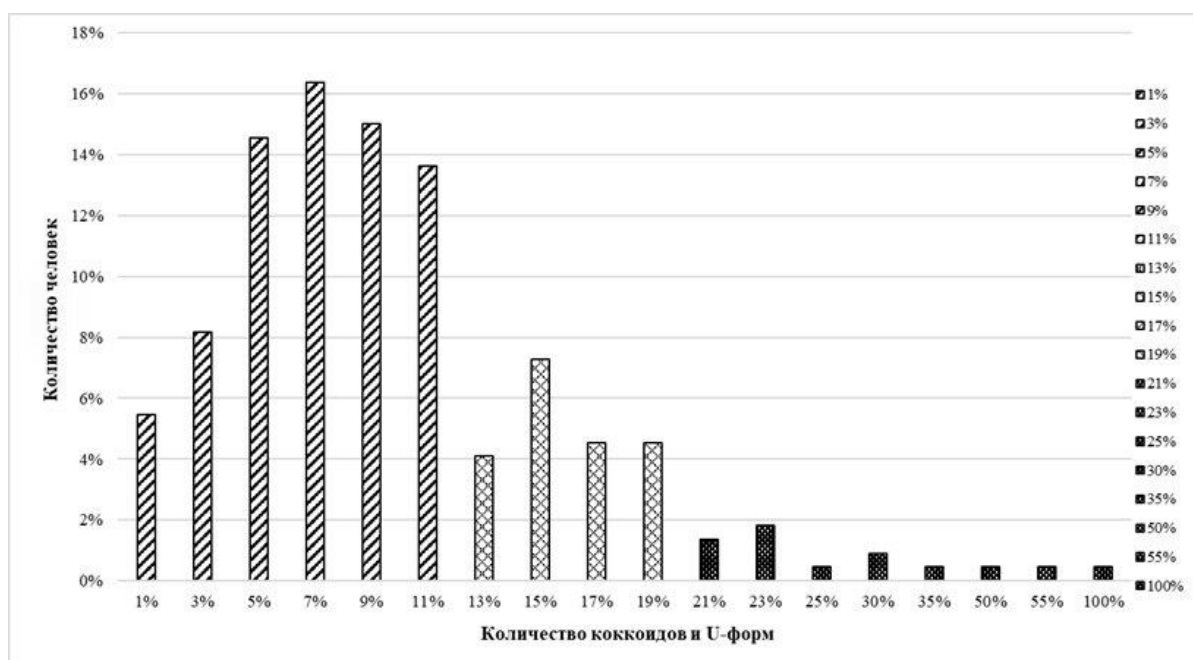


Рисунок 1. Распределение коккоидов и U-форм в слизистой оболочке антрума желудка (%).

Разработанная полуколичественная шкала была использована для разделения пациентов на группы по интенсивности обсемененности СОЖ. Так как измерение производилось по другой шкале, «В» и «С» группы были объединены для более точного анализа. Из 1937 человек, включенных в исследование, в группу «А» входило 1569 человек, а в группы «В» и «С» — 368. Затем было посчитано количество пациентов в перечисленных группах активности каждого месяца на протяжении 6 лет. После этого были рассчитаны доли от общего числа пациентов в данном месяце и построен график (рис. 2).

Как видно на представленном графике, в июле практически во все годы наблюдается снижение активности бациллярно-коккоидной трансформации. Отметим, что минимальная, практически нулевая, бациллярно-коккоидная активность в июле наблюдалась с 2004 по 2008 года включительно. 2003 год характеризовался максимальной амплитудой колебания активности и на него приходятся все выбросы представленные на графике.

Исходя из критерия Фишера наблюдалась статистически значимые различия июля от января, апреля и августа ($p < 0.05$), а максимальное различие наблюдается между июлем и ноябрем ($p = 0.003165$), в остальных месяцах четкая динамика не прослеживается ($p > 0.05$).

Исследование показало, что БКТ менее активно проходит в июле, что может послужить рекомендацией к назначению антихеликобактерной терапии именно в этот месяц. Как уже было сказано выше, коккоидная форма *HP* способствует устойчивости бактерии к антибиотикам и делает её менее доступной для эрадикации. Например, в исследовании Фиджура было показано, что одним из факторов, отрицательно влияющих на эрадикацию, было наличие коккоидных форм ($p = 0.0008$) [7]. Кроме того, коккоидная форма затрудняет выздоровление, вызывает рецидив и способствует эпидемической передаче [8]. Приведенные исследования указывают на необходимость назначения эрадикационной терапии только при минимальной активности БКТ, что может увеличить количество положительных исходов антихеликобактерной терапии.

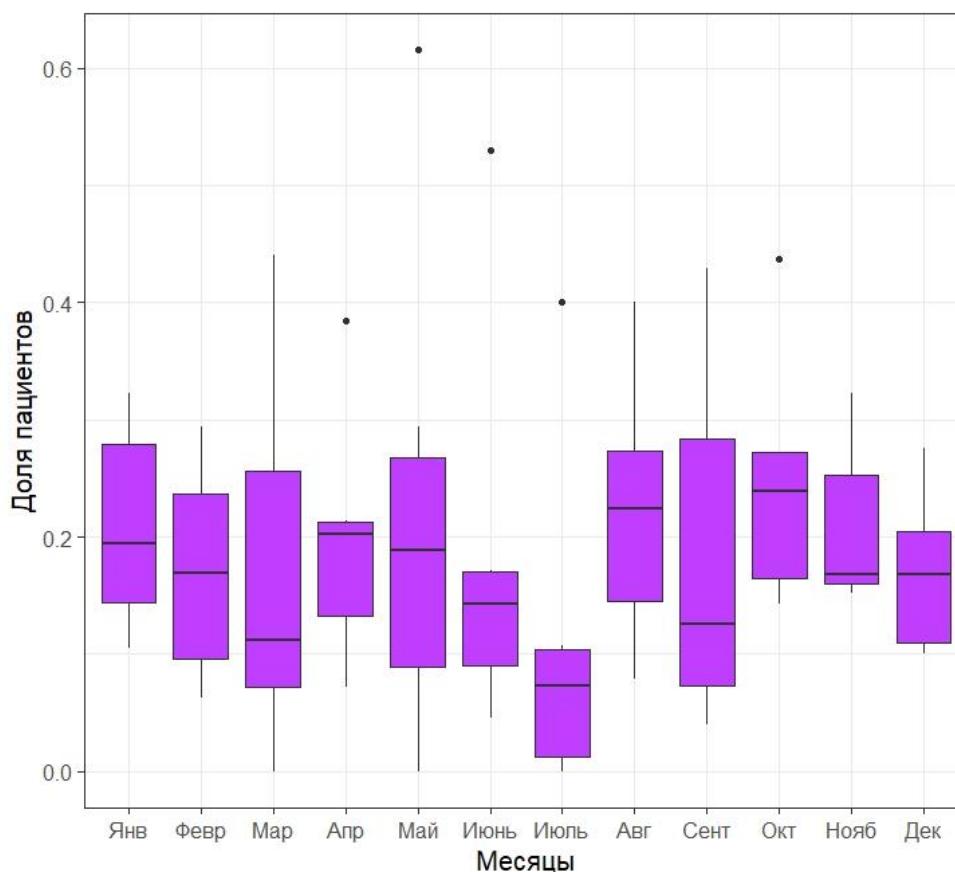


Рисунок 2. Динамика интенсивной обсемененности СОЖ коккоидными формами *H. pylori*.

Выводы. В данной работе представлена полуколичественная шкала, исходя из которой в дальнейших исследованиях или в клинической практике может быть проведена классификация пациентов по активности БКТ. С помощью разработанной полуколичественной шкалы для оценки активности БКТ выявлен июльский спад активности. Назначение курса эрадикационной терапии должно проводиться с учетом сезонной активности БКТ, а именно в июле. Данная рекомендация может быть дана пациентам с рецидивирующими *HP*-ассоциированными кислотозависимыми заболеваниями, находящимся на плановом лечении.

Список литературы

1. Кравцов В. Ю. и др. Иммуноцитохимическое исследование кокковых форм *Helicobacter pylori* в биоптатах слизистой оболочки желудка у больных хроническим гастритом. / Кравцов В. Ю. и др. // Клиническая лабораторная диагностика. — 2006. — №. 3. — С. 52–54.
2. Кравцов В. Ю. и др. Бациллярные и кокковые формы *Helicobacter pylori* в слизистых ротовой полости и антрума желудка (иммуноцитохимическое исследование) // Сибирский медицинский журнал. — 2008. — №. 3–2. — С. 5–9.
3. Alba C., Blanco A., Alarcón T. Antibiotic resistance in *Helicobacter pylori* / Alba C., Blanco A., Alarcón T. // Current opinion in infectious diseases. — 2017. — №. 5. — P. 489–497.
4. Amieva M. R., El-Omar E. M. Host-bacterial interactions in *Helicobacter pylori* infection / Amieva M. R., El-Omar E. M. // Gastroenterology. — 2008. — №. 1. — P. 306–323.
5. Andersen L.P., Rasmussen L. *Helicobacter pylori*-coccoid forms and biofilm formation / Andersen L. P., Rasmussen L. // FEMS Immunology & Medical Microbiology. — 2009. — №. 2. — P. 112–115.

6. Faghri J. et al. Morphological and bactericidal effects of different antibiotics on *Helicobacter pylori* / Faghri J., Poursina F., Moghim S., Esfahani H. Z., Esfahani B. N., Fazeli H., Mirzaei N., Jamshidian A., Safaei H.G. // Jundishapur journal of microbiology. — 2014. — №. 1. — e.8704.
7. Figura, N. et al. Factors modulating the outcome of treatment for the eradication of *Helicobacter pylori* infection / Figura N., Moretti E., Vaglio L., Langone F., Vernillo R., Vindigni C., Giordano N. // New Microbiol. — 2012. — №. 3. — P. 335–340.
8. Gladyshev N., Taame M., Kravtsov V. Clinical and laboratory importance of detecting *Helicobacter pylori* coccoid forms for the selection of treatment / Gladyshev N., Taame M., Kravtsov V. // Gastroenterology review. — 2020. — №. 4. — P. 294–300.
9. Graham D. Y., Fischbach L. *Helicobacter pylori* treatment in the era of increasing antibiotic resistance / Graham D. Y., Fischbach L. // Gut. — 2010. — №. 8. — P. 1143–1153.
10. Kusters J. G., van Vliet A. H. M., Kuipers E. J. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection / Kusters J. G., van Vliet A. H. M., Kuipers E. J. // Clinical microbiology reviews. — 2006. — №. 3. — P. 449–490.
11. Tonkic, A., Vukovic, J., Cindro, P. V., Pisac, V. P., Tonkic, M. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection / Tonkic, A., Vukovic, J., Cindro, P. V., Pisac, V. P., Tonkic, M. // Wiener klinische Wochenschrift. — 2018. — №. 17–18. — P. 530–534.

ИЗУЧЕНИЕ БИОГЕОГРАФИИ РАСОВЫХ ПРИЗНАКОВ У ЛЮДЕЙ ПОВОЛЖЬЯ С УЧЕТОМ ИХ ПРОЯВЛЕНИЯ У УЧАЩИХСЯ ЛИЦЕЯ № 19 Г. ТОЛЬЯТТИ

Курбанова А. А.

ГБОУ ВПО «ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова» Минздрава России,
Санкт-Петербург, Россия

Научные руководители: школьный учитель высшей категории Гайнутдинова Ф. К.,
ст. преподаватель кафедры медицинской биологии ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова
Фёдорова И. С.

Резюме. В связи с недооцененностью ассимиляционных процессов как исторических и эволюционных явлений в мире зачастую возникают межнациональные конфликты. В данной работе проведен анализ ассимиляционных процессов среди людей Поволжья. Целью работы являлось выявление европеоидных и монголоидных генов у народов Поволжья (учащиеся Лицея № 19 в трех поколениях) по их реакции на определённые продукты питания. По результатам у большинства опрошиваемых (примерно 93 %) европеоидных генов больше, чем монголоидных, так как у них преобладают европеоидные признаки. Есть люди (7 %), у которых равное количество европеоидных и монголоидных генов с учётом данных признаков. С помощью карты, которую исследовали в данной работе, можно заметить, что в Поволжье встречаются территории, где процент русских около 50 %. Следовательно, в данной местности встречается достаточное количество народов и национальностей, имеющих много монголоидных генов. Истинные народы Поволжья (татары, чуваша, мордва и др.) составили 24 %. У них количество монголоидных генов больше. Они находятся в средней группе или в группе с максимальными количествами монголоидных генов. Данное исследование демонстрирует глубину ассимиляционных процессов у народов Поволжья и в дальнейшем поможет нивелировать остроту межнациональных противоречий и конфликтов, так как в Поволжье нет людей с чистыми расовыми признаками. В исследовании выявлены респонденты, у которых в нескольких поколениях среди предков встречаются русские (по результатам 4 признаков в генотипе все гены европеоидные, но после исследования были выявлены монголоидные гены). Это свидетельствует о том, что ассимиляционные процессы происходят давно и продолжаются до сегодняшнего дня.

Ключевые слова: европеоидные гены, монголоидные гены, ассимиляционные процессы, раса, генотип, народы, национальности, признаки.

STUDY OF THE BIOGEOGRAPHY OF RACIAL TRAITS IN THE PEOPLE OF THE VOLGA REGION, CONSIDERING THEIR MANIFESTATION IN STUDENTS OF LYCEUM № 19 IN TOGLIATTI

Kurbanova A.A.

First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, Saint Petersburg, Russia

Abstract. Due to the underestimation of assimilation processes as historical and evolutionary phenomena, interethnic conflicts often arise in the world. This work analyzes the assimilation processes among the people of the Volga region. The aim of the work was to identify Caucasoid and Mongoloid genes among the peoples of the Volga region (students of Lyceum № 19 in three generations) by their reaction to certain food products. According to the data obtained, the majority of the respondents (approximately 93%) have more Caucasoid genes than Mongoloid ones, since they are dominated by Caucasian characters. There were respondents (7%) who have an equal number of Caucasoid and Mongoloid genes, taking into account these characteristics. With the help of the map, which was studied in this work, one can see that in the Volga region there are territories where the percentage of Russians is about 50%. Consequently, in this area there is a sufficient number of peoples and nationalities with many Mongoloid genes. The peoples of the Volga region (Tatars, Chuvash, Mordovians, etc.) accounted for 24%. They have more Mongoloid genes. They are in the middle group or in the group with the highest numbers of Mongoloid genes. This study demonstrates the depth of assimilation processes among the peoples of the Volga region and in the future will help to level the severity of interethnic contradictions and conflicts, since there are no people with pure racial characteristics in the Volga region. The study identified respondents who have Russians among their ancestors in several generations (according to the results of 4 traits in the genotype, all genes are Caucasoid, but after the study, Mongoloid genes were identified). This indicates that assimilation processes have been taking place for a long time and continue to this day.

Keywords: Caucasian genes, Mongoloid genes, assimilation processes, race, genotype, interethnic, peoples, nationalities, traits.

Все истинные национальности Поволжья: татары, чувашаи, мордва и другие, имеют в той или иной степени монголоидные признаки, потому что давно проживают на этой территории, и их предки участвовали в ассимиляционных процессах [3]. Однако, эти народы подверглись историческим завоеваниям и другим ассимиляционным процессам, в связи с чем потомки этих национальностей могут иметь европеоидные признаки. Так, монголоидными признаками считаются неусвоение алкоголя и молока, а также наличие сухой ушной серы. Европеоидными признаками считаются усвоение алкоголя и молока, а также наличие влажной ушной серы [1, 2, 6].

Известно, что всасыванию лактозы в кишечнике предшествует ее расщепление на глюкозу и галактозу. Фермент, который расщепляет лактозу на глюкозу и галактозу называется лактаза, и в норме он локализуется на поверхности клеток, выстилающих тонкий кишечник. Нарушение синтеза фермента лактазы, контролируемое рецессивной изоформой соответствующего гена, приводит к нарушению усвоения молока [4].

Расщепление этилового спирта проводится под действием двух ферментов — алкоголь-дегидрогеназы (АДГ) и ацетальдегид-дегидрогеназы (АЦДГ). Алкоголь-дегидрогеназа окисляет спирты и превращает их в кетоны и альдегиды. Ацетальдегидрогеназа окисляет ядовитые ацетальдегиды и преобразует их в уксусную кислоту. Действие этих двух ферментов в организме влияет на переносимость алкогольных напитков, а их соотношение между собой зависит не только от пола, возраста и наследственности, но и от того, к какой расе или народности принадлежит человек. Отсутствие одной из изоформ гена, контролирующего альдегиддегидрогеназу, определяет непереносимость алкоголя и является рецессивным признаком [5].

Ушная сера содержит особые ферменты — лизозимы, которые разрушают клеточные стенки чужеродных бактерий двумя способами. Прежде всего, они задерживают микробы,

действуя подобно липкой бумаге для мух, а затем растворяют бактерии путем биохимических превращений. Ушная сера бывает сухой и влажной. Если она легко мажется по пальцу, то она считается влажной. Известно, что у жителей северного полушария ушная сера более влажная, а у азиатов и представителей южного полушария — сухая. Влажную серу определяет доминантный аллель гена, сухую — рецессивный [5].

Цель. Выявить наличие европеоидных и монголоидных генов у народов Поволжья (ученики Лицея № 19 в трех поколениях) по их реакции на определённые продукты питания, а также типу ушной серы.

Материалы и методы. Для проведения исследования был составлен опросник для выявления реакций организма на продукты питания. Опросник состоял из 4 вопросов, связанных с национальностью, усвоением молока, алкоголя и качеством ушной серы, который прошли ученики лицея № 19 и их родственники. По результатам анкетирования была составлена карта Самарской области, отражающая соотношение монголоидных генов у проживающих на данной территории.

Результаты. У большинства опрошенных (примерно 93 %) европеоидных генов больше, чем монголоидных; выявлено преобладание европеоидных признаков. 7 % респондентов имели количество европеоидных и монголоидных генов с учётом данных признаков. У всех учащихся присутствуют монголоидные гены, их соотношения разные. Были выделены три группы респондентов. В первую группу были отнесены те, у кого от 0 до 10 % монголоидных генов. Во вторую были отнесены учащиеся, имеющие от 11 до 30 % данных генов. И третья группа — это респонденты, у которых от 31 до 50 % монголоидных генов.

По результатам данного исследования была построена карта Самарской области, отображающая распределение населения из указанных выше групп по территории (рис. 1).

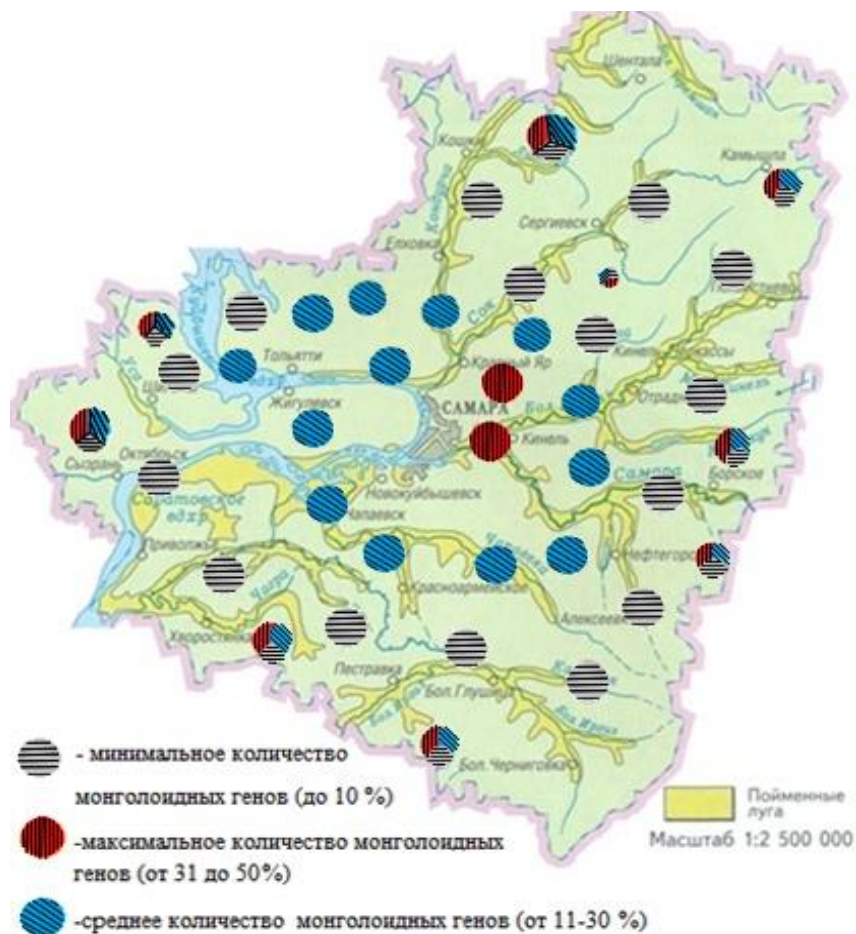


Рисунок 1. Распределение монголоидных генов у жителей Самарской области.

Выводы. Были выявлены европеоидные и монголоидные гены у народов Поволжья по их реакции на определённые продукты питания и типу ушной серы. Данная работа позволяет оценить масштаб и глубину ассимиляционных процессов у людей Поволжья и в дальнейшем поможет нивелировать остроту межнациональных противоречий, поскольку в Поволжье нет людей с чистыми расовыми признаками. Даже русские в трёх поколениях имеют монголоидные гены, что говорит о том, что формирование единой национальности продолжается.

Список литературы:

1. Дробышевский С. В. Происхождение человеческий рас. Закономерности расообразования. Африка. — М.: URSS, 2014. — 400 с.
2. Рогинский Я. Я. Антропология / Левин М. Г. — М.: Высшая школа, 1978. — 528 с.
3. Алексеев В. П. География человеческих рас. — М.: Мысль, 1974. — 351 с.
4. Чирков Ю. Г. Время химер. Большие генные игры. — М.: Академкнига, 2002. — 397 с.
5. Докинз Ричард Расширенный фенотип. Длинная рука гена. — М.: Corpus, 2015. — 512 с.
6. Уэйд Николас Неудобное наследство. Гены, расы и история человечества. — М.: Альпина нон-фикшн, 2018. — 377 с.

ВЛИЯНИЕ ПИЩЕВЫХ ДОБАВОК НА ОСНОВЕ АНТОЦИАНОВ НА РЕГЕНЕРАТИВНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ СПОСОБНОСТИ МОДЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ

Луценко А. Б.

ГБОУ ВПО «ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова» Минздрава России,
Санкт-Петербург, Россия

Научные руководители: магистр ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова
Лебедева Л. П., ст. преп., асс. кафедры медицинской биологии Лаптиев С. А.

Резюме. В современном мире широкое распространение получили биологически активные добавки, влияние которых на организм до конца не изучено, в связи с этим целью работы явилось на основе эксперимента изучить влияние растительных экстрактов антоцианов черного риса на регенеративно-восстановительные способности модельных организмов (*Danio rerio*). В ходе работы сформированы маточное, ремонтное стада, получена икра, молодь рыб, выведены, оценены антоцианы, проведены процедура элиминации хвостового плавника, промеры по основным ихтиологическим параметрам, статистическая обработка результатов и сделаны выводы. Изучено влияние экстрактов из черного риса (*Oryza sativa*), полученных по модифицированной методике (мацерация в водяной бане при 55 градусах), на процессы регенерации *Danio rerio* и предоставлены соответствующие рекомендации. Результаты исследования показали, что антоцианы действовали на рыб, как агент, ингибирующий процессы роста и регенерации. Антоцианы в высоких концентрациях обладают антимиотическим и апоптоз-индуцирующим эффектами, поэтому они могут быть рекомендованы в качестве антиопухолевых агентов при лечении онкологических заболеваний. Высокие концентрации антоцианов замедляют клеточное деление, запуская при этом апоптоз- индуцирующие механизмы и задерживание клеточной пролиферации. Это доказывает их потенциал в борьбе с различными видами новообразований методом локального введения в опухоли, и может быть применено человеком для лечения злокачественных опухолей: рака груди, легких, кожи, желудка; сердечно-сосудистых, нейродегенеративных заболеваний, заболеваний печени и диабета. Работа требует дальнейшего исследования и в будущем благоприятно повлияет на здоровье человека.

Ключевые слова: пищевые добавки, антоцианы, модельные организмы, *Danio rerio*, регенеративно-восстановительные способности, антиопухолевый эффект.

THE EFFECT OF FOOD ADDITIVES BASED ON ANTHOCYANINS ON THE REGENERATIVE ABILITIES OF MODEL ORGANISMS

Lutsenko A.B.

First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, Saint Petersburg, Russia

Abstract. In the modern world, biologically active additives are widespread, the effect of which on the body has not been fully studied. In this regard, the purpose of the paper was to study the effect of plant extracts of anthocyanins of black rice on the regenerative and regenerative abilities of model organisms (*Danio rerio*). In the course of the work, broodstock and replacement herds were formed, eggs and juveniles of fish were obtained, anthocyanins were bred, evaluated, the procedure for elimination of the caudal fin, measurements on the main ichthyological parameters, statistical processing of the results and conclusions were drawn. The effect of extracts from black rice (*Oryza sativa*) obtained by a modified method (maceration in a water bath at 55 degrees) on the regeneration processes of *Danio rerio* was studied and the corresponding recommendations were provided. The results of the study showed that anthocyanins acted on fish as an agent inhibiting growth and regeneration processes. Anthocyanins in high concentrations have antimetabolic and apoptosis-inducing effects; therefore, they can be recommended as antitumor agents in the treatment of oncological diseases. High concentrations of anthocyanins slow down cell division, triggering apoptosis-inducing mechanisms and delaying cell proliferation. This proves their potential against various types of neoplasia by the method of local injection into tumors, and can be used by humans to treat malignant tumors: breast, lung, skin, stomach cancer; cardiovascular, neurodegenerative diseases, liver diseases and diabetes. The work requires further research and will have a beneficial effect on human health in the future.

Keywords: food additives, anthocyanins, model organisms, *Danio rerio*, regenerative abilities, anti-tumor effect.

Danio rerio — распространенный модельный организм, использующийся в исследованиях в рамках фундаментальной генетики, молекулярной биологии, биологии развития, а также токсикологии и радиобиологии [1, 2]. *Danio rerio* широко применяются для исследования биологических эффектов различных молекулярных агентов на организм [3, 4]. При исследовании влияния факторов на процессы регенерации *in vivo* зачастую используют восстановление хвостового плавника *Danio rerio* как модельную систему [5, 6].

Существуют данные, что пищевые биологически активные добавки растительного происхождения, антоцианы, обладают апоптоз-индуцированным эффектом, а также ингибируют пролиферацию клеток [7, 8].

Цель. Изучение влияния антоцианов черного риса на скорость и эффективность регенерации хвостового плавника у рыб *Danio rerio*.

Задачи исследования:

1. Выделение антоцианов;
2. Проведение процедуры элиминации хвостового плавника;
3. Оценка степени восстановления хвостового плавника;
4. Определение зависимости эффективности регенерации от влияния антоциан-содержащих пищевых добавок.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования была использована молодь *Danio rerio*, достигшая 4-месячного возраста. В качестве активного вещества были использованы экстракты антоцианов, выделенные из черного риса. Для эксперимента были отобраны рыбы, не имеющие видимых признаков заболеваний или патологий. Все стадии эксперимента проводились в соответствии с требованиями, предъявляемыми комитетом по биоэтике и биобезопасности.

Для получения маточного стада основным критерием отбора являлись форма тела, возраст, отсутствие видимых признаков заболеваний, отсутствие ран, инфекций и паразитарных инвазий. В качестве производителей были отобраны рыбы среднего размера и веса во избежание неоднородности маточного поголовья. Параллельно с созданием маточного

стада осуществлялось создание ремонтного стада для поддержания и пополнения популяции производителей после нереста. Было отобрано 10 самцов среднего размера 3 см и 15 самок среднего размера 4–4,5 см. Готовность самок к нересту определялась визуально раздутым низу брюшком. В качестве производителей использовался небольшой полностью прозрачный аквариум без почвы и растений. Самцы и самки помещались в нерестовик с вечера, а наутро происходил процесс икрометания. Отнерестившихся особей помещали в обратно к производителям. Через две недели после выклева мальки были высажены в просторный аквариум емкостью 140 литров. По достижению молодью 4 месяцев была проведена процедура элиминации хвостового плавника.

Перед процедурой все рыбы помещались в раствор лидокаина в концентрации 1 мл активного вещества на 100 мл воды на 3–5 минут. С помощью штангенциркуля измерялась длина тела рыбы от начала рострума до окончания самого длинного луча хвостового плавника (TL) и от окончания хвостового стебля до окончания хвостового луча (LCF). После промеров хвостовой плавник отсекался с помощью лезвия. Так как для оценки влияния антоцианов было необходимо исключить влияние иных факторов, сразу после процедуры элиминации хвостового плавника и в течение нескольких дней после была проведена визуальная оценка состояния рыб с помощью теста Павлова, реакции на свет, скорости выедания корма и других основных поведенческих тестов.

В качестве источника антоцианов был выбран черный рис. В качестве растворов использовались дистиллированная вода, изопропиловый и этиловый спирты с различной процентной долей соляной кислоты. 2,5 г риса помещали в ручную мельницу и перемалывали до состояния однородного порошка. Получившуюся навеску замачивали в 25 мл экстрагента и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре. После, 1 мл раствора переливали в пробирку, центрифугировали, сливали осадок, разбавляли в 100 раз и измеряли его оптическую плотность при длине волны 538 нм. В качестве контроля использовался сам растворитель. Благодаря ряду опытов были выявлены оптимальные условия и время мацерации для экстракции антоцианов. Использование метилового спирта вместо этилового и помещение раствора в водяную баню на один час, позволило увеличить выход антоцианов более, чем в два раза по сравнению с этиловым спиртом. Для дальнейшего использования антоцианов *in vivo* необходимо было удалить органический растворитель. Для этого смесь упаривали в вакуумно-ротаторном испарителе при температуре 55°C в течение часа до полного испарения жидкости. Затем полученный осадок разбавляли 100 мл дистиллированной воды, перемешивали и определяли оптическую плотность при различных разведениях. После этого методом pH-спектрофотометрии была определена концентрация антоцианов. Расчет концентрации антоцианов производили по формуле: $(A \times MW \times DF \times 1000) / (\epsilon \times l)$,

$$A = (A_{520} - A_{700})_{pH\ 1.0} - (A_{520} - A_{700})_{pH\ 4.5}$$

MW — молекулярный вес 449,2

DF — количество разведений

ϵ — молярная абсорбционная способность 26 900.

Для эксперимента было использовано 264 рыбы, длина которых варьировалась от 1,3 и до 3,7 см. Перед началом эксперимента рыбы были разделены на контрольную и опытную группу в равных пропорциях. С помощью микроскопа Motic и программного обеспечения Motic Images Plus 3.0 были сделаны фотографии среза хвостового плавника. В процессе ампутации не были задеты ни кровеносные сосуды, ни позвонки хвостового стебля. Сразу после элиминации хвостового плавника рыбы отсаживались в садок, где проводилась визуальная оценка их состояния.

В течение 30 дней с начала эксперимента рыбам в контрольной группе давалась смесь сухого коммерческого с живым кормом, а в опытной — та же смесь, но с добавлением экстракта антоцианов. Каждые семь дней после ампутации хвостового плавника были проведены повторные промеры. Помимо еженедельных промеров проводилась визуальная оценка физического состояния и поведения особей.

Статистическая обработка данных проводилась в программе Excel, с использованием теста Стьюдента для проверки равенства средних значений в двух независимых выборках.

Результаты. Ампутанты в отличие от рыб, еще не прошедших процедуру сечения, демонстрировали скученность, вели себя пассивно. Такое поведение свидетельствует о стрессе, испытываемом рыбами после ампутации. Через час все рыбы успешно прошли тесты и ничем не отличались от особей с хвостом. В контрольной группе вспышек смертности не наблюдалось, тогда как в экспериментальной группе рыбы продолжали гибнуть без видимых на то причин. Через семь дней после ампутации наметились различия в длине хвоста и в длине тела — в контрольной группе особи набирали вес и росли, а в эксперименте рост и набор массы значительно замедлился (табл. 1). Одним из основных параметров, определяющих здоровье рыб, является скорость выедания корма. В контроле она составила 5 минут при стопроцентном выедании, а в эксперименте — 11 минут при неполном выедании. Через две недели после начала нами были проведены промеры, результаты которых показаны в таблице. Так как t_{epm} больше, нежели его критическое значение, разница между длинами рыб сохраняется. В контроле регенерационные процессы протекают интенсивнее. Через три недели статистически значимая разница между контрольной и экспериментальной группами сохраняется. Очевидно, что антоцианы действовали на рыб как агент, ингибирующий процессы пролиферации клеток. Опираясь на полученные результаты, мы можем сказать, что высокая концентрация антоцианов (15% от общей навески корма) вызвала остановку как в амитотическом, так и в митотическом циклах и спровоцировала ухудшение состояния рыб. Это привело к паталогическим изменениям в структуре хвостового плавника. Чтобы проверить гипотезу, через три недели после начала эксперимента экспериментальная группа была переведена на обычные корма без антоцианов и за неделю практически сравнялась с контрольной группой по длине тела. А вот хвостовой плавник все еще был короче, чем у контрольных особей. Проанализировав полученные результаты, мы пришли к выводу, что наибольший разрыв между субпопуляциями был достигнут через две недели после элиминации (рис. 1). Вместе с ростовыми процессами, была ингибирована и скорость регенерации хвостового плавника. В контроле уже через неделю наметились существенные различия, а через три недели различия достигли максимального значения. Несмотря на то, что рыбы, четвертую неделю получавшие обычный корм, смогли сравнять показатели длин, хвостовой плавник так и остался значительно короче контрольного, что дает нам основания предположить, что антоцианов оказали критическое влияние на восстановительные процессы.

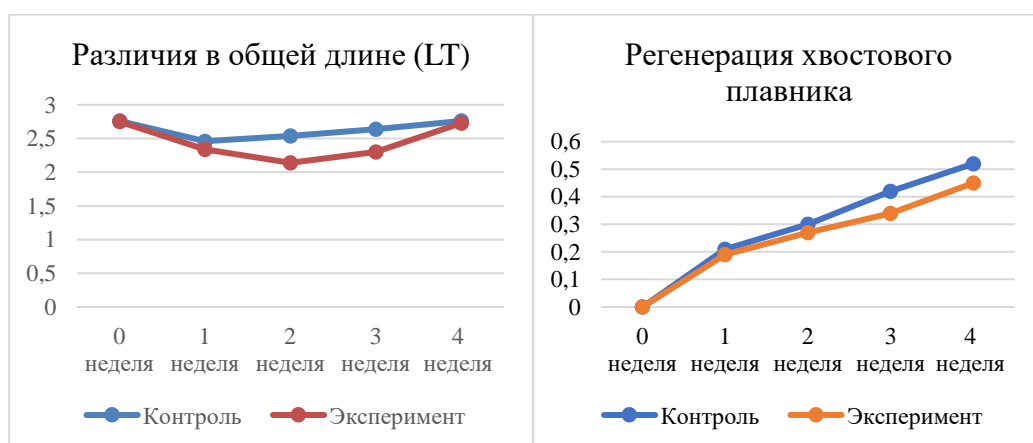


Рисунок 1. График увеличения длины рыбы (LT) и длины хвостового плавника (TCF).

Отрицательная разница между начальной и конечной длинами обусловлена высокой смертностью в обеих выборках, которая достигла своего пика в первую неделю после элиминации (табл. 1). В контроле смертность была незначительно выше нормы.

Таблица 1. Число погибших особей в контрольных и экспериментальных группах

Срок	Контроль	Эксперимент
0 неделя	132	132
1 неделя	119	124
2 неделя	103	88
3 неделя	89	70
4 неделя	76	67
Отход общий	56	65

Смертность в экспериментальной группе продолжала расти даже после перевода рыб на полноценный корм. Мы предполагаем, что это связано с долгосрочным кумулятивным эффектом антоцианов, которые, проходя процесс биотрансформации, продолжали оказывать негативное влияние на физиологические процессы рыб.

Выводы. Проанализировав полученные данные, мы пришли к выводу, что высокие концентрации антоцианов обладают апоптоз-индуцированным эффектом и способны запускать процессы запрограммированной клеточной смерти не только раковых и опухолевых клеток, но и здоровых. Экстракты антоцианов в больших концентрациях могут применяться для локального введения в опухоли, может быть применено человеком для лечения злокачественных опухолей: рака груди, легких, кожи, желудка; сердечно-сосудистых, нейродегенеративных заболеваний, заболеваний печени и диабета.

Список литературы:

1. Oppenheimer J.M. Structures developed in amphibians by implantation of living fish organizer/ Oppenheimer J.M. // *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. — 1936. — № 34. — P. 461–463.
2. Kimmel C.B., Ballard W.W., Kimmel S.R., Ullmann B., and Schilling T.F. Stages of embryonic development of the zebrafish./ Kimmel C.B., Ballard W.W., Kimmel S.R., Ullmann B., and Schilling T.F. // *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*. — 1995. — № 203. — P. 253–310.
3. Sprague J. et al. The Zebrafish Information Network (ZFIN): the zebrafish model organism database. / Sprague J., Clements D., Conlin T., Edwards P., Frazer K., Schaper K., Segerdell E., Song P., Sprunger B., and Westerfield, M. // *Nucleic acids research*. — 2003. — № 31(1). P. 241–243.
4. Klisa C. et al. Identification and characterization of novel zebrafish brain development mutants by large-scale mutagenesis screening. / Klisa C., Bayley P., Lyons D.A., Nüsslein-Volhard C., Clarke J.D.W., Brand M., Wilson S.W. // *Developmental Biology*. — 2002. — № 247(2). — P. 447.
5. Pfefferli C., Jaźwińska A. The art of fin regeneration in zebrafish. / Pfefferli C., Jaźwińska A. // *Regeneration (Oxf)*. — 2015. — № 2(2). — P. 72–83.
6. Goessling W, North T.E. Repairing quite swimmingly: advances in regenerative medicine using zebrafish. / Goessling W, North T.E. // *Disease Models & Mechanisms*. — 2014. № 7(7). — P. 769–776.
7. Andersen Ø.M., Jordheim M. The anthocyanins. In *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*, ed. Ø.M. Andersen, K.R. Markham. — Boca Raton, FL: CRC Press. 2006. — P. 471–552.
8. Fossen, T., Andersen Ø. M., Øvstedal D. O., Pedersen A.T., Raknes Å. Characteristic anthocyanin pattern from onions and other *Allium* spp. / Fossen, T., Andersen Ø. M., Øvstedal D. O., Pedersen A. T., Raknes Å. // *Journal of Food Science*. — 1996. — № 61. — P. 703–706.

ДИНАМИКА СООТНОШЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ АЭРОБНОЙ ПРОИЗВОДИТЕЛЬНОСТИ И АНАЭРОБНОЙ МОЩНОСТИ У КУРСАНТОВ ВОЕННО-МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИИ ЗА ДВА ГОДА

Поспелова А. А.

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» МО РФ,
г. Санкт-Петербург, Россия

Научный руководитель: преподаватель кафедры биологии ВМедА К. Г. Стрельцова

Резюме. Важной составляющей боевой подготовки военнослужащих является выработка физической выносливости и ловкости, способности переносить физические нагрузки в сложной обстановке. Проводилось сравнение показателей физической подготовленности (сила, быстрота и выносливость) у курсантов Военно-медицинской Академии им. С. М. Кирова в динамике за два года. Исследовалось наличие корреляционных связей между показателями физической подготовки и максимальными аэробной и анаэробной мощностью. Проведенные исследования показали, что значение аэробной производительности практически не изменилось, в то время как максимальная анаэробная мощность достоверно улучшились. При использовании методики PWC170 удалось показать, что изменения затронули только значения аэробной производительности и выносливости. За два года наблюдений отсутствовала динамика прямых показателей работоспособности (скорость, сила). При этом в исследовании наблюдалось достоверное улучшение показателей выносливости. Изменения показателей выносливости коррелируют с показателями PWC170 и максимальной анаэробной мощности. Результаты экспериментов могут быть использованы для контроля физической работоспособности военнослужащих и динамики важнейших показателей в процессе службы или обучения.

Ключевые слова: максимальная аэробная мощность, максимальная анаэробная мощность, физическая работоспособность, физическая подготовленность, парная корреляция, курсанты, ВМедА.

THE RATIO OF INDICATORS OF AEROBIC PERFORMANCE AND ANAEROBIC CAPACITY DYNAMIC AMONG CADETS OF THE MILITARY MEDICAL ACADEMY FOR TWO YEARS

Pospelova A.A.

S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

Abstract. An important component of training of military contingent is the development of physical endurance and dexterity, the ability to provide physical activity in a difficult environment. A comparison was made of the indicators of physical fitness (strength, speed and endurance) among the cadets of the S.M. Kirov Military Medical Academy in dynamics for two years. The presence of correlations between the indices of physical fitness and the maximum aerobic and anaerobic power was investigated. The conducted studies have shown that the value of aerobic production practically did not change, while the maximum anaerobic capacity significantly improved. Using the PWC170 methodology, it was possible to show that the changes affected only the values of aerobic production and endurance. For two years of observation, there was no dynamics of direct indicators of working capacity (speed, strength). At the same time, the study showed a significant improvement in endurance indicators. Changes in endurance scores correlate with PWC170 scores and maximum anaerobic capacity. The experimental results can be used to control the physical performance of military contingent and the dynamics of the most important indicators in the process of service or training.

Keywords: maximum aerobic capacity; maximum anaerobic capacity; physical performance; physical fitness; pair correlation, cadets, Kirov Military Medical Academy.

Служба в вооруженных силах может быть зачастую сопряжена с действием различных неблагоприятных эколого-профессиональных факторов, одним из которых является напряженная физическая деятельность [1–4]. Поэтому важной составляющей

боевой подготовки военнослужащих является выработка физической выносливости и ловкости, способности переносить физические нагрузки в сложной обстановке [5].

Говоря о физических нагрузках, нельзя обойти вниманием роль и значение темпа работы, который обуславливает сонатроенность функциональных систем организма, участвующих в работе, и способствует созданию так называемого «рабочего ансамбля». Превышение темпа работы ведет к снижению ее надежности, к резким вегетативным изменениям, нарушению зрительно-моторной координации, ухудшению функции слухового анализатора. Происходит такое уплотнение сенсомоторных действий, при котором обнаруживается неспособность центральных механизмов обеспечить слаженность взаимодействия различных функциональных систем. Следствием этого является возникновение утомления.

В теле человека находится два основных типа мышц: медленно сокращающиеся волокна, которые ещё именуют «красными» из-за высокого содержания миоглобина (красного мышечного пигмента) и быстро сокращающиеся волокна («белые» — из-за небольшого содержания миоглобина) [6]. Медленные мышечные волокна — красные. Скорость сокращения медленных мышечных волокон, как следует из названия очень низкая (до 20% от максимума), но они могут выполнять длительную непрерывную работу. Динамическая работа, длительный бег, плавание или велогонка относятся к видам двигательной активности, которые определяются медленными мышечными волокнами.

Белые мышечные волокна выполняют высокоскоростные движения, которые характеризуются большой или взрывной силой (от 40% до 100% от максимума сокращения), однако утомляются они значительно раньше, чем красные. За одно мышечное сокращение оба типа волокон производят одинаковую работу, однако белые клетки делают это значительно быстрее.

Отдельно выделяют два подтипа белых мышечных волокон. Подтип Па — промежуточные волокна. Они могут использовать как кислородный и бескислородный обмен веществ для продукции энергии сокращения в равной степени. Эти волокна представляют собой нечто среднее между быстрыми и медленными (от 25% до 40% максимального сокращения). Подтип Пб — это истинные быстрые мышечные волокна, они используют только анаэробный обмен веществ, обладают максимальной силой и скоростью сокращений. Все тренировочные программы рассчитаны на данный тип волокна скелетной мускулатуры. Бег на короткие дистанции, боевые рукопашные схватки обусловлены активностью данного типа волокон. По сравнению с медленными, быстрые волокна могут в два раза быстрее сокращаться и развивать в 10 раз большую силу [7].

Соотношение медленных и быстрых мышечных волокон генетически обусловлено, что является основой для определения предрасположенности человека к тому или иному типу двигательной активности и соответственно виду профессиональной деятельности, связанной с физическими нагрузками.

Цель исследования. В данной работе представлено исследование динамики показателей аэробной производительности, максимальной анаэробной мощности, а также динамики физической подготовки курсантов 1 и 2 курса Военно-медицинской академии.

Материалы и методы. В исследовании, продолжавшемся два года, принимали участие 18 курсантов в возрасте 18–20 лет. Оценка физической работоспособности испытуемых производилась по методике PWC_{170} , тестам «Максимальная анаэробная мощность» и «Максимальная физическая работоспособность» (ΣA). Методика PWC_{170} заключалась в выполнении двух нагрузок разной мощности и расчета величины PWC_{170} исходя из значений пульса после каждой нагрузки. В тесте «Максимальная анаэробная мощность» определялась мощность бега вверх по лестнице с максимальной скоростью. Лестница, длиной примерно 5 м, высотой подъёма 3,5 м, наклоном — более 30° С пробегается за 5–6 с. (примерное время максимального бега). Исследования для теста «Максимальная физическая работоспособность» проводились на велоэргометре (ПТ–400)

по методике выполнения ступенчато-возрастающей нагрузки до отказа. Между ступенями нагрузки — 1 минута отдыха.

Все аналогичные тесты были проведены в той же группе через год.

В качестве показателей физической подготовленности использовались данные, полученные при сдаче испытуемыми нормативов на кафедре физической подготовки Военно-медицинской Академии.

Результаты. Полученные результаты позволили определить показатели максимальной аэробной мощности (физической работоспособности), максимальной анаэробной мощности (МАМ), их динамику в течение указанного периода (2 года), а также вычислить коэффициент парных показателей между физической подготовленностью и показателями аэробной и анаэробной работоспособности. Данные измерения и определяют актуальность проводимого исследования для выяснения корреляции изменения результатов при выполнении нормативов по физической подготовке и максимальной анаэробной мощности и физической работоспособности испытуемых.

Проведенные исследования показали, что значение аэробной производительности PWC170 практически не изменилось. Значения МАМ — максимальной анаэробной мощности — достоверно улучшились. Что касается корреляции физической подготовки и PWC170 изменения затронули только значения аэробной производительности и выносливости.

Выводы. За два года наблюдений нам удалось показать отсутствие динамики прямых показателей работоспособности (скорость, сила). Но наблюдается достоверное улучшение показателей выносливости. Изменения показателей выносливости коррелирует с показателями PWC170 и МАМ. Результаты данных экспериментов могут быть использованы для контроля физической работоспособности военнослужащих и динамики важнейших показателей в процессе службы или обучения. Данные исследования будут продолжены, мы постараемся показать дальнейшее формирование коррелятивных связей.

Список литературы

1. Наставление по боевой подготовке в Вооруженных Силах Российской Федерации. — М. — 2013 г. — 219 с.
2. Войтенко В. М. Психофизиология безопасности операторской деятельности / В. М. Войтенко — СПб.: ВМедА, 2005. — 68. с.
3. Гладько В. В. Оценка состояния здоровья и адаптационных возможностей военнослужащих / В. В. Гладько, С. А. Масюкова, Н. Н. Кахишвили // Воен.-мед. журн. — 2010. — Т. 331, № 3. — С. 20–24.
4. Апчел В. Я. Стресс и стрессоустойчивость человека в повседневных и экстремальных условиях / В. Я. Апчел — СПб.: ВИФК, 1997.— 69. с.
5. Полиевский С. А. Физкультура и профессия / С. А. Полиевский, И. Д. Старцева. — М.: Физкультура и спорт, 1988. —161. с.
6. Солодков А. С. Физиология человека. Общая. Спортивная. Возрастная: учебник / А. С. Солодков, Е. Б. Сологуб. —4-е изд, испр. и доп. — М.: Советский спорт, 2012.
7. Руководство к практическим занятиям по физиологии человека: учебн. пособие для вузов физической культуры/под ред. проф. А. С. Солодкова; СПбГУФК им. П. Ф. Лесгафта. — М.: Советский спорт, 2006. — 192 с.

РАДИОПРОТЕКТОРЫ И РАДИОСЕНСИБИЛИЗАТОРЫ — ХИМИЧЕСКИЕ АГЕНТЫ, МОДУЛИРУЮЩИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КЛЕТОК К ИОНИЗИРУЮЩЕМУ ОБЛУЧЕНИЮ

Привалов М. П.

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» МО РФ,
Санкт-Петербург, Россия

Научный руководитель: преподаватель кафедры биологии ВМедА А. А. Ливанова

Резюме. В данной работе проанализированы существующие литературные данные по радиопротекторам и радиосенсибилизаторам. Радиопротекторами называют молекулярные агенты, которые при введении их в живой организм до облучения существенно снижают степень лучевого воздействия на организм. Наиболее известные радиопротекторы — цистамин, В-190, амифостин, диэтилстильбестрол. Перечисленные препараты прошли клинические испытания и активно используются при лучевой терапии, входят в состав индивидуальных медицинских наборов для военнослужащих, работников АЭС и служащих других производств, связанных с риском воздействия ионизирующего излучения. Радиосенсибилизаторы применяются как вещества, стимулирующие радиочувствительность клеток, и используются в основном при лучевой терапии, а также в различных радиобиологических исследованиях. Потенциал стандартных методов лучевой терапии ограничен в связи с невозможностью подведения к опухоли больших доз, необходимых для радикального лечения. В условиях стандартной лучевой терапии повышение эффекта ионизирующих излучений даже без увеличения дозы можно получить, применяя радиосенсибилизаторы. Наиболее часто используемые в терапевтической и исследовательской работе радиосенсибилизаторы — цисплатин, фторурацил, гемцитабин. Перечисленные выше вещества имеют различные фармакокинетику и фармакодинамику, в связи с чем необходим квалифицированный подход к подбору агента с учетом исследовательской задачи.

Ключевые слова: радиопротекторы, радиосенсибилизаторы, лучевая терапия, лучевое воздействие, лучевое поражение, ионизирующее излучение, анализ данных.

RADIOPROTECTORS AND RADIOSENSITIZERS — CHEMICAL AGENTS MODULATING THE SENSITIVITY OF CELLS TO IONIZING RADIATION

Privalov M.P.

S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

Abstract. This work analyzes the existing open literature data on radioprotectors and radiosensitizers. Radioprotective agents are molecular agents that, when introduced into a living organism before irradiation, significantly reduce the degree of exposure to ionizing radiation on the body. Well-known radioprotectors are cystamine, B-190, amifostin, diethylstilbestrol. The listed drugs have passed clinical trials and are actively used in radiation therapy, are part of individual medical kits for military personnel, nuclear power plant workers and employees of other industries associated with the risk of exposure to ionizing radiation. Radiosensitizers are substances that stimulate the radiosensitivity of cells and are used mainly in radiation therapy, as well as in various radiobiological studies. The application of standard methods of radiation therapy is limited due to the impossibility of delivering large doses to the tumor, which are necessary for radical treatment. Under the conditions of standard radiation therapy, an increase in the effect of ionizing radiation even without dose raising can be obtained by using radiosensitizers. The most commonly used radiosensitizers in therapeutic and research work are cisplatin, fluorouracil, and gemcitabine. The substances listed above have different pharmacokinetics and pharmacodynamics, therefore, each drug is suitable only for a narrow task. Taking into account the existing variety of radioprotectors and radiosensitizers, a qualified approach to the selection of an agent is required, taking into account the research goal.

Key words: radioprotectors, radiosensitizers, radiation effects, radiation exposure, radiation therapy, ionizing radiation, data analysis.

В данной работе представлен анализ литературных данных о радиопротекторах и радиосенсибилизаторах с целью глубокого изучения свойств и назначения каждого из них.

Множество радиопротекторов и радиосенсибилизаторов находятся на различных стадиях доклинических и клинических испытаний. При этом в качестве модельных животных для доклинических исследований выступают грызуны, кролики, приматы и водные организмы (например, рыбы *Danio rerio*, [15]). Понимание особенностей химического агента лежит в основе целесообразного подбора препарата для конкретной исследовательской или клинической задачи.

Радиопротекторы — это преимущественно синтетические агенты, которые при введении в живой организм до облучения существенно снижают поражающее действие ионизирующего излучения. При этом стоит понимать, что большинство радиопротекторов оказываются неэффективными при их использовании после лучевого воздействия [1,8]. В настоящий момент известен широкий спектр радиопротекторов. Эти вещества обладают различными механизмами действия, эффективностью, побочными проявлениями, способами применения и т. д. Необходим квалифицированный подход к подбору агента с учетом исследовательской задачи.

Цистамин (препарат РС-1). Используется для профилактики радиационных поражений. Цистамин принимают в количестве 1,2 г (6 таблеток по 0,2 г), запивая водой, не разжевывая, за 30–60 мин до лучевого воздействия. Радиозащитный эффект после однократного приема препарата сохраняется в течение 4–6 ч. Применение цистамина сопровождается побочными эффектами, прежде всего нарушениями со стороны желудочно-кишечного тракта и сердечно-сосудистой системы. Действие данного радиопротектора основано на интенсивной нейтрализации через дисульфидные связи свободных радикалов, образующихся под воздействием ионизирующей радиации [2]. После приема внутрь быстро и полностью всасывается из ЖКТ. Выводится препарат преимущественно через мочеполовую систему. Цистамин применяют для профилактики воздействия ионизирующего излучения, например, для предупреждения осложнений при лучевой терапии.

Б-190 (индралин) относится к α_1 -адреномиметикам прямого действия. Препарат в измельченном виде применяют внутрь в дозе 0,45 г (3 таб.), за 15–20 мин до предполагаемого облучения. Допускается повторный прием препарата с интервалом 1 ч. Механизм защиты препаратов этой группы связывают со спазмом сосудов и циркуляторными изменениями кровоснабжения в радиочувствительных органах и тканях, в результате чего развивается гипоксия, определяющая защиту этих тканей. Препарат Б-190 входит в состав индивидуальных аптечек военнослужащих и работников атомных электростанций. По результатам исследований применение данного радиопротектора спасает жизнь 9 из 10 людей, впоследствии находившимся в условиях со смертельным радиационным фоном [13]. В настоящее время является самым эффективным радиопротектором в мире.

Амифостин применяется при химио- и радиотерапии онкологических больных для снижения поражения тканей, не вовлеченных в опухолевый рост. Используется для защиты от цитотоксического действия алкилирующих препаратов, митомицина С, препаратов платины [4,5]. Амифостин снижает цитопению и увеличивает скорость восстановления числа нейтрофилов и тромбоцитов после курса химиотерапии. Снижает лучевое поражение кожи, слизистой кишки и слюнных желез. Препарат применяют один раз в сутки в дозе 200–500 мг/м² поверхности тела за 30 минут перед каждым облучением внутривенно в течение 15 минут и в дозе 750–900 мг/м² за 30 минут до введения цитостатика [5]. Характерно проходящее снижение систолического, реже — повышение диастолического давления, покраснение лица с ощущением тепла, иногда кратковременные обмороки. При приеме часто развивается тошнота, рвота, икота; в этой связи рекомендуют до или вместе с введением амифостина принимать противорвотные средства.

Диэтилстильбестрол (ДЭС или РДД). ДЭС принимают внутрь в количестве 25 мг (1 таблетка по 0,025 г), за 1–2 суток до возможного облучения, что приводит к повышению резистентности организма на 10–14 суток [8]. В основе механизма защитного действия лежит состояние гиперэстрогенизма, которое определяет повышение резистентности

фосфолипидов мембран к процессам свободно-радикального окисления и повышает антиоксидантную активность лимфы в целом [6].

Радиосенсибилизаторы — химические агенты, которые увеличивают восприимчивость клетки к действию ионизирующего излучения. Это свойство активно используется в лучевой терапии для того, чтобы ввести радиосенсибилизатор в раковую опухоль, увеличивая эффективность облучения больного при радиотерапии. Известно, что при облучении клеток происходит каскад физических, химических, биологических и биохимических процессов, так или иначе приводящих к повреждению ДНК. Таким образом, в результате лучевой терапии формируются одностранные или двустранные разрывы в структуре ДНК. Одностранные разрывы быстро восстанавливаются, а разрывы двух нитей репарируются неэффективно, что приводит к гибели клеток [7]. Появление этих данных инициировало поиск препаратов, способных повлиять на репарационные процессы повреждений ДНК. Таким образом, были предложены первые радиосенсибилизирующие цитотоксические агенты: цисплатин, приводящий к увеличению повреждений ДНК, и 5-фторурацил, который ингибирует репарацию ДНК.

Цисплатин (цис-диаминдихлорплатина-II) — радиосенсибилизатор, содержащий в своем составе платину. Цитотоксическое действие цисплатина вызвано связыванием всех оснований ДНК, особенно гуанина и аденина [12]. Формирование перекрестных связей (сшивок) внутри нитей ДНК и между ними приводит к подавлению синтеза ДНК, угнетению синтеза белка и РНК [14]. Известны и другие механизмы воздействия цисплатина на новообразование; так, он повышает иммуногенность опухолей. Онколитическое действие цисплатина напоминает действие алкилирующих веществ. Цисплатин также имеет иммуносупрессивные и антибактериальные свойства и повышает чувствительность к облучению. Действие цисплатина на клетки не зависит от фазы цикла. После введения цисплатина часто наблюдаются тошнота, рвота, диарея. У большинства пациентов эти симптомы проходят в течение 24 часов. Тошнота и анорексии могут длиться до 7 дней после введения препарата. Цисплатин имеет множественные побочные эффекты: ототоксичность, аллергические реакции, нефротоксичность. Токсичность может увеличиваться при взаимодействии с другими препаратами. Цисплатин является одним из самых широко применяемых радиосенсибилизаторов в России.

5-фторурацил является активным антиметаболитом урацила и превращается в 5-фтордезоксифосфат, блокирующий активность тимидилатсинтетазы. В результате блокируется синтез тимидинмонофосфата из дезоксиуридинмонофосфата; вместо тимидинтрифосфата, без которого невозможен синтез ДНК, образуется фтордезоксифосфат [9,10]. При этом нарушается репликация и репарация ДНК, что приводит к апоптозу клетки. 5-фторурацил особенно эффективен в виде длительной непрерывной инфузии и способствует аккумуляции клеток в S-фазе клеточного цикла. 5-фторурацил часто используется в комбинации с лучевой терапией при опухолях головы и шеи, раке пищевода, желудка, поджелудочной железы и шейки матки [10]. Противоопухолевую активность 5-фторурацила можно усилить, если подвергнуть злокачественные клетки воздействию высокоинтенсивных доз препарата в течение длительного времени. По этой причине были предприняты многочисленные попытки разработать методы введения, которые удлинили бы время воздействия 5-фторурацила на ткань опухоли. Клинические исследования показали неудобство непрерывной инфузии. Поэтому в последние годы стали появляться препараты нового класса фторпиримидинов для перорального применения, способные имитировать непрерывную инфузию 5-фторурацила, улучшить эффективность лечения и уменьшить токсичность. При этом концентрация 5-ФУ в первичной опухоли гораздо выше, чем в здоровых тканях или плазме, очевидно, благодаря более высокой активности тимидинфосфорилазы в ткани опухоли.

Гемцитабин (*Гемзар*) инкорпорируется в ДНК вместо физиологического цитидинтрифосфата, вызывая нарушение репликации и репарации ДНК. При этом

гемцитабин встраивается в предпоследнее положение нити ДНК, что маскирует включение в нее модифицированного нуклеотида, поскольку затем идет нормальный нуклеотид. В результате действие экзонуклеаз, ответственных за распознавание и удаление поврежденного нуклеотида ДНК, заблокировано. Гемцитабин обладает способностью задерживать клетки в ранней S-фазе и увеличивает количество радиочувствительных клеток путем их задержки на границе G₁/S-фаз. Благодаря этому происходит аккумуляция клеток в радиочувствительных фазах. Стандартным режимом гемцитабина является 800–1250 мг/м² 1 раз в неделю в течение 3–4 недель. В недавнем исследовании новый режим гемцитабина был применен у больных с немелкоклеточным раком легкого [11]. Препарат в дозе 50–100 мг/м² вводился 2 раза в неделю в течение 6 недель. С радиосенсибилизирующей целью гемцитабин применялся на фоне конформальной лучевой терапии. Частота полных и частичных регрессий составила 88%, медиана выживаемости — 18 мес. Данный режим введения гемцитабина основывался на исследованиях Lawtence, который показал, что радиосенсибилизирующий эффект гемцитабина наступал через 48–72 часа после его введения. Исследование указывает на высокую эффективность лечения и приемлемую токсичность.

Выводы. Множество радиопротекторов и радиосенсибилизаторов используется в клинике с разными терапевтическими и исследовательскими целями. Выбор химического агента, изменяющего чувствительность клетки к действию ионизирующего излучения, зависит от клинической задачи и должен производиться исходя из строгих принципов понимания действия выбранного вещества.

Список литературы

1. Ильин Л. А. Противолучевые средства в системе радиационной защиты персонала и населения при радиационных авариях / Л. А. Ильин, И. Б. Ушаков, М. В. Васин // Медицинская радиология и радиационная безопасность. — 2012. — Т. 57, № 3. — С. 26–31.
2. Лукашин Б. П., Софронов Г. А. Радиозащитное действие цистамина и гепарина на мышцах с различной резистентностью. / Лукашин Б. П., Софронов Г. А. // Успехи современной биологии. — 2019. — № 139(3). — С. 544–546.
3. Васин М. В., Чернов Г. А., Королева Л. В. и др. К механизму противолучевого действия индралина. / Васин М. В., Чернов Г. А., Королева Л. В. и др. // Радиационная биология. — 1996. — № 36. — С. 36–48.
4. Бычков М. Б. // Этиол (амифостин) препарат для профилактики различных видов токсичности при химиотерапии злокачественных опухолей. Симпозиум по онкоурологии. — М., 1998. — С. 16–18
5. Budd G. T. et al. Amifostine: potential for clinically useful cytoprotection. / Budd G. T., Lorenzi V., Ganapathi R., Adelstein D., Pelley R., Olencki T., McLain D., Bukowski R.M. // Supportive Care in Cancer. — 1994. — № 2. — P. 380–384.
6. Rykowska I., Wasiak W. Vesicular coacervative extraction of bisphenols and their diglycidyl ethers from sewage and river water. / Rykowska I., Wasiak W. // Acta Chromatogr. — 2006. — № 16. — P. 7–13.
7. Цыб А. Ф. Терапевтическая радиология. / Цыб А. Ф., Мардынский Ю. С. — М.: Медицинская книга, 2010. — 552 с.
8. Романцев Е. Ф. Радиация и химическая защита. (Изд. 2-е, переработ. и доп.). / Романцев Е. Ф. — М.: Атомиздат, 1968. — 248 с.
9. Roosild T.P., Castronovo S. Active site conformational dynamics in human uridine phosphorylase 1. / Roosild T.P., Castronovo S. // PloS One. — 2010. — № 5(9). — P. e12741.
10. Lashkov A. A. et al. Modified 5-fluorouracil: uridine phosphorylase inhibitor / Lashkov A. A., Sotnichenko S. E., Mikhailov A. M., Shchekotikhin A. A., Shtil A. A. // Crystallography Reports. — 2016. — № 5. — P. 826–829.
11. Бычков М. Б. и др. Гемзар (Гемцитабин) в лечении немелкоклеточного рака легкого / Бычков М. Б., Аозный Э. К., Горбунова В. А., Маренич А. Ф. // Современная онкология. — 2001. — № 45. — С. 69–72.

12. Rosenberg B. et al. Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. / Rosenberg B., VanCamp L., Trosko J.E., Mansour V.H. // Nature. — 1969. — № 222(5191). — P. 385–386.
13. Баринов В. А., Чумаков В. В., Нечипоренко С. П. [и др.] // Медицинские аспекты радиационной и химической безопасности : материалы Рос.науч. конф. — СПб. : ВМедА, 2001. — С. 419–420.
14. Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований / Под ред. академика РАМН В. И. Чиссова. — М.: ФГУ «МНИОИ им. П. А. Герцена» Минздравсоцразвития России, 2010. — 543 с.
15. Ливанова А. А. и др. Danio rerio (zebrafish) как модель для проведения микроядерного теста с целью биоиндикации в радиобиологии / Ливанова А. А., Есин Т. А., Ильичев И. В., Завирский А. В., Ракин А. И., Кравцов В. Ю. // Известия Российской Военно-медицинской академии. — 2020. — № 39(2). — С. 51–54.

БЕТАЛАИНОВЫЕ ПИГМЕНТЫ КОРНЕПЛОДОВ СВЁКЛЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*BETA VULGARIS* L.) КАК БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА

Соломатин Л. О.

ФГБОВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» МО РФ,
Санкт-Петербург, Россия.

Научный руководитель: к.б.н., доцент кафедры биологии ВМедА Е. А. Казакова

Резюме. Беталаины — это пигменты растительного происхождения. Считается, что бетацианины в растениях выполняют защитную функцию при действии фотостресса. Повышенный интерес к здоровому и безопасному питанию увеличивает спрос на натуральные пигменты, такие как беталаины. Столовая свёкла (*Beta vulgaris* L.) широко используется в пищевой промышленности для получения натурального красителя бетанина (пищевая добавка E-162). Было установлено, что беталаины являются водорастворимыми антиоксидантами. Они обладают противораковыми и антимикробными свойствами, обладают хорошей биодоступностью, при употреблении в пищу быстро всасываются в желудочно-кишечном тракте. Беталаины выступают важнейшим посредником во множественных процессах, происходящих в организме человека. Высокая концентрация беталаинов содержится в свёкле. С давних времен ею врачевали великие эскулапы. Нами изучено влияние температуры и реакции среды на беталаиновые пигменты свёклы сортов Бордо, Богема и Несравненная при различных условиях: влияния температуры, pH среды, контакта с кислородом. Образцы всех сортов после тепловой обработки изменили окраску, приобрели желтоватый оттенок, бордовый цвет стал менее насыщенным, за счет того, что произошло разрушение бетанина. При охлаждении и последующем хранении сваренной свёклы (в течение часа) окраска её частично восстановилась. При исследовании консистенции мякоти исследуемых объектов установлено, что прочность образцов, прошедших тепловую обработку (вареная свёкла) намного ниже образцов, не подвергавшихся тепловой обработке (сырая свёкла). Продолжительность тепловой обработки и различные значения pH среды по-разному повлияли на содержание беталаиновых пигментов в исследуемых образцах. Во всех исследуемых объектах с добавлением 9% уксуса бетанины сохранялись лучше. Определены оптимальные условия, при которых свёкла максимально полезна для человеческого организма.

Ключевые слова: беталаины, бетанины, свёкла, *Beta vulgaris* L., натуральный пищевой краситель, натуральные пигменты, питание военнослужащих.

BETALAIN PIGMENTS OF COMMON BEET ROOT CROPS (*BETA VULGARIS* L.) AS BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

Solomatina L. O.

S. M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia.

Abstract. Betalaines are plant-derived pigments. It is believed that betacyanins in plants perform a protective function under the action of photostress. The increased interest in healthy and safe nutrition increases the demand for natural pigments, such as betalaines. Table beet (*Beta vulgaris* L.) is widely used in the food industry to produce the natural dye betanin (food additive E-162). Betalains have been

found to be water-soluble antioxidants. They have anti-cancer and antimicrobial properties, have good bioavailability, and are rapidly absorbed in the gastrointestinal tract when consumed. Betalains are the most important intermediary in multiple processes occurring in the human body. A high concentration of betalains is found in beets. Since ancient times, it was used by the great doctors. We studied the influence of temperature and the reaction of the medium on betalain pigments of beet varieties Bordeaux, Bohemia and Peerless under various conditions: the influence of temperature, pH of the medium, contact with oxygen. Samples of all varieties after heat treatment changed color, acquired a yellowish hue, the burgundy color became less saturated, due to the fact that the destruction of betanin occurred. When the cooked beet was cooled and then stored (for an hour), its color was partially restored. When studying the consistency of the pulp of the objects under study, it was found that the strength of samples that have undergone heat treatment (boiled beets) is much lower than samples that have not been subjected to heat treatment (raw beets). The duration of heat treatment and different pH values of the medium had different effects on the content of betalain pigments in the studied samples. In all the studied objects with the addition of 9% vinegar, betalains were preserved better. The optimal conditions under which beets are most useful for the human body are determined.

Keywords: betalains, betanins, beets, *Beta vulgaris* L., natural food coloring, natural pigments, food for military personnel.

Актуальность. Как огородная культура свёкла получила широкое распространение в России в XIII столетии, а три века спустя уже пользовалась огромной популярностью, заняв достойное место в травниках. Ещё с древних времен люди стали замечать, что некоторые овощи, фрукты, растения и ягоды обладают красящим действием. Растительные пигменты свёклы получили название беталаины (от латинского названия свёклы обыкновенной — *Beta vulgaris* L.). Окраска корнеплодов свёклы обусловлена наличием беталаиновых пигментов, которые подразделяются на две группы: бетацианины и бетаксантины. Бетацианины обуславливают красно-фиолетовую и пурпурную окраску, бетаксантины — желтую [9].

Бетацианины составляют до 95% от общего количества беталаинов. Важнейшим из них является бетанин. А бетаксантины составляют, как правило, лишь несколько процентов от общего количества беталаинов [8]. Экстракт столовой свёклы содержит розовые или фиолетовые пигменты — беталаины. Они известны в качестве пищевой добавки E-162 (бетанин) в Европейском союзе и 73.40 (свекольный порошок) Управления по продовольствию и медикаментами (FDA). E-162 в основном применяется для окраски фруктовых йогуртов, мороженого, джемов, жевательных резинок, соусов и супов. Бетанин используется в косметических и фармацевтических препаратах [6]. В частности, им окрашивают лекарственные препараты.

Физиологические функции беталаинов в растениях неизвестны. Считается, что бетацианины выполняют защитную функцию при действии фотостресса. Яркая окраска цветков и плодов привлекает животных, в том числе и насекомых-опылителей, которые переносят пыльцу. Беталаины защищают ткани от ультрафиолетового излучения, повышают устойчивость к различным факторам внешней среды и вирусам. Однако механизмы защитных реакций с участием бетацианинов остаются неизученными [3].

Дикую свёклу (*Beta*) использовали с древних времен. Гиппократ советовал: «Если ты не хочешь, чтобы лекарство стало твоей пищей — преврати пищу в лекарство». Греческий врач Гален и Диоскорид Педаний и другие эскулапы древности врачевали свёклой малокровие, лихорадки, болезни пищеварительных органов, инфекционные заболевания и злокачественные язвы.

Свёклу подавали на закуску, нарезанную тонкими кружочками. Считалось, что такой салат возбуждает аппетит, улучшает пищеварение и функции желудочно-кишечного тракта, печени, почек. Свёклу употребляют в сыром и в вареном виде. Не зря в старину существовала русская поговорка: «Свёкла — красная девица, да с зеленою косицей, на столе она царица, для здоровья пригодится».

Интерес к получению биоактивных добавок из бетациановых пигментов возрос после того, как было установлено, что они являются водорастворимыми антиоксидантами. Эти пигменты обладают противоопухолевыми, гипогликемическими, гиполипидемическими

свойствами. Они широко используются в пищевой промышленности в качестве натуральных красителей. Беталаины обладают хорошей биодоступностью. При употреблении в пищу они быстро всасываются в желудочно-кишечном тракте. Беталаины способствуют преобразованию нитратов в нитриты и выделению оксида азота. А оксид азота, в свою очередь, выступает одним из важнейших посредников во множественных процессах, происходящих в организме, в том числе благотворно влияет на эпителий кровеносных и лимфатических сосудов [1].

Наиболее высокая концентрация беталаинов, кроме экзотических продуктов (питаия, амарант, киноа), содержится в традиционном осеннем овоще — свёкле. Свёкла насыщена витаминами и микроэлементами, которые необходимы для работы человеческого организма. В составе свёклы обнаружены полезные и необходимые соединения: витамин Р, β-каротин, фолиевая и аскорбиновая кислота, а также минеральные соли йода, магния, меди, калия, натрия, бора, цинка, фосфора, кальция. Свёкла благоприятно влияет на работу сердца и сосудов, помогает снизить риск высокого уровня холестерина. Обладает мочегонным свойством, помогает очистить организм от токсинов. Минеральные вещества, содержащиеся в продуктах питания, обладают высокой биологической активностью [4]. Беталаинам приписывают антиоксидантные, противораковые и антимикробные свойства. Они улучшают здоровье и увеличивают продолжительность жизни людей.

При анализе норм замен, указанных в приложении 9 приказа Министра обороны Российской Федерации от 21 июня 2011 г. № 888 установлено, что в питании курсантов продукты по возможности их замены делятся на заменяемые и незаменимые. Незаменимые по норме № 1: — макароны высшего сорта; — овощи (капуста свежая и квашеная, свёкла, морковь, лук, чеснок, огурцы, помидоры); — масло коровье и масло растительное, сыр твердый. Таким образом, свёкла является незаменимым продуктом питания военнослужащих [7].

Свекольный сок издавна используется при диабете в народной медицине. В составе белков свёклы обнаружены незаменимые аминокислоты (валин, лейцин, лизин), необходимые для регенерации и функционирования систем организма; по их содержанию эта культура превосходит многие овощи. Много в свёкле клетчатки и пектинов, способствующих выведению из кишечника солей тяжелых металлов и продуктов распада. Необходимы для жизнедеятельности содержащиеся в свёкле витамины: С (10–22 мг%), В1, В2, В3, Вс, В5, В6, U, Р (40 мг%), РР, каротин (провитамин А).

Найденное в красной свёкле уникальное алкалоидоподобное вещество — бетаин усиливает дыхательные процессы, улучшает усвоение белков, работу печени. Благодаря беталаинам свёкла укрепляет капилляры, снижает содержание холестерина в крови, улучшает жировой обмен, предотвращает жировое перерождение печени и оказывает противосклеротическое действие [2].

Научно-методические подходы к разработке эталонных норм продовольственных пайков и рационов, а также созданию новых пищевых продуктов для личного состава ВС РФ должны предусматривать изучение физиологических потребностей организма военнослужащих в основных питательных веществах в современных условиях учебно-боевой деятельности войск [4].

Цель исследования. Изучить изменение пигментов корнеплода свёклы и свекольного сока в процессе тепловой обработки, хранения, изменения рН среды. Определить оптимальные условия, способствующие сохранению пигментов в свёкле и свекольном соке.

Материалы и методы. Для проведения эксперимента было отобраны корнеплоды свёклы трех сортов: № 1 — свёкла сорта Бордо 237. Форма корнеплода круглая, мякоть плотная, цвет бордовый; № 2 — свёкла сорта Богема. Форма округлая, слегка вытянутая, цвет темно-бордовый, ровный, без светлых колец; № 3 — свёкла сорта Несравненная. Плоды корнеплода большие. Мякоть алая с темными кольцами. Кожица темно-бордовая ближе к розетке с сероватым оттенком. В качестве реактивов взяты лимонная и уксусная кислоты. Использовались методы тепловой обработки корнеплода свёклы и свекольного сока, оценивали влияние рН среды [1].

Для оценки влияния тепловой обработки на корнеплоды один образец свёклы каждого из трех исследуемых объектов сварили. Два других образца оставили в чашках Петри. Для оценки влияния тепловой обработки на свекольный сок очищенные корнеплоды натерли на терке и отжимали сок. Сок в трех экземплярах каждого исследуемого объекта (по 5 мл) переносили в пробирки. По одному образцу свекольного сока каждого из трех сортов поставили в кипящую водяную баню для прогревания в течение 20 минут. После окончания времени варки образцы всех сортов свёклы выдержали в течение 1 часа при температуре около 22 градусов. Затем, за 40 минут до конца выдерживания, поставили в кипящую водяную баню вторую пробу свекольного сока каждого исследуемого объекта и нагревали ее в тех же условиях, что и первую. Сравнили окраску сока свежего, только что прогретого и хранившегося в течение 1 часа при комнатной температуре, а затем еще раз прогретого. Для оценки влияния pH среды очищенные корнеплоды каждого сорта нарезали брусками. Подготовленные бруски корнеплодов каждого сорта разделили на три равные части и поместили в три химических стакана, вместимостью 250 мл. В каждый стакан было налито по 100 мл горячей воды. В один из стаканов добавили 9% уксусную кислоту (0,4 мл), а в другой кристаллическую лимонную кислоту (0,4 г). Тепловую обработку проводили в течение 20, 40 и 60 минут. По мере выкипания жидкости в стаканы добавляли горячую воду, доводя уровень жидкости до первоначального.

Результаты и обсуждение. *Тепловая обработка корнеплода свёклы.* Образцы каждого сорта свёклы, подвергшиеся тепловой обработке, изменили исходную окраску и приобрели характерный желтоватый и буроватый оттенки. Цвет стал менее насыщенным, чем у двух других образцов, которые тепловой обработке не подвергались. Ослабление интенсивности окраски связано с разрушением бетанина под действием температуры. При охлаждении и последующем хранении сваренной свёклы (в течение часа) окраска её частично восстановилась. В исследуемом объекте № 3 (сорт Несравненная) при тепловой обработке быстрее произошло ослабление интенсивности окраски. Цвет стал бурым, появилась излишняя водянистость. При одинаковом времени хранения и температуре, образец № 3 (сорт Несравненная) хуже восстановил цвет. Значительно лучше восстановил цвет исследуемый объект № 1 (сорт Бордо 237).

В процессе тепловой кулинарной обработки механическая прочность овощей уменьшается. Исследуемые объекты приобретают мягкую консистенцию, так как в результате тепловой обработки происходит мацерация — размягчение растительных тканей за счет ослабления связей между клетками растительной ткани вследствие разрушения срединных пластинок, а также разрушения непрерывного матрикса клеточных оболочек. Оболочки клеток при этом разрыхляются, их механическая прочность снижается, но целостность стенок сохраняется.

Тепловая обработка свекольного сока. Цвет свежего свекольного сока у всех объектов насыщенный, интенсивный темно-бордовый. Свекольный сок, подвергшийся тепловой обработке, стал менее насыщенного цвета, что обусловлено разрушением бетанина. Спустя один час хранения при комнатной температуре цвет восстановился и стал темнее свежеприготовленных образцов.

После тепловой обработки интенсивность цвета сока снизилась пропорционально одинаково во всех образцах свёклы разных сортов. Особого контраста в исследуемых объектах не выявлено.

Влияние pH среды. Продолжительность варки и pH среды по-разному повлияли на содержание беталаиновых пигментов в корнеплодах разных сортов свёклы. Во всех исследуемых объектах с добавлением 9% уксуса сохранился красный пигмент. В корнеплодах свёклы сорта Несравненная вне зависимости от времени тепловой обработки с добавлением 9% уксуса pH среды одинаков.

Объект № 1 (сорт Бордо 237) во время тепловой (20, 40, 60 мин) и кулинарной обработки (с добавлением 9% уксуса) сохранил темно-красный пигмент, pH среды составлял 5, 5, 6 соответственно. В результате тепловой (20, 40, 60, мин) и кулинарной обработки

(с добавлением лимонного сока) установлена неустойчивость (разваренность) образца, в конце варки (60 минут) наблюдалось снижение интенсивности цвета.

Объект № 2 (сорт Богема) во время тепловой и кулинарной обработки (с добавлением 9% уксуса) так же, как и объект № 1 сохранил темно-красный пигмент, рН среды одинаков, при различном времени тепловой обработки. Установлено незначительное снижение устойчивости образца, в конце варки (60 мин) наблюдалось небольшое снижение интенсивности цвета, рН среды не изменился (3).

Объект № 3 (сорт Несравненная) во время тепловой обработки показал незначительное снижение устойчивости образца. рН среды составлял 5, 6, 6 соответственно, при различном времени тепловой обработки. В конце варки (60 минут) наблюдалось снижение интенсивности цвета.

Выводы. Из трёх исследованных сортов свёклы, наивысшая концентрация пигментов содержится в корнеплодах сорта свёклы Бордо 237. Быстрее всего разрушение пигмента при термической обработке происходило в корнеплодах свёклы сорта Несравненная. Для сохранения бетанинов важно соблюдать тепловые и кулинарные особенности приготовления. Установлено, что чем выше температуры обрабатываемой среды, тем быстрее разрушается пигмент. Лучшая сохранность бетанина наблюдается при его большей концентрации и, в связи с этим, целесообразнее варить или запекать неочищенную свёклу. Результаты работы позволяют выбрать наиболее оптимальные условия тепловой обработки и условий рН среды, чтобы максимально сохранить содержание бетанина.

Список литературы

1. Валеева В. Д. Влияние рН среды на концентрацию бетаиновых пигментов растительного происхождения // Валеева В. Д. [и др.] / Научное обозрение. Фундаментальные и прикладные исследования. — 2019. — № 2. URL: <http://www.scientificreview.ru/ru/article/view?id=58> (дата обращения: 12.02.2021).
2. Газина Т. П. Пища XXI века. Натуральные биокорректоры и лечебно-профилактические продукты сублимационной сушки / Газина Т. П. [и др.]. / М.: Домиург-АРТ, 2001. — 96 с.
3. Казакова Е. А. Влияние света и сахарозы на рост, морфогенез и пигментный состав картофеля в культуре *in vitro* // Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института растениеводства им. Н. И. Вавилова. — СПб. — 1993. — № .230. — С. 40–43.
4. Кривцов А. В. Физиолого-гигиеническая оценка питания курсантов в период пандемии COVID-19 // Кривцов А. В. [и др.] / Известия Российской Военно-медицинской академии. — 2020. — Т. 39. — № S3–3. — С. 97–102.
5. Решетников В. А. Исследование и оптимизация подготовки будущих военных врачей по вопросам организации медицинского обеспечения войск // Решетников В. А. [и др.] / Военно-медицинский журнал. — 2007. — Т. 328. — № 8. — С. 72–73.
6. Саенко И. И. Бетацианины корнеплодов красной столовой свёклы // Саенко И. И. [и др.] / Научные ведомости БелГУ. Серия: Естественные науки. — 2012. — № 3 (122). — Вып. 18. — С. 194–200.
7. Сметанин А. Л. Нормирование питания военнослужащих в условиях повседневной деятельности // Сметанин А. Л. [и др.] / Известия Российской Военно-медицинской академии. — 2020. — Т. 39. — № S3–1. — С. 177–181.
8. Соколова Д. В. Скрининг образцов столовой свёклы (*Beta vulgaris* L.) из коллекции ВИР для селекции сортов с высоким содержанием бетанина // В кн.: 125 лет прикладной ботаники в России. Сборник тезисов. — Мин-во науки и высшего образования РФ, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова. — 2019. — С. 188.
9. Kazakova E.A. The pigment composition of potato callus and regenerants in the ontogenesis / Kazakova E. A. // Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института растениеводства им. Н. И. Вавилова. — 1990. — №.204. — С. 70–75.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ТРЕМАТОД *LEUCOCHLORIDIUM PARADOXUM* (TREMATODA: LEUCOCHLORIDIIDAE) ПО ДАННЫМ АНАЛИЗА УЧАСТКА МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНА *COI*

Усманова Р. Р., Лопатина О. Д., Кашинцева С. С.

РГПУ им. А. И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия

Научный руководитель: к.б.н., доцент кафедры зоологии РГПУ им. А. И. Герцена
Токмакова А. С.

Резюме. Проведен анализ гаплотипического разнообразия трематод *Leucochloridium paradoxum* (Trematoda: Leucochloridiidae) по участку митохондриального гена *COI*. Использовалась тотальная ДНК зрелых отростков спороцист *L. paradoxum*, извлеченных из моллюсков *Succinea putris*. Зараженных особей собирали на Европейской территории России и Витебской области Белоруссии. Для проведения ПЦР использовали праймеры, выбранные из литературных источников. В исследовании использовали 16 оригинальных последовательностей и последовательности из GenBank. На основании выравнивания длиной 606 п. н. была построена медианная сеть гаплотипов. Анализ сети показал разделение гаплотипов на две группы: Японскую и Восточно-Европейскую. В последней гаплотип *Hap_8* включает 30,4% всех задействованных в исследовании последовательностей. Наиболее генетически однородной оказалась Вырицкая популяция (Ленинградская область), максимальное количество гаплотипов было выделено в популяции из Борка (Ярославская область);

Ключевые слова: трематоды, паразиты птиц, генотипирование, митохондриальная ДНК, *COI*, гаплотипическое разнообразие, ПЦР.

GENETIC DIVERSITY OF *LEUCOCHLORIDIUM PARADOXUM* (TREMATODA: LEUCOCHLORIDIIDAE) BASED ON PARTIAL SEQUENCES OF MITOCHONDRIAL GENE *COI*

Usmanova R. R., Lopatina O. D., Kashintseva S. S.

A.I. Herzen Russian State Pedagogical University, Saint Petersburg, Russia

Abstract. The haplotype diversity of *Leucochloridium paradoxum* (Trematoda: Leucochloridiidae) was analyzed using the partial sequence of the mitochondrial gene *COI*. Total DNA of mature *L. paradoxum* sporocyst broodsacs dissected from land snails *Succinea putris* was used. Infected snails were collected in European part of Russia and Vitebsk region of Belarus. PCR was performed using primers selected from the literature sources. The study included 16 original sequences and sequences from GenBank. A median haplotype network was constructed based on 606 b. p. length alignment. The analysis of the network showed the haplotypes division into two groups: Japanese and Eastern European. In the European group, 30.4% of all sequences involved in the study belonged to the haplotype *Hap_8*. The most genetically homogeneous population was the population of Vyritsa (Leningrad region) and the highest diversity of haplotypes included the population from Borok (Yaroslavl Region);

Key words: trematodes, avian parasites, genotyping, mitochondrial DNA, *COI*, haplotype diversity, PCR.

Трематоды рода *Leucochloridium* имеют сложный жизненный цикл. Мариты этих сосальщиков локализуются в клоаке или фабрициевой сумке птиц — представителей разных отрядов [1, 3, 8]. В качестве промежуточных хозяев выступают наземные легочные моллюски рода *Succinea*. В улитках паразитируют спороцисты, имеющие сложное строение. Их тело морфо-функционально разделено на три части. В гепатопанкреасе моллюска расположена центральная часть, или стolon, отвечающий за формирование эмбрионов. Последние транспортируются через трубчатые участки в отростки. В них зародыши заканчивают развитие, превращаясь в метацеркарий. Для зрелых отростков, которые могут проникать в глазные щупальца улиток, характерна видоспецифическая окраска и способность к пульсации [2]. Эти особенности привлекают окончательных хозяев, насекомоядных птиц. Последние заражаются, склеивая щупальца моллюсков или зараженных улиток целиком.

На территории Европейской части России и в Белоруссии чаще всего встречаются трематоды вида *Leucochloridium paradoxum*, отростки спорцист которых имеют зеленую окраску. Окраска отростков зависит от их возраста, физиологического состояния спорцисты и моллюска-хозяина, также наблюдается широкая внутривидовая изменчивость по данному признаку.

Ранее при использовании в качестве маркера генов рДНК (участка, включающего гены 18S, 5.8S и 28S рРНК а также внешние (ETS1 and ETS2) и внутренние (ITS1 and ITS2) транскрибируемые спейсеры) было показано, что вариации в окраске не коррелируют с внутривидовой генетической изменчивостью данных трематод [4, 10].

Однако в популяционном анализе беспозвоночных животных более информативным для выявления генетического внутривидового полиморфизма считается участок митохондриального гена цитохром с-оксидазы (*COI*). Данный участок позволил выявить генетическую гетерогенность промежуточных хозяев трематод р. *Leucochloridium* — моллюсков р. *Succinea* [9]. Анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *COI* было решено провести и для трематод *L. paradoxum* с целью выявления внутривидового полиморфизма.

Материалы и методы. Для работы использовали спорцисты *L. paradoxum*, собранные в Ленинградской области (Вырица, Любань, Бокситогорск, Кузьмолово), Ярославской области (Борок), Белоруссии (Витебский район) в 2011–2020 гг. Экстракцию тотальной ДНК проводили с использованием коммерческого набора ДНК-сорб-С, согласно инструкции производителя. Для проведения ПЦР использовали следующие праймеры: JB3 (5'- TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT-3') [5] и CO1-R Trema (5'- CAACAATCATGATGCAAAAGG-3') [6]. Температура отжига составила 55,8 °С. Электрофорез ПЦР-продуктов проводили в 2% агарозном геле. ПЦР-продукты выделяли из геля и очищали коммерческим набором GeneJET Gel Extraction Kit, согласно инструкции производителя. Далее проводилось секвенирование по Сэнгеру. Для работы с последовательностями и последующего построения сетей гаплотипов использовали следующие программы: BioEdit, MEGA X, DnaSP v5 и PopArt.

Результаты. В результате исследования было получено 17 последовательностей участка гена *COI* для *L. paradoxum* (табл. 1). Последовательности аннотируются в GenBank. Также в работе были использованы последовательности *L. paradoxum* из GenBank (LC466790- LC466795; [7]). Для построения сети гаплотипов использовали выравнивание длиной 606 п. н. и метод медианной сети (Median Joining Network).

Таблица 1. Генетическое разнообразие по фрагменту гена *COI* (606 п. н.) трематод *L. Paradoxum*

Страна	Регион, условное обозначение	Число последовательностей	Число и номера гаплотипов	Hd (гаплотипическое разнообразие)	Pi (нуклеотидное разнообразие)
Россия	Вырица (Vyritsa)	3	1 (Нап_8)	0	0
	Любань (Luban)	2	2 (Нап_10, Нап_11)	1,0000	0,00165
	Бокситогорск (Boksitogorsk)	3	3 (Нап_6, Нап_7, Нап_8)	1,0000	0,00330
	Кузьмолово (Kuzmolovo)	2	2 (Нап_8, Нап_12)	1,0000	0,00165
	Борок (Borok)	4	4 (Нап_8, Нап_9, Нап_15, Нап_16)	1,0000	0,00413
Беларусь	Витебский район (Belarus_Vitebsk)	3	3 (Нап_8, Нап_13, Нап_14)	1,0000	0,00330
Япония	Хоккайдо (Japan_Hokkaido)	6	5 (Нап_1, Нап_2, Нап_3, Нап_4, Нап_5)	0,9333	0,00363

При анализе последовательностей было выявлено 16 гаплотипов. Наиболее генетически однородной оказалась популяция *L. paradoxum* из Вырицы (Ленинградская область). Максимальное количество гаплотипов (4) было выделено в популяции из Борка (Ярославская область). Возможно, это связано с тем, что для данной географической точки было исследовано наибольшее число образцов.

На медианной сети можно выделить две группы гаплотипов — Японскую и Восточно-Европейскую (рис. 1), которые отделяет более десяти нуклеотидных замен. Японская группа представлена пятью гаплотипами.

Восточно-Европейская группа имеет звездообразную структуру из 11 гаплотипов, в которой отходящие от ядра гаплотипы отличаются от него малым (1–2) числом замен. Ядро составляет гаплотип Hap_8, включающий в себя треть (30,4%) всех задействованных в исследовании последовательностей, относящихся к пяти регионам (Вырица, Кузьмолowo, Бокситогорск, Белоруссия).

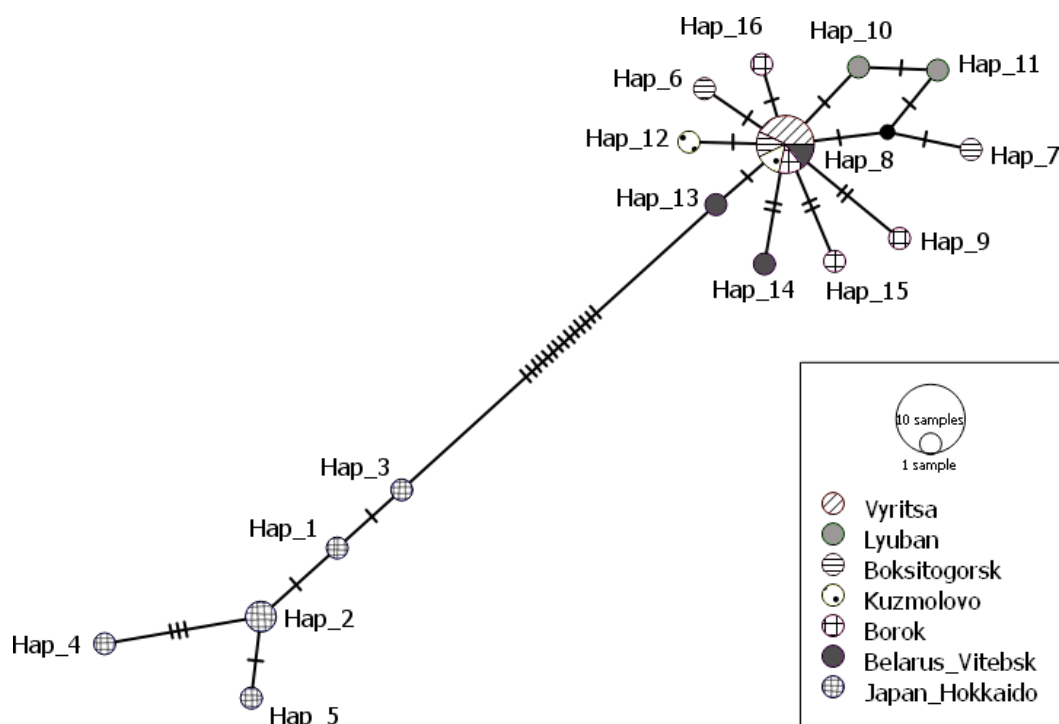


Рисунок 1. Сеть гаплотипов, построенная по оригинальным последовательностям участка гена *COI* (606 п. н.) с учетом материала из GenBank. Штрихами обозначено количество замен между гаплотипами. Площадь круга соответствует количеству идентичных гаплотипов.

Сплошные черные круги соответствуют предполагаемым гаплотипам. Обозначения географических точек — см. Таблицу 1.

Выводы. В ходе анализа 23-х последовательностей участка *COI* *L. paradoxum* было выявлено 16 гаплотипов. На медианной сети наблюдается распределение гаплотипов в две группы: Японскую и Восточно-Европейскую. Большинство полученных в исследовании последовательностей относятся к гаплотипу Hap_8. Самой генетически однородной по исследованному маркеру является Вырицкая популяция, а самой разнообразной — популяция из Борка (Ярославская область).

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-04-00384.

Список литературы

1. Быховская-Павловская И. Е. Новый вид сосальщика *Leucochloridium phragmitophila* sp. nov. из воробьиных птиц / И. Е. Быховская-Павловская // Доклады АН СССР. — 1951. — 76(1). — С. 161–162.
2. Гинецинская Т. А. Значение окраски спороцист трематод рода *Leucochloridium* для диагностики вида / Т. А. Гинецинская // Доклады АН СССР. — 1953. — 88 (1). — С. 177–179.
3. Гинецинская Т. А. Трематоды. Их жизненный цикл, биология и эволюция / Т. А. Гинецинская. — Ленинград: Наука, 1968. — 400 с.
4. Ataev G. L. Multiple infection of amber *Succinea putris* snails with sporocysts of *Leucochloridium* spp. (Trematoda) / G. L. Ataev, A. A. Zhukova, A. S. Tokmakova, E. E. Prokhorova // Journal of Parasitology Research. — 2016. — V. 115. — № 8. — С. 203–208.
5. Bowles J. Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial DNA sequencing / J. Bowles, D. Blair, D. P. McManus // Molecular and Biochemical Parasitology. — 1992. — V. 54. — P. 165–173.
6. Miura O. Molecular-genetic analyses reveal cryptic species of trematodes in the intertidal gastropod, *Batillaria cumingi* (Crosse) / O. Miura, A. M. Kurishb, M. E. Torchinc, R. F. Hechingerb, E. J. Dunhamb, S. Chiba // Journal for Parasitology. — 2005. — V. 35. — P. 793–801.
7. Nakao M. Distribution records of three species of *Leucochloridium* (Trematoda: Leucochloridiidae) in Japan, with comments on their microtaxonomy and ecology / M. Nakao, M. Sasaki, T. Waki, T. Iwaki, Y. Mori, K. Yanagida, M. Watanabe, Y. Tsuchitani, T. Saito, M. Asakawa // Parasitology International. — 2019. — V. 72. — 101936.
8. Pojmanska T. Life cycle and morphology of the adult *Leucochloridium* sp. n. (Trematoda, Brachylaimidae) / T. Pojmanska // Acta Parasitol. Polon. — 1969. — V. 16. — №. 21. — P. 177–184.
9. Prokhorova E. E. An analysis of morphological and molecular genetic characters for species identification of amber snails *Succinea putris* (Succineidae) / E. E. Prokhorova, R. R. Usmanova, G. L. Ataev // Invertebrate Zoology. — 2020. — V. 17. — N. 1. — P. 1–17.
10. Zhukova A. A. Identification of species *Leucochloridium paradoxum* and *L. perturbatum* (Trematoda) based on rDNA sequences / A. A. Zhukova, E. E. Prokhorova, A. S. Tokmakova, N. V. Tsymbalenko, G. L. Ataev // Parazitologiya. — 2014. — №. 48. — P. 185–192.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СЕГМЕНТОВ ПРОКСИМАЛЬНОГО И ДИСТАЛЬНОГО ОТДЕЛОВ ТОЛСТОЙ КИШКИ КРЫСЫ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛЕЙ АЛЬФА, ИНТЕРЛЕЙКИНА 6 И ИНТЕРЛЕЙКИНА 10

Фатыйхов И. Р., Бекусова В. В., Зудова Т. И., Марков А. Г.

ФГБОУВО "Санкт-Петербургский государственный университет" Санкт-Петербург, Россия
Научный руководитель: к.б.н., доцент кафедры общей физиологии биологического факультета СПбГУ Бекусова В. В.

Резюме. Толстая кишка обладает выраженными барьерными свойствами. Воспалительные заболевания и рак толстой кишки сопровождаются понижением этих свойств. При этом, заболеваемость кишки при патологиях, как и ее барьерные свойства, не одинаковые — при колоректальном раке опухоли чаще образуются в дистальном отделе кишки и гораздо более редки в ее проксимальном отделе. Также заболевания кишечника сопровождаются повышенным содержанием цитокинов и эйкозаноидов, секретируемых стенкой кишечника, эндотелием и ассоциированными иммунными клетками. Основными провоспалительными цитокинами, способствующими прогрессу заболеваний кишки, являются TNF α и IL-6, а IL-10, напротив, обладает противовоспалительными свойствами. Целью нашей работы было исследовать барьерные свойства проксимального и дистального отделов толстой кишки крысы под действием TNF α , IL-6 и IL-10 с апикальной стороны эпителия. Воздействие цитокинами производилось как *in vivo*, так и *ex vivo*. Исследовали электрофизиологические параметры — трансэпителиальное сопротивление и ток короткого замыкания, а также парацеллюлярную проницаемость для раствора флуоресцеина натрия. По результатам исследования, TNF α ослабил барьерные свойства дистального отдела толстой кишки. В нем повысился ток короткого замыкания и пара-

целлюлярная проницаемость. IL-6 так же повысил эти показатели дистального отдела и понизил трансэпителиальное сопротивление. IL-10 оказал влияние на сегменты проксимального отдела, повысив парацеллюлярную проницаемость и понизив трансэпителиальное сопротивление. Таким образом, TNF α , IL-6 и IL-10, действуя с апикальной стороны эпителиальных клеток, увеличивали проницаемость толстой кишки. Однако, эффект каждого цитокина был уникальным. Мы полагаем, что регуляторные эффекты изученных цитокинов могут обуславливать нарушение барьерных свойств толстой кишки и разную заболеваемость ее отделов при патологии.

Ключевые слова: толстая кишка, канцерогенез, барьерные свойства, TNF α , IL-6, IL-10, камера Уссинга, трансэпителиальное сопротивление, ток короткого замыкания, парацеллюлярная проницаемость.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE PROXIMAL AND DISTAL SEGMENTS OF THE RAT COLON UNDER THE ACTION OF THE TUMOR NECROSIS FACTOR, INTERLEUKIN 6 AND INTERLEUKIN 10

Fatyukhov I. R., Becusova V. V., Zudova T. I., Marcov A. G.
Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia

Abstract. The colon has pronounced barrier properties. Inflammatory diseases and colon cancer are associated with a decrease in these properties. At the same time, the incidence of the intestine in pathologies, as well as its barrier properties, are not the same — in colorectal cancer, tumors are more often formed in the distal part of the intestine and are much more rare in its proximal part. Also, bowel diseases are accompanied by an increased content of cytokines and eicosanoids secreted by the intestinal wall, endothelium and associated immune cells. The main pro-inflammatory cytokines that promote the progression of bowel diseases are TNF α and IL-6, while IL-10, on the contrary, has anti-inflammatory properties. The aim of our work was to investigate the barrier properties of the proximal and distal parts of the rat colon under the action of TNF α , IL-6 and IL-10 from the apical side of the epithelium. Cytokine exposure was performed both *in vivo* and *ex vivo*. Electrophysiological parameters were investigated — transepithelial resistance and short-circuit current, as well as paracellular permeability for sodium fluorescein solution. According to the study, TNF α weakened the barrier properties of the distal colon. It has increased short-circuit current and paracellular permeability. IL-6 also increased these values in the distal region and decreased transepithelial resistance. IL-10 influenced the proximal segments, increasing paracellular permeability and decreasing transepithelial resistance. Thus, TNF α , IL-6 and IL-10, acting from the apical side of epithelial cells, increased the permeability of the colon. However, the effect of each cytokine was unique. We believe that the regulatory effects of the studied cytokines can cause impairment of the barrier properties of the colon and different morbidity of its departments in pathologies.

Key words: colon, carcinogenesis, barrier properties, TNF α , IL-6, IL-10, Ussing chamber, transepithelial resistance, short-circuit current, paracellular permeability.

Рак толстой кишки и хронические воспалительные заболевания кишечника сопровождаются изменением барьерных свойств, а барьерные свойства толстой кишки (ТК) весьма неоднородны. Проксимальный отдел ТК крысы обладает более выраженными барьерными свойствами по сравнению с дистальным отделом [1]. Заболеваемость различных отделов кишки при патологиях также не одинакова. Так, при раке толстой кишки опухоли чаще образуются в дистальном отделе, и практически не образуются в проксимальном отделе [2]. Известно, что опухоль и ее микроокружение активно продуцирует широкий спектр биологически активных веществ, которые оказывают влияние на барьерные свойства. Основными провоспалительными цитокинами, способствующими прогрессу заболеваний кишки, являются TNF α и IL-6 [3]. IL-10, напротив, обладает противовоспалительными свойствами, однако при хронизации патологического процесса его продукция увеличивается, стимулируя ангиогенез, рост опухоли и метастазирование [4]. Гетерогенность свойств толстой кишки может проявляться не только в изменении ее свойств в направлении продольной оси, но и в различных регуляторных эффектах биологически активных веществ с апикальной или базолатеральной стороны эпителия. В то время, как влияние цитокинов

с базолатеральной стороны эпителия на хорошо изучено [5],[6], данные об их влиянии на проницаемость с его апикальной стороны отсутствуют.

Цель. Провести сравнительный анализ проницаемости сегментов проксимального и дистального отделов толстой кишки крысы под действием TNF α , IL-6 и IL-10 с апикальной стороны эпителия.

Материалы и методы. Эксперименты проводились на изолированном участке толстой кишки наркотизированных Золетилом крыс Вистар. В контрольной группе кишку заполняли раствором Кребса-Рингера, в экспериментальных группах — растворами исследуемых цитокинов. Растворы выдерживали в просвете кишки 4 ч, после чего животных декапитировали с помощью гильотины и выделяли кишку. Проксимальные и дистальные сегменты кишки устанавливали в камеры Уссинга и регистрировали электрофизиологические параметры барьерных свойств — ток короткого замыкания и трансэпителиальное сопротивление. Парацеллюлярную проницаемость анализировали на основании скорости диффузии флуоресцеина натрия от слизистой к серозной поверхности с помощью спектрофлуориметрии. Статистическая обработка данных проводилась с использованием теста Манна-Уитни, уровень $p < 0.05$ считался достоверно значимым.

Результаты. TNF α (200 нг/мл) оказывал более выраженное действие на дистальный отдел толстой кишки. Ток короткого замыкания в дистальном отделе повышался с $15,4 \pm 2,4$ до $25 \pm 2,8$ $\mu\text{A}/\text{cm}^2$, парацеллюлярная проницаемость для флуоресцеина натрия увеличивалась с $1,5 \pm 0,3 \cdot 10^{-4}$ до $4,5 \pm 0,4 \cdot 10^{-4}$ cm/c^2 . Парацеллюлярная проницаемость проксимального отдела под действием TNF α также увеличивалась, но менее выражено — с $0,6 \pm 0,1 \cdot 10^{-4}$ до $1,4 \pm 0,3 \cdot 10^{-4}$ cm/c^2 .

IL-6 (100 нг/мл) изменял электрофизиологические свойства только дистального отдела толстой кишки — снижал трансэпителиальное сопротивление с $68,5 \pm 8,0$ до $43,4 \pm 3,0$ $\text{Om} \cdot \text{cm}^2$ и повышал ток короткого замыкания с $12,3 \pm 2,4$ до $25,0 \pm 6,0$ μA . Парацеллюлярная проницаемость в дистальном отделе толстой кишки повышалась с $1,5 \pm 0,3 \cdot 10^{-4}$ до $2,7 \pm 0,5 \cdot 10^{-4}$ cm/c^2 .

IL-10 (100 нг/мл) оказывал действие только на проксимальный отдел толстой кишки — понижал трансэпителиальное сопротивление с $169,8 \pm 18,2$ до $117,5 \pm 12,4$ $\text{Om} \cdot \text{cm}^2$ и повышал парацеллюлярную проницаемость с $0,6 \pm 0,1 \cdot 10^{-4}$ до $1,2 \pm 0,2 \cdot 10^{-4}$ cm/c^2 .

Выводы. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что цитокины, продуцируемые в том числе при раке толстой кишки, способны вызывать падение барьерных свойств при апикальном действии, при этом, в основном, в дистальном отделе, в котором опухоли возникают значительно чаще. Детальное исследование молекулярно-генетических механизмов, по которым происходят эти изменения барьерных свойств, будет способствовать решению основополагающих проблем онкологии — ранней диагностике, профилактике и лечению заболеваний толстой кишки.

Список литературы

1. Bekusova V.V. et al. Increased paracellular permeability of tumor-adjacent areas in 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis in rats / Bekusova V.V., Falchuk E.L., Okorokova L.S., Kruglova N.M., Nozdrachev A.D., Markov A.G. // Cancer Biol Med. — 2018. — V. 15. — № 3. — P. 251–259.
2. Bekusova V.V. et al. Metformin prevents hormonal and metabolic disturbances and 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis in non-diabetic rats / Bekusova V.V., Patsanovskii V.M., Nozdrachev A.D., Trashkov A.P., Artemenko M.R., Anisimov V.N. // Cancer Biol Med. — 2017. — V. 14. — № 1. — P. 100–107.
3. Capone F. et al. Serum Cytokine Profile Evaluation: A Tool to Define New Diagnostic and Prognostic Markers of Cancer Using Multiplexed Bead-Based Immunoassays / Capone F. et al. // Mediators Inflamm. — 2016. — V. 2016. — e3064643.
4. Galdiero M.R. et al. Tumor associated macrophages and neutrophils in cancer / Galdiero M.R. et al. // Immunobiology. 2013. — V. 218. — № 11. — P. 1402–1410.

5. Al-Sadi R. et al. Interleukin-6 Modulation of Intestinal Epithelial Tight Junction Permeability Is Mediated by JNK Pathway Activation of Claudin-2 Gene / Al-Sadi R. et al. // PLoS One. — 2014. — Vol. 9, № 3. — e85345.
6. Brighenti E. et al. Interleukin 6 downregulates p53 expression and activity by stimulating ribosome biogenesis: a new pathway connecting inflammation to cancer / Brighenti E. et al.// Oncogene. — 2014. — V. 33, № 35. — P. 4396–4406.

СЕЗОННЫЕ ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ ЗАВОЗНОЙ ТРОПИЧЕСКОЙ МАЛЯРИИ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

Филиппов Я. С.¹, Капатына В. А.², Кузнецов К. С.¹, Соловьева П. А.¹

¹ ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» МО РФ,
Санкт-Петербург, Россия

² Клиническая инфекционная больница им. С. П. Боткина, Санкт-Петербург, Россия
Научный руководитель: д.м.н., профессор кафедры биологии ВМедА А. И. Соловьев

Резюме. В работе изучены сезонные особенности клинического течения 56 случаев завозной тропической малярии, выявленных на территории г. Санкт-Петербург. Из них 54 случая были вызваны моноинфекцией *Plasmodium falciparum*, в 2 случаях было выявлено сочетание *P. falciparum* и *P. vivax*. В тяжелой форме заболевание протекало у 17 пациентов. В 37 случаях было диагностировано среднетяжелое течение, в 1 — легкое. Высокий уровень паразитемии, превышающий 50000 в 1 мкл, регистрировался у 13 пациентов (22,7%). В 42 случаях (57,7%) этот показатель составлял 500–5000, в 11 случаях (19,6%) паразитемия не превышала 5–50 клеток в 1 мкл. Средние показатели количества эритроцитов на фоне малярийной инфекции составляли от 1,7 до 5,34×10¹²/л. Признаки анемии были выявлены у 16 больных (28,5%), в том числе в 6 случаях (10,7%) показатели количества эритроцитов в крови были ниже 3,0×10¹²/л, а у 11 пациентов в отдельные периоды болезни уровень гемоглобина составлял менее 100 г/л. Показано, что во время эпидемического подъема заболеваемости случаи тропической малярии характеризовались более тяжелым течением по сравнению с межэпидемическим периодом. Среднегеометрические показатели паразитемии составили соответственно 5275,04±1,56 и 121,22±3, паразитов в 1 мкл крови, продолжительность лихорадки на фоне проводимого лечения — 4,67±0,41 и 3,23±0,54 дней. Средние показатели уровня гемоглобина составили 113,30±4,00 и 124,00±0,54 г/л соответственно. Среди лиц, инфицированных в эпидемический период, чаще регистрировались низкие показатели количества эритроцитов. В этой группе пациентов также нередко регистрировались осложнения, типичные для тропической малярии. Сделан вывод о наличии особенностей клинического течения тропической малярии в зависимости от периода малярийного сезона, в который произошло заражение. Высказано предположение о связи тяжести малярийной инфекции с фазовыми преобразованиями генома *P. falciparum*.

Ключевые слова: тропическая малярия, *Plasmodium falciparum*, осложнения тропической малярии, паразитемия, гемоглобин, геном, клиническая картина.

SEASONAL CLINICAL FEATURES OF IMPORTED TROPICAL MALARIA IN ST. PETERSBURG

Filippov Y.S.¹, Kapatsyna V.A.², Kuznecov K.S.¹, Soloveva P.A.¹

¹ S.M. Kirov Military medical academy, Saint Petersburg, Russia

² Botkin Clinical Infectious Diseases Hospital, Saint Petersburg, Russia

Abstract. There were explored the seasonal features of the clinical course of 56 cases of tropical malaria identified on the territory of Saint Petersburg. From these cases, 54 were caused by *P. falciparum* monoinfection, in 2 cases a combination of *P. falciparum* and *P. vivax* was detected. In severe form, the disease occurred in 17 patients. Moderate course was diagnosed in 37 cases, and 1 was with mild form of disease. A high level of parasitemia exceeding 50,000 in 1 µl was reported in 13 patients (22.7%). In 42 cases (57.7%), this rate was 500–5000, in 11 cases (19.6%) the parasitemia did not exceed 5–50 cells in 1 µl. The average red blood cell rate against malaria infection was 1.7 to 5.34×10¹²/L. Signs of

anemia were detected in 16 patients (28.5%), including those 6 cases (10.7%) where red blood cell rate was lower than $3.0 \times 10^{12}/l$, and in 11 patients during certain periods of the disease the hemoglobin level was less than 100 g/l. It was shown that during the epidemic morbidity rise, cases of tropical malaria were characterized by a more severe course compared to the interepidemic period. The average geometric indicators of parasitemia were respectively 5275.04 ± 1.56 and 121.22 ± 3 , parasites in 1 μ l of blood, the duration of fever against the background of the treatment — 4.67 ± 0.41 and 3.23 ± 0.54 days. The average hemoglobin level was 113.30 ± 4.00 and 124.00 ± 0.54 g/l, respectively. Among those infected during the epidemic period, low red blood cell rates were more common. Complications of tropical malaria were also frequently reported in this group of patients. It was concluded that there are features of the clinical course of tropical malaria depending on the period of the malaria season during which the infection occurred. A suggestion has been made about the association of the severity of malaria infection with phase transformations of the *P. falciparum* genome.

Key words: tropical malaria, *Plasmodium falciparum*, complications of malaria, parasitemia, hemoglobin, genome.

Малярия — опасное для жизни инфекционное заболевание, вызываемое паразитами рода *Plasmodium*, проникающими в организм человека посредством укусов инфицированных самок комаров рода *Anopheles*. Риску заражения малярией подвержена почти половина населения в мире. Заболевание распространено в тропических и субтропических регионах Африки, Южной Америки, Азии и Океании. Хотя в Российской Федерации (РФ) регистрируются только завозные случаи малярии, недоступность современных противомалярийных препаратов, недостаточное информирование россиян, выезжающих в эндемичные регионы, о риске заражения, зачастую игнорирование химиопрофилактики малярии, самолечение и позднее обращение за медицинской помощью, ошибки клинической диагностики и терапии, к сожалению, приводят к летальным исходам [2].

Среди возбудителей малярии наиболее опасным является *P. falciparum*, вызывающий тропическую форму заболевания (син. *Falciparum* — малярия) [3, 4]. Тропическая малярия — острая лихорадочная болезнь. Заболевание обычно начинается через 10–15 дней после укуса инфицированным комаром. Первые симптомы: лихорадка, головная боль и озноб — могут быть слабовыраженными и являются неспецифическими, то есть свойственны многим другим заболеваниям, и не только инфекционным. Для разгара заболевания характерна триада проявлений: приступ лихорадки, гемолитическая анемия, гепатоспленомегалия. Задержка начала противопаразитарного лечения больше чем на 24 ч от первых симптомов у не имеющих иммунитета лиц может способствовать тяжелому течению малярии с развитием одного или нескольких из следующих проявлений: нарушение сознания, судороги, многократная рвота, лихорадка до 40°C и выше, острая дыхательная недостаточность, шок, гиперпаразитемия, выраженная анемия, гипогликемия, желтуха, острая почечная недостаточность, гемоглобинурия. Летальные исходы при тропической малярии связаны с развитием церебральной комы, малярийного алгида (шок), острой почечной недостаточности, разрывом селезенки и др. [1, 3, 5].

Общие представления о причинах злокачественного течения заболевания сформировались еще в конце XIX века. Позже были раскрыты процессы розеттинга, адгезии, а также секвестрации [8]. В настоящее время появились данные о молекулярно-генетических механизмах, лежащих в основе этих процессов.

Имеются сообщения об особенностях течения тропической малярии в различные периоды малярийного сезона в регионах с непрерывным сезоном передачи инфекции [1, 2, 3, 4]. Показано, что на территории высоко эндемичных регионов в период эпидемического подъема заболеваемости случаи заражения плазмодиями сопровождаются более тяжелым течением [5, 6, 7]. При этом до настоящего времени не проводились исследования, направленные на изучение сезонных особенностей случаев завозной инфекции. В этой связи представляет интерес сравнительное изучение особенностей клинического течения тропической малярии у лиц, прибывших на территорию Российской Федерации из эндемичных регионов.

Цель исследования. Изучение особенностей клинического течения случаев тропической малярии, выявленных на территории г. Санкт-Петербург, в зависимости от предполагаемого периода заражения.

Материалы и методы. В работе использован материал пациентов, проходивших лечение в 2017–2020 гг. на базе СПб ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница им. С. П. Боткина». Всего обследовано 56 пациентов (50 мужчин и 6 женщин) в возрасте от 21 до 67 лет с паразитологически подтвержденным диагнозом тропическая малярия. Все обследованные до заболевания посещали регионы, эндемичные по этой инфекции (Африка, Юго-восточная Азия, Океания). В ходе исследования проводилось сравнительное изучение двух групп больных с диагнозом тропическая малярия. В первую вошли 42 пациента, побывавшие на эндемичной территории в период сезонного повышения уровня заболеваемости, во вторую группу были отнесены 13 больных, заразившихся малярийными плазмодиями в межэпидемический период. Период заражения определяли индивидуально в каждом конкретном случае, исходя из данных литературы о структуре малярийного сезона в соответствующем маляриогенном регионе пребывания пациента [3]. Оценка степени тяжести заболевания проводилась в соответствии с общепринятыми критериями, учитывающими уровень паразитемии, наличие и выраженность анемии и других осложнений тропической малярии.

Статистическая обработка материалов исследования проведена с использованием пакета прикладных программ Statistica for Windows 10 [9]. Полученные количественные признаки представлялись в виде $M \pm m$, где M — среднее значение признака, m — стандартная ошибка средней величины. При сравнении полученных данных использовался t -критерий Стьюдента. В качестве статистически значимых принимались результаты со степенью достоверности не ниже 95% ($p < 0,05$).

Результаты. В результате проведенного анализа было установлено, что среди 56 пациентов с диагнозом тропическая малярия 54 случая были вызваны моноинфекцией *P. falciparum*, в двух случаях было выявлено сочетание *P. falciparum* и *P. vivax*. В тяжелой форме заболевание протекало у 17 пациентов. В 37 случаях было диагностировано среднетяжелое течение, в 1 — легкое. В ходе изучения максимального уровня паразитемии среди всех обследованных пациентов установлено, что среднегеометрическое значение этого показателя составило $2668,35 \pm 10,63$ плазмодиев в 1 мкл крови. При этом максимально высокий уровень паразитемии, превышающий 50000 в 1 мкл, регистрировался у 13 пациентов (22,7%). В 42 случаях (57,7%) этот показатель составлял 500–5000, в 11 случаях (19,6%) паразитемия не превышала 5–50 клеток в 1 мкл. При анализе количества эритроцитов на фоне малярийной инфекции установлено, что значения этого показателя среди пациентов составляли от 1,7 до $5,34 \times 10^{12}/л$. Признаки анемии были выявлены у 16 больных (28,5%), в том числе в 6 случаях (10,7%) показатели количества эритроцитов в крови регистрировались на уровне ниже $3,0 \times 10^{12}/л$, а у 11 пациентов в отдельные периоды болезни уровень гемоглобина составлял менее 100 г/л.

Изучение сезонности клинических проявлений малярии показало, что у лиц, заразившихся в период эпидемического подъема заболеваемости, инфекция характеризуется высокой паразитемией. Среднегеометрический показатель количества паразитов в 1 мкл крови составил $5275,04 \pm 1,56$, в межэпидемический период — $121,22 \pm 3,60$. На фоне проводимого лечения лихорадка регистрировалась в среднем на протяжении $4,67 \pm 0,41$ и $3,23 \pm 0,54$ дней соответственно (табл. 1).

Таблица 1. Уровень паразитемии и продолжительность лихорадки

Период малярийного сезона	Количество паразитов в 1 мкл крови (среднегеометрический показатель)	Продолжительность лихорадки на фоне проводимого лечения (дни)
Эпидемический	$5275,04 \pm 1,56$	$4,67 \pm 0,41$
Межэпидемический	$121,22 \pm 3,60$	$3,23 \pm 0,54$

Анализ лабораторных признаков анемии показал, что доля пациентов с показателями ниже критических значений была выше в период эпидемического подъема заболеваемости по сравнению с межэпидемическим сезоном (табл. 2).

Таблица 2. Лабораторные признаки анемии

Период малярийного сезона	Эритроциты, Доля пациентов с показателями ниже критических значений	НЬ, Средние показатели (г/л)
Эпидемический	25,6 %	113,30±4,00
Межэпидемический	12,5 %	124,00±0,54

Анализ осложнений случаев тропической малярии проводили на основании оценки данных лабораторных и клинических наблюдений. Полученные результаты показали, что заболевание в период эпидемического подъема нередко сопровождалось развитием таких осложнений, как тяжелая анемия, инфекционно-токсический шок, малярийная кома, алгид, острая почечная недостаточность, миокардит, пневмония. У пациентов, инвазированных плазмодиями в межэпидемический сезон, в большинстве случаев заболевание протекало в легкой форме. Осложнения, типичные для этой инфекции, не регистрировались (табл. 3, табл. 4).

Таблица 3. Сезонное распределение тяжелых и осложненных случаев тропической малярии по предполагаемому периоду заражения

Период малярийного сезона	Тяжелые	Осложненные
Эпидемический	31 (83,7%)	8 (100%)
Межэпидемический	6 (16,3%)	-
Всего	37	8

Таблица 4. Характеристика выявленных осложнений тропической малярии

№ п/п	Пациент	Осложнения	Исход заболевания
1.	Г.	Тяжелая анемия	Выздоровление
2.	С.	Тяжелая анемия (смешанного генеза), миокардит, пневмония	Выздоровление
3.	В.	Печеночно-почечная недостаточность	Выздоровление
4.	Ск.	Миокардит, пневмония	Выздоровление
5.	К.	Гемолитическая анемия, инфекционно-токсическая энцефалопатия	Выздоровление
6.	Ку.	Алгид, кома	Смерть
7.	Га.	Малярийная кома, пневмония	Выздоровление
8.	Л.	Острая гемолитическая анемия (средней степени тяжести), печеночно-почечная недостаточность	Выздоровление

Результаты, полученные в ходе проведенных исследований, могут оцениваться с практической точки зрения, а также имеют биологическое значение. В случаях заражения малярийными плазмодиями в период эпидемического подъема заболеваемости возможность

тяжелого течения инфекции требует выработки надежных способов ранней диагностики заболевания и применения наиболее эффективных противомаларийных препаратов, обеспечивающих быструю элиминацию возбудителей из крови. При этом важное значение имеет разработка методов выявления генетических маркеров вирулентности *P. falciparum*.

Устойчивость паразитарных систем малярии обусловлена сложными механизмами саморегуляции, основанными на пространственной и сезонной генетической гетерогенности популяций паразитов и восприимчивых хозяев. Преобладание в период эпидемического подъема заболеваемости случаев тяжелого течения малярийной инфекции может объясняться фазовыми колебаниями вирулентности *P. falciparum*. Причинами этого может служить сезонное изменение генетического профиля интенсивно размножающихся паразитарных штаммов вследствие рекомбинации генетического материала и изменения частоты встречаемости редких аллелей. В настоящее время в литературе имеются многочисленные сообщения о генетических особенностях главного фактора вирулентности *P. falciparum* (PFEMP1). Показано, что в его состав могут входить различные комбинации специальных DBL доменов (Duffy-binding-like domains) типа DBL1 α и DBL1 β , которые ассоциируются с тяжелым течением тропической малярии. Состав PFEMP1 кодируется вар-геном *P. falciparum*, специфичным для каждого географического региона. При этом известно, что наиболее лабильные участки генома плазмодиев могут изменяться по мере развития популяции паразитов. Однако конкретные механизмы сезонных изменений генома паразитарных штаммов до настоящего времени не изучены.

Выводы. Таким образом, анализ полученных результатов позволяет предположить, что инфицирование в период сезонного подъема заболеваемости способствует более тяжелому течению тропической малярии по сравнению со случаями, возникающими в межэпидемический период. Одной из причин этого могут служить фазовые сезонные преобразования генетического профиля популяции *P. falciparum*. Такой механизм обеспечивает устойчивое функционирование паразитарных систем тропической малярии на территории, эндемичной по этой инфекции в условиях изменяющегося иммунного профиля и фазовых колебаний восприимчивости популяции теплокровных хозяев [3, 8]. Для подтверждения данного предположения необходимо проведение дальнейших исследований.

Список литературы

1. Коваленко А. Н. Тропическая малярия с летальным исходом / А. Н. Коваленко. [и др.] // Архив патологии. — 2020. — № 6 — С. 50–54.
2. Коваленко А. Н. Сложности терапии *Plasmodium falciparum*-малярии в Российской Федерации / А. Н. Коваленко. [и др.] // М.: Терапевтический архив. — 2019. — № 11 — С. 75–80.
3. Лысенко А. Я. Маляриология. 2-е изд. / А. Я. Лысенко, А. В. Кондрашин, М. Н. Ежов — Копенгаген.: Всемирная организация здравоохранения. Европейское региональное бюро, 2003. — 510 с.
4. Соловьев А. И. Связь клинического течения тропической малярии с особенностями строения генома *Plasmodium falciparum*. / А. И. Соловьев [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. — 2020. — № 1 — С. 67–74.
5. Соловьев А. И. Химиопрофилактика малярии при длительном пребывании на эндемичной территории: опыт применения мефлохина и хлорохина / А. И. Соловьев [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. — 2020. — № 2. — С. 84–89.
6. Соловьев А. И. Противоэпидемическая защита военнослужащих от малярии в условиях Юго-Восточной Азии (к 15-летию гуманитарной операции по ликвидации последствий цунами на территории Индонезии). / А. И. Соловьев [и др.] // Вестн. Росс. воен.-мед. акад. — 2020. — Т. 70 — № 2. — С. 157–163.
7. Соловьев А. И. Молекулярно-генетические механизмы лекарственной резистентности *Plasmodium falciparum*. / А. И. Соловьев [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. — 2020. — Т. 10. — № 4. — С. 80

8. Усков А. Н. Молекулярно-генетические механизмы вирулентности *Plasmodium falciparum* и патогенеза тропической малярии / Усков А. Н. [и др.] // Инфектологии. — 2018. — Т. 10 — № 3 — С. 23–30.
9. Angeletti D. et al. Binding of subdomains 1/2 of PfEMP1-DBL1 α to heparan sulfate or heparin mediates *Plasmodium falciparum* rosetting / Angeletti D. et al. // PLoS One. — 2015. — V. 10. — №. 3. — P. e0118898.
10. Chen D. S. et al. A molecular epidemiological study of var gene diversity to characterize the reservoir of *Plasmodium falciparum* in humans in Africa / Chen D. S. et al. // PloS one. — 2011. — V. 6. — №. 2. — P. 16629.
11. Lalchhandama K. et al. *Plasmodium falciparum* erythrocyte membrane protein 1 / Lalchhandama K. et al. // WikiJournal of Medicine. — 2017. — Т. 4. — №. 1. — С. 1.

КРИТОСПОРИДИОЗ ТЕЛЯТ В ФЕРМЕРСКИХ ХОЗЯЙСТВАХ ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Щербина Ю. А.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»,
г. Санкт-Петербург, Россия.

Научный руководитель: д.в.н., профессор кафедры паразитологии СПбГУВМ
Гаврилова Н. А.

Резюме. Криптоспоридиоз телят является одной из причин, приводящих к нарушению функции пищеварения, проявляющейся диареей, дегидратацией, токсемией и гибелью животных. Исследователи отмечают, что инвазия имеет пик распространения в конце зимы и в начале весны и связывают это с наиболее выраженным иммунодефицитом у телят в данный период года. В последние годы эпизоотическая обстановка по криптоспоридиозу телят в Ленинградской области не анализировалась. Целью данных исследований стало выявление криптоспоридиоза у телят в фермерских хозяйствах в Ленинградской области. Материалами исследования служили пробы фекалий телят в возрасте от трех дней до месяца, имеющих клинические признаки нарушения функции пищеварения. Фекалии были отобраны при помощи устройства для взятия проб из прямой кишки. Исследования проводили в лаборатории по изучению паразитарных болезней ФГБОУ ВО СПбГУВМ методом Дарлинга и окраской мазков по Романовскому-Гимзе и Цилю-Нильсену после предварительной флотации, которая позволила получить более информативные результаты, в сравнении с результатами мазков, которые были окрашены после фиксации нативного препарата.

Ключевые слова: телята, криптоспоридиоз, взятие проб, диагностика, фермерские хозяйства, Ленинградская область, паразитозы.

CRYPTOSPORIDIOSIS IN CALVES IN AGRICULTURE, LENINGRAD REGION

Shcherbina Yu.A.

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, Saint Petersburg, Russia.

Abstract. Cryptosporidiosis in calves is one of the causes of digestive dysfunction, manifested by diarrhea, dehydration, toxemia and death of animals. Researchers note that the invasion peaks in late winter and early spring and is associated with the most pronounced immunodeficient calves during this period of the year. In recent years, the epizootic situation for cryptosporidiosis in calves in Russian Federation has not been analyzed. The purpose of these studies was to identify cryptosporidiosis in calves on farms in the Leningrad Region. The materials of the study were samples of feces from calves aged from three days to one month, with clinical signs of impaired digestion. Feces were collected with a rectal sampling device. The studies were carried out in a laboratory for the study of parasitic diseases of St. Petersburg State University of Veterinary Medicine by the Darling method and by staining smears according to Romanovsky-Giemsa and Ziehl-Nielsen after preliminary flotation, which made it possible to obtain more informative results in comparison with the results of smears, which were stained after fixation of a native drug.

Key words: calves, cryptosporidiosis, sampling, diagnostics, farms, Leningrad region, parasitoses.

Криптоспоридиоз телят приводит к тяжелым нарушениям пищеварения, проявляющейся диареей, дегидратацией, токсемией и гибелью животных. О широком распространении криптоспоридиоза телят в хозяйствах различных регионов России и в зарубежных странах сообщают ряд исследователей [1, 4, 6, 7, 9]. Исследователи отмечают, что инвазия имеет пик распространения в конце зимы и в начале весны и связывают это с наиболее выраженным иммунодефицитом у телят в данный период года [4, 8, 10]. Источником инвазии служат больные животные, в ряде случаев не имеющие клинического проявления болезни, а вектором передачи служат предметы ухода, корма, вода, подстилка, загрязненные ооцистами криптоспоридий. Кроме того, грызуны и насекомые принимают активное участие в распространении ооцист простейших. Изучению криптоспоридиоза телят в Ленинградской области были посвящены работы ряда исследователей, в том числе Алиева А. А., 1993 [2]. С развитием фермерства в нашей стране изучение распространения криптоспоридиоза стало актуальным еще и для частных хозяйств, занимающихся разведением крупного рогатого скота. В последние годы эпизоотическая обстановка по криптоспоридиозу телят в данном субъекте РФ не анализировалась.

Цель. Целью исследования стало изучение распространения криптоспоридиоза телят в фермерских хозяйствах, расположенных в Лужском и Красносельском районах Ленинградской области, и сравнение методов диагностики криптоспоридиоза.

Материалы и методы. В фермерском хозяйстве в Лужском районе у 8 телят из 19 обследованных в возрасте от 2-х дней до 1 месяца и у 6 телят из 25 в Красносельском районе выявлена диарея, дегидратация, истощение. У всех телят с признаками нарушения функции пищеварения были отобраны пробы фекалий из прямой кишки при помощи специального инструмента [5]. При помощи данного прибора фекалии брали необходимого объема в надежно изолированный цилиндр. Пробы в дальнейшем помещали в индивидуальный контейнер и в день их отбора исследовали в лаборатории по изучению паразитарных болезней на кафедре паразитологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Каждую пробу фекалий разделили на две части. Из первой части проб фекалий были сделаны нативные мазки, которые в дальнейшем окрасили по Романовскому — Гимзе и Цилю-Нильсену. Вторую часть проб предварительно исследовали методом флотации по Дарлингу, а в последующем приготовили мазки из поверхностной пленки, образованной в центрифужной пробирке после флотации, и после высушивания также окрасили по Романовскому-Гимзе и Цилю-Нильсену. Изучение препаратов проводили в микроскопе Carl Zeiss Primo Star с визуализацией при увеличении 10x40 и 10x100. Ооцист идентифицировали, руководствуясь определителем паразитических простейших [3].

Результаты. При обследовании хозяйства в Лужском районе было установлено, что молодняк находится на беспривязном содержании, на глубокой подстилке, которая меняется 1 раз в 3 дня. В первые часы жизни каждому теленку выпаивают молозиво по 2 литра.

В фермерском хозяйстве в Красносельском районе телята помещены в индивидуальные стойла, подстилка у них меняется 1 раз в 2 дня, в первые часы жизни выпаивают молозиво по 4 литра на голову, спустя 5 часов допаивают еще 2 литра.

Исследование проб фекалий телят, содержащихся в хозяйствах в Лужском и Красносельском районах, методом Дарлина не выявило ооцист паразитических простейших.

При окраске нативных мазков по Романовскому-Гимзе из 14 проб в 8 были обнаружены на фиолетовом фоне ооцисты округлой формы, белого цвета, размер которых варьировался от 2 до 5 мкм, что характерно для *Cryptosporidium spp.* (рис. 1).

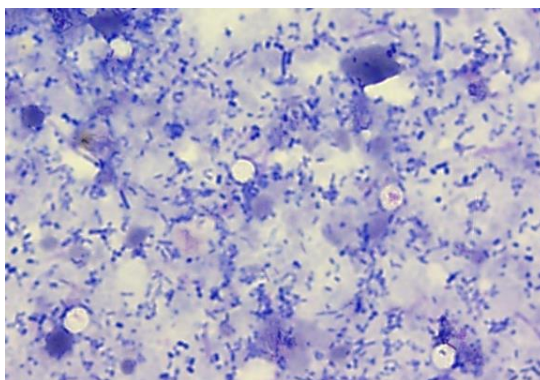


Рисунок 1. Ооцисты *Cryptosporidium spp.* в мазке фекалий теленка.
Окраска по Романовскому — Гимзе, ув. 10x100.

При окраске мазков фекалий по Романовскому-Гимзе после их предварительной флотации, ооцисты криптоспоридий были обнаружены в 13 пробах.

Окраской по Цилю-Нильсену нативных мазков ооцисты криптоспоридий были выявлены в 10 пробах. Данный метод окраски позволяет краске проникать через оболочку ооцисты, окрашивая ее в красный цвет (рис. 2).

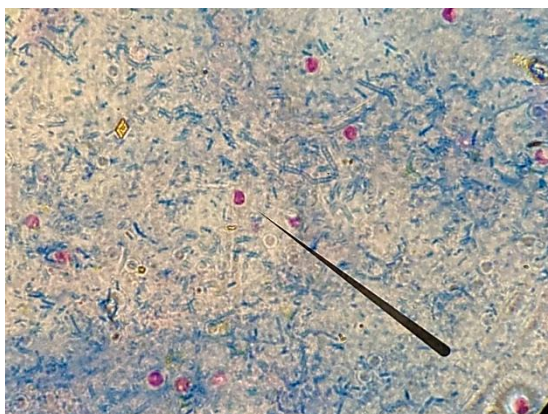


Рисунок 2. Ооцисты *Cryptosporidium spp.* в мазке фекалий телят.
Окраска по Цилю-Нильсену, ув. 10x100.

При окраске мазков фекалий по Цилю-Нильсену после их предварительной флотации, ооцисты криптоспоридий были обнаружены во всех 14 пробах. В хозяйстве Лужского района ооцисты криптоспоридий были выявлены преимущественно у телят от 3-х дневного до 8-ми дневного возраста, а у телят, находящихся в хозяйстве в Красносельском районе — с 8-ти до 12-ти дневного возраста. В обследованных фермерских хозяйствах у телят раннего постнатального возраста, выявлен криптоспоридиоз с экстенсивностью инвазии 24% в Красносельском и 42% - в Лужском районах. Окраска мазков фекалий по Романовскому-Гимзе после предварительной флотации позволила выявить ооцисты в 13 пробах из 14 (93%) и более информативная по сравнению с окраской приготовленных нативных мазков (57%). Диагностика криптоспоридиоза окраской мазков фекалий телят по Цилю-Нильсену после предварительной флотации позволила выявить ооцисты у всех животных с признаками диареи. Окраска нативных мазков фекалий по Цилю-Нильсену оказалась менее точной, так как ооцисты криптоспоридий были обнаружены только в 10-ти пробах из 14-ти (71%).

Выявление ооцист криптоспоридий у телят, принадлежащих фермерскому хозяйству Лужского района, в более раннем возрасте, вероятнее всего связано с более слабой резистентностью организма, обусловленной недостаточным количеством выпаиваемого молозива. В хозяйстве Красносельского района несмотря на то, что телята получают

достаточное количество молозива, все же происходит инвазирование криптоспоридиями животных, но с меньшей экстенсивностью инвазии и у телят старше недельного возраста.

Выводы. На основании полученных результатов можно сделать вывод, что неспецифическая профилактика не решает проблему криптоспоридиоза. В фермерских хозяйствах при выявлении у телят симптомов, характеризующих нарушение функции желудочно-кишечного тракта, необходимо проводить копрологические исследования с применением флотационного метода с дальнейшей окраской мазков по Циллю-Нильсену. Лечебно-профилактические мероприятия в хозяйствах при криптоспоридиозе телят с применением специфической терапии следует проводить с учетом особенностей возрастной динамики.

Список литературы

1. Абдулмагомедов С. Ш. Распространение криптоспоридиоза крупного рогатого скота в хозяйствах горной зоны Дагестана/ С. Ш. Абдулмагомедов, В. Ф. Никитин // Российский паразитологический журнал. –2014. — № 2. — С. 22–26.
2. Алиев А. А. Криптоспоридиоз (диагностика, культивирование *C. parvum* в клетках культуры тканей, экспресс-оценка препаратов): автореф. диссер. на соиск. уч. степени канд. вет. наук /Алиев Али Абакарович. — СПб. — 1993. — 18 с.
3. Крылов М. В. Определитель паразитических простейших (человека, домашних животных и сельскохозяйственных растений //Санкт-Петербург. –1996. — 602. с.
4. Кряжев А. Л. Криптоспоридиоз телят в Вологодской области / А. Л. Кряжев, П. А. Лемехов // Рекомендации по борьбе и профилактике. — Вологда-Молочное: ИЦ ВГМХА. — 2004. — 32 с.
5. Патент на изобретение «Инструмент для взятия проб фекалий из прямой кишки животных» / Л. М. Белова, К. А. Рожков, Н. А. Гаврилова, Ю. Е. Кузнецов, М. С. Петрова, И. В. Лунегова, О. А. Логинова, Е. В. Ермакова // Патент № 179944, зарег. В Гос. реестре изобретений РФ 29 мая 2018 г. Бюл. № 27.
6. Петрович Е. В. Криптоспоридиоз телят и усовершенствование мер борьбы с ним в условиях Центральной Нечерноземной зоны: автореф. дис.. канд. вет. наук: 03.02.11/Петрович Елена Вячеславовна. — Москва. — 2013. –19 с.
7. Сухомлинов В. Н. Эпизоотическая ситуация по криптоспоридиозу крупного рогатого скота в скотоводческих хозяйствах Белгородской области / В. Н. Сухомлинов, О. А. Манжурина, Б. В. Ромашов, А. М. Скогорева //Теория и практика борьбы с паразитарными болезням. — 2014. — № 15. — С. 298–301.
8. Chaimers R. M. Clinical cryptosporidiosis/ R/M/ Chalmers, A.P. Davies// Exp. Parasitol. — 2010. — Vol. 123. — P. 138–146.
9. Ichikawa-Seki M. Molecular characteriszation of *Cryptosporidium parvum* from two Japanese prefectures, Okinawa and Hokkaido / M. Ichikawa-Seki, J. Aita, T. Masatani, M. Suzuki, Y. Nitta, G. Tamayose, T. Iso, K. Suganuma, T. Fujiwara, K. Matsuyama // Parasitology International. — 2015. — № 64(2). — P. 161–166.
10. Ryan U. New developments in cryptosporidium reseach / U. Ryan, N. Hijjawi// International Journal for Parasitology. — 2015. — Vol. 45(6). — P. 367–373.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ КОМАРОВ *ANOPHELES GAMBIAE* МЕТОДОМ ПЦР

Янишевская К. И., Ракин А. И., Гудков Р. В.,

¹ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» МО РФ,
Санкт-Петербург, Россия

Научный руководитель: д.м.н., профессор кафедры биологии ВМедА А. И. Соловьев,
преподаватель кафедры биологии ВМедА А. И. Ракин

Резюме. На территории Западной Африки основными переносчиками малярийных плазмодиев являются комары комплекса *Anopheles gambiae s.l.*: *An. gambiae s.s.*, *An. arabiensis*, *An. merus*, *An. melas*, *An. Quadriannulatus*. Они идентичны по морфологическому критерию, но имеют отличия в отношении экологически-географического, этологического и генетического критериев. Для

проведения успешных мероприятий по поводу противомаларийной защиты необходима точная идентификация переносчиков инфекции. В работе представлены результаты видовой идентификации переносчиков малярии комплекса *Anopheles gambiae s.l.* с помощью методов молекулярно-генетического анализа и оценка удельного веса наиболее эффективных переносчиков малярийных плазмодиев *Anopheles gambiae* в общей совокупности комаров, распространенных в прибрежной зоне Атлантического океана в районе г. Конакри Республики Гвинея. Из 24 исследованных проб, 11 образцов (46%) показали положительные результаты на генетические маркеры вида *Anopheles gambiae s. s.* — наиболее результативного переносчика возбудителей тропической малярии, что можно объяснить особенностями их географического распространения, сезонными свойствами. Результаты реакции с праймерами к маркерным участкам генома других видов комаров во всех случаях были отрицательными. Пробы, представившие отрицательные результаты на исследованные генетические маркеры, по всей вероятности, имеют отношение к комарам других комплексов этих же регионов. Анализ результатов даёт возможность предположить о преобладании вида *Anopheles gambiae s.s.* среди переносчиков ранее упомянутой инфекции в период эпидемического подъема заболеваемости в условиях Западной Африки. Материалы, полученные в ходе данного исследования, позволяют сделать выводы об эффективности применения методов молекулярно-генетических анализов для изучения видовой специфичности переносчиков, направленных на санитарно-эпидемиологические обследования территории, заселенные теми или иными комплексами комаров.

Ключевые слова. *Anopheles Gambiae*, тропическая малярия, ПЦР, молекулярно-генетическая идентификация, геном, переносчик заболевания, эпидемиология.

IDENTIFICATION OF ANOPHELES GAMBIAE MOSQUITOES WITH POLYMERASE CHAIN REACTION

K. Yanishevskaya, A. I. Rakin, R. V. Gudkov

S. M. Kirov Military medical academy, Saint Petersburg, Russia

Abstract. In West Africa, the main vectors of malaria plasmodia are mosquitoes of the *Anopheles gambiae s.l.*: *An. gambiae s.s.*, *An. arabiensis*, *An. merus*, *An. melas*, *An. Quadriannulatus*. They are identical in terms of morphological criteria, but differ in terms of ecological-geographical, ethological, and genetic criteria. For successful interventions to protect against malaria, accurate identification of the vectors of infection is necessary. The paper presents the results of species identification of malaria vectors of the *Anopheles gambiae s.l.* using the methods of molecular genetic analysis and assessment of the proportion of the most effective vectors of malaria plasmodia *Anopheles gambiae* in the total population of mosquitoes distributed in the coastal zone of the Atlantic Ocean in the area of Conakry, Republic of Guinea. Of the 20 samples examined, 9 samples (45%) showed positive results for genetic markers of the species *Anopheles gambiae s. s.* — the most effective vector of tropical malaria pathogens, which can be explained by the peculiarities of their geographic distribution, seasonal properties. The results of the reaction with primers to the marker regions of the *An. arabiensis*, *An. melas*, *An. merus*, *An. quadriannulatus* were negative in all cases. The samples that presented negative results for the studied genetic markers are most likely related to mosquitoes of other complexes of the same regions. Analysis of the results makes it possible to assume that the species *Anopheles gambiae s.s.* is predominant among the carriers of the previously mentioned infection during the period of epidemic rise in the incidence in West Africa. The materials obtained in the course of this study make it possible to draw conclusions about the effectiveness of the application of molecular genetic analysis methods to study the species specificity of vectors aimed at sanitary and epidemiological surveys of territories inhabited by various complexes of mosquitoes.

Key words: *Anopheles Gambiae*, tropical malaria, PCR, molecular genetic identification, genome, malaria vectors, epidemiology.

В условиях Западной Африки основными переносчиками плазмодиев являются комары *Anopheles Gambiae Complex (Anopheles gambiae s.l.)*. [1, 2]. Этот комплекс членистоногих включает такие широко распространенные виды как, *Anopheles gambiae (An. gambiae s.s.) (Giles, 1902)*, *Anopheles arabiensis (Patton, 1905)*, *Anopheles merus (Donitz, 1902)*, *Anopheles melas (Theobald, 1903)*, *Anopheles quadriannulatus (Theobald, 1911)*, а также ряд новых видов, описанных в последние десятилетия. Указанные виды переносчиков

отличаются экологией, поведением, распространением, а также эффективностью передачи малярийных плазмодиев в различные периоды малярийного сезона [3,4]. Так, *An. gambiae s.s.* считается наиболее распространенным и эффективным переносчиком возбудителей тропической малярии, увеличение численности популяции этого вида в сезон дождей способствует сезонному повышению уровня заболеваемости населения этой инфекцией. Остальные виды характеризуются очаговым ареалом распространения и меньшей эффективностью в передаче *P.falciparum*, их роль ограничивается главным образом поддержанием паразитарной системы малярии в межэпидемический период. Эти особенности видовой структуры переносчиков могут использоваться для оценки риска заражения малярийными плазмодиями во времени и пространстве.

Указанные виды переносчиков принадлежат к одной таксономической группе комаров *Anopheles gambiae complex*, практически неразличимы морфологически, вместе с тем имеют существенные генетически детерминированные экологические особенности [5, 6]. В этой связи для изучения маляриологической ситуации в условиях Африканского континента становится актуальным поиск надежных методов видовой идентификации переносчиков комплекса *Anopheles gambiae s.l.* Точная идентификация переносчиков малярии имеет важное значение при проведении санитарно-эпидемиологической разведки территории в целях планирования системы противомаларийной защиты организованных воинских коллективов. Так, в Зимбабве в начале 1970-х годов, исследователи неправильно определили виды комаров *An. quadriannulatus*, не имеющего эпидемиологического значения, и *An. arabiensis*, одного из главных видов переносчиков малярии, во время изучения чувствительности к инсектициду дильдрину на смешанных образцах комаров [10]. В исследованиях было высказано, что оба вида комаров чувствительны к данному препарату, однако дильдрин воздействовал в основном на *An. quadriannulatus*, а большая часть выживших комаров были *An. arabiensis*, что подразумевает их устойчивость к действию инсектицида. Таким образом, использование дильдрина в качестве противомаларийной защиты не дало желаемого результата. В последующем инсектицид был заменен, после точной идентификации видов комаров [10].

Цель исследования: изучить возможность и эффективность видовой идентификации переносчиков комплекса *Anopheles gambiae s.l.* с помощью методов молекулярно-генетического анализа, оценить удельный вес наиболее эффективных переносчиков малярийных плазмодиев *Anopheles gambiae (Giles, 1902)* в общей совокупности комаров, распространенных в прибрежной зоне Атлантического океана в районе г. Конакри (Республика Гвинея).

Материалы и методы. В работе использованы комары, собранные на территории Республики Гвинея в августе-сентябре 2019 г. в окрестностях г.Конакри, расположенного на побережье Атлантического океана. Этот регион характеризуется широким распространением комаров *Anopheles gambiae complex* — переносчиков малярийных плазмодиев. Отлов насекомых осуществлялся методом «сбора на себе». На дневках в жилых и подсобных помещениях комаров собирали пробирками и эксгаустером. Насекомых, укрывавшихся в растительности, отлавливали с помощью энтомологического сачка. Комары транспортировались в одной емкости в засушенном виде, из-за чего большая часть комаров имела разнообразные повреждения, затрудняющие видовую идентификацию по морфологическим признакам (рис. 1).



Рис. 1. Внешний вид собранных комаров. Нативный препарат, увеличение 8х

Пробоподготовка проводилась фенольным методом [9]. Высушенных комаров помещали в лизирующий буфер (TE-NaCl) и гомогенизировали. Для лизиса клеток использовались раствор SDS и протениаза-К. Образцы инкубировали 2 часа при температуре 58°C. Для очистки ДНК от белков и липидов применялся фенол. Супернатант отбирался в отдельные пробирки и образцы промывались спиртами разной концентрации (96% и 70%). ДНК растворяли в TE-буфере.

В ходе исследований использовали технологию полимеразной цепной реакции (ПЦР). При проведении ПЦР использовали амплификатор Bio-rad C1000. Реакционная смесь включала следующие реактивы: готовая смесь для ПЦР ScreenMix (Евроген) 2.5 мкл, прямой и обратный праймеры — по 0,5 мкл 20 мкМ, матрица выделенной ДНК — 3 мкл, деионизированная вода—6 мкл.

Для молекулярно-генетического подтверждения видовой принадлежности комаров использовали видоспецифичные праймеры к гену 28S рРНК (табл. 1).

Таблица 1. Характеристика праймеров, использованных для выявления видоспецифичных нуклеотидных последовательностей комплекса *Anopheles gambiae* [7].

Виды <i>Anopheles</i>	Праймер	Температура отжига (°C)	Размер амплификата (bp)
Все	GTGTGCCCTTCCTCGATGT (Forward)	58.3	-
<i>Gambiae</i> s.s. (GA)	CTGGTTTGGTCGGCACGTTT (Reverse)	59.3	390
Melas/ Merus (ME)	TGACCAACCCACTCCCTTGA (Reverse)	57.2	464/466
Arabiensis (AR)	AAGTGTCTTCTCCATCCTA (Reverse)	47.4	315
Qudriannulatus (QD)	CAGACCAAGATGGTTAGTAT (Reverse)	42.7	153

Продукты амплификации разделяли посредством электрофореза на 2% агарозном геле с использованием электрофоретической камеры Sub-Cell GT. В работе использовали агарозу Helicon, разведенную на TAE буфере с добавлением этидия бромида (biotechnology Grade). Размер амплифицированных участков ДНК оценивали с помощью стандартных маркеров

длин ДНК (50+ bp DNA Ladder). Учет результатов электрофореза осуществляли с помощью трансиллюминатора «Квант-С». Результаты фиксировали с помощью системы гель-документации «Взгляд».

Результаты. Оценка эффективности пробоподготовки показала, что во всех образцах концентрация ДНК составляла не менее 50 мкг/мл.

В ходе последующего проведения ПЦР с видоспецифичными праймерами из 24 обследованных проб в 11 образцах (46%) были выявлены нуклеотидные последовательности, специфичные для генома *An.gambiae s.s.* (табл. 2).

Анализ данных литературы показал, что на территории Республики Гвинея распространены комары комплекса *Anopheles gambiae s.l.* с перекрывающимися ареалами обитания [8], но которые имеют отличия в особенностях экологии и биологии.

Результаты реакции с праймерами к маркерным участкам генома *An.arabiensis*, *An.melas/merus*, *An. quadriannulatus* во всех случаях были отрицательными.

Преобладание среди изученных проб образцов, давших положительные результаты на генетические маркеры *An.gambiae s.s.* может объясняться особенностями их географического и сезонного распространения. Этот вид распространен повсеместно, но наибольшая его численность наблюдается в зоне влажных тропических лесов, природно-климатические условия которой обеспечивают непрерывную активность переносчиков в течение всего года. Экваториальный лес всегда хорошо затенен, температура воздуха в нем практически не меняется.

Таблица 2. Результаты исследования комаров комплекса *Anopheles Gambiae s.l.*

№ пробы	Результат исследования с праймерами				Вид комара
	GA	ME	AR	QD	
1.	+	-	-	-	<i>Anopheles gambiae s. s.</i>
2.	-	-	-	-	
3.	-	-	-	-	
4.	-	-	-	-	
5.	+	-	-	-	<i>Anopheles gambiae s. s.</i>
6.	+	-	-	-	<i>Anopheles gambiae s. s.</i>
7.	-	-	-	-	
8.	-	-	-	-	
9.	+	-	-	-	<i>Anopheles gambiae s. s.</i>
10.	-	-	-	-	
11.	+	-	-	-	<i>Anopheles gambiae s. s.</i>
12.	-	-	-	-	
13.	-	-	-	-	
14.	-	-	-	-	
15.	-	-	-	-	
16.	+	-	-	-	<i>Anopheles gambiae s. s.</i>
17.	+	-	-	-	<i>Anopheles gambiae s. s.</i>
18.	-	-	-	-	
19.	+	-	-	-	<i>Anopheles gambiae s. s.</i>
20.	+	-	-	-	<i>Anopheles gambiae s. s.</i>
21.	+	-	-	-	<i>Anopheles gambiae s. s.</i>
22.	+	-	-	-	<i>Anopheles gambiae s. s.</i>
23.	-	-	-	-	
24.	-	-	-	-	

Увлажнению почвы даже в период самой сильной засухи способствуют грунтовые воды. Подтопленные участки местности и заболоченности, богатые водной и прибрежной растительностью, в течение всего года служат оптимальными местами для вышлюда и

развития комаров рода *Anopheles*. *An.gambiae* — резко выраженные эндофилы. Местами дневок этих комаров служат надворные постройки, а также жилые помещения. В поисках добычи они способны пролетать значительные расстояния, скапливаясь в населенных пунктах. Для *An.gambiae* характерна высокая степень антропофильности, в период эпидемического сезона интенсивность их нападения на человека достигает 80–100 посадок в течение одной ночи. Эффективность комаров *An.gambiae* в качестве переносчиков малярии определяется их высокой восприимчивостью к заражению плазмодиями, доля инфицированных самок в популяции может достигать 5,3%. Сезонный ход численности *An.gambiae* имеет одновершинную кривую, максимум которой приходится на завершение сезона дождей. Численность комаров этого вида в различные годы подвержена значительным колебаниям, что связано с изменением метеорологических условий. Неблагоприятными для *An.gambiae* являются годы с уменьшением общего количества осадков, что приводит к снижению уровня грунтовых вод и сокращению мест выплода. Такие особенности переносчика, а также использование в настоящей работе экземпляров, собранных в сезон наибольшей активности этого вида, могли оказать влияние на полученные результаты.

Отсутствие среди обследованных проб образцов с положительными результатами на генетические маркеры других видов комплекса *An.gambiae s.l.* может объясняться локальным местом и коротким периодом сбора насекомых, а также и их биологическими и поведенческими особенностями. *An.arabiensis* — вид, адаптированный к существованию в условиях недостатка влаги. Эти комары встречаются преимущественно на территориях, покрытых саваннами, в районах земледелия и в долинах равнинных рек. Реже *An.arabiensis* выявляются в зоне влажных тропических лесов. Им свойственна экзофильность и относительная зоофильность. При отсутствии крупных животных *An.arabiensis* охотно нападают на человека, особенно на орошаемых плантациях, а также вне помещений на открытом воздухе. Этот вид является практически эксклюзивным переносчиком малярийных плазмодиев в городах и на около городских территориях, при этом их индекс антропофильности достигает 99%. *An.melas* — переносчик малярии, популяция которого распространена вдоль западного побережья Африки. Отличительной особенностью этого вида является то, что развитие его личиночных стадий происходит в солоноватой воде, образующейся, как правило, в дельтах рек в результате смешивания пресной воды с морской, а также на океанском побережье в местах выхода на поверхность грунтовых вод. В связи с этим *An.melas* доминирует в качестве переносчика малярийных плазмодиев в зоне прибрежной низменности. Выплод этих комаров происходит в пойменных лужах, речных заливах и заболоченностях, образующихся в местах впадения ангольских рек в Атлантический океан. *An.quadriannulatus* — многочисленный вид комаров, для них характерна экзофильность и высокая зоофильность, что существенно ограничивает взаимодействие популяции переносчика с малярийными плазмодиями, инфицированные самки выявляются лишь в отдельные годы после выпадения обильных осадков.

Таким образом, полученные результаты подтверждают высокий удельный вес популяции *Anopheles gambiae s. s.* в структуре переносчиков малярийных плазмодиев в условиях Западной Африки. Пробы, давшие отрицательные результаты на исследованные генетические маркеры, вероятно, имеют отношение к комарам других комплексов, распространенных в этом регионе.

Выводы. Данное исследование подтверждает высокий уровень эффективности применения методов молекулярно-генетических исследований для изучения видовой модификации переносчиков малярии в целях санитарно-эпидемиологического изучения территории. Анализ полученных результатов позволяет сделать вывод о преобладании вида *Anopheles gambiae s. s.* среди комаров-переносчиков малярийного плазмодия в период эпидемического подъема заболеваемости.

Список литературы

1. Никитин А. Ф. Влияние малярийной инфекции на боеспособность войск, действующих на эндемичных территориях/ Никитин А. Ф., Соловьев А. И., Кравцов В. Ю. [и др.] // Вестник Российской Военно-медицинской академии. — 2018. — Т. 64, № 4. — С. 64–68.
2. Никитин А. Ф. Влияние военных конфликтов на развитие паразитарной системы малярии/ Никитин А. Ф., Соловьев А. И., Кравцов В. Ю. [и др.] // Вестник Российской Военно-медицинской академии. — 2018. — Т. 64, № 4. — С. 68–72.
3. Соловьев А. И. Химиофилактика малярии при длительном пребывании на эндемичной территории: опыт применения мефлохина и хлорохина / Соловьев А. И., Усков А. Н., Москалев А. В. // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. — 2020. — Т. 10. № 2. — С. 84–89.
4. Соловьев А. И. Противоэпидемическая защита военнослужащих от малярии в условиях Юго-Восточной Азии (к 15-летию гуманитарной операции по ликвидации последствий цунами на территории Индонезии) / Соловьев А. И., Коваленко А. Н., Токмаков В. С. [и др.] // Вестник Российской Военно-медицинской академии. — 2020. — Т. 70, №2. — С. 157–163.
5. Соловьев А. И. Молекулярно-генетические механизмы лекарственной резистентности *Plasmodium falciparum* / Соловьев А. И., Усков А. Н., Коваленко А. Н. [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. — 2020. — Т. 10. — № 4. — С. 80–87.
6. Усков А. Н. Молекулярно-генетические механизмы вирулентности *Plasmodium falciparum* и патогенеза тропической малярии / Усков А. Н., Соловьев А. И., Кравцов В. Ю. [и др.] // Журнал инфектологии. — 2018– № 10 (3). — С. 23–30.
7. Scott J. A. Identification of Single Specimens of the Anopheles Gambiae Complex by the Polymerase Chain Reaction / Scott J. A., Broodon W. G., Collins F. H. // Am. J. Trop. Med. Hyg. — 1993. — № 49(4). — P. 520–529.
8. Sinka M. E. A global map of dominant malaria vectors / Sinka M. E. et al. // Parasites & vectors. — 2012. — Т. 5. — № 1. — P. 1–11.
9. Techniques in molecular systematics and evolution / Edited by R.DeSalle, G.Giribet, W.Wheeler. — Springer Basel AG, 2002. — 407 p.
10. Green C. A. Malaria epidemiology and anopheline cytogenetics //Cytogenetics and genetics of vectors: proceedings of a symposium of the XVIth International Congress of Entomology/editors, R. Pal, JB Kitzmiller, T. Kanda. — Tokyo: Kodansha; Amsterdam; New York: Elsevier Biomedical Press, 1982. pp. 21–29

Научное издание

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНСКОЙ ПАРАЗИТОЛОГИИ

Сборник материалов
XLVIII межвузовской студенческой конференции,
посвященной 137-летию со дня рождения академика Е. Н. Павловского

16 марта 2021 г.

Подписано в печать 05.03.2021.
Формат 60×84 1/8. Усл. печ. л. 4,53. Бумага офсетная.
Заказ 7092.

Издательство «Скифия-принт»
197198. С.-Петербург, ул. Б. Пушкарская, д. 10, лит. 3. пом. 32-Н